



T.C.

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KARSİNOMLARINDA SPERM-
İLİŞKİLİ ANTİJEN 9' UN, TÜMÖR İLİŞKİLİ MAKROFAJLARIN VE
VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ' NÜN
ANJİYOGENEZİS VE TÜMÖR PROGRESYONUNDAKİ ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Firdevs Zeynep TAŞLICA TAŞTEPE

ANKARA, 2017



**T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KARSİNOMLARINDA SPERM-
İLİŞKİLİ ANTİJEN 9' UN, TÜMÖR İLİŞKİLİ MAKROFAJLARIN VE
VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ' NÜN
ANJİYOGENEZİS VE TÜMÖR PROGRESYONUNDAKİ ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Firdevs Zeynep TAŞLICA TAŞTEPE

**TEZ DANIŞMANI:
Yrd. Doç. Dr. Merih TEPEOĞLU**

ANKARA, 2017

**01.08. 2016 tarih ve KA 16/225 nolu sayı
Bu Tez çalışması Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından
desteklenmiştir.**

TEŞEKKÜR

Patolojiyle ilk tanışmamızda bize onu sevdiren, çalışma ortamımızın yoğun ve stresli temposuna rağmen ortamımızı ailemiz gibi hissettiren hocalarıma; başta bize sadece bilimsel açıdan değil her yönüyle yol gösteren anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. B.Handan ÖZDEMİR olmak üzere çok şey öğrendiğim Prof. Dr. Özlem ÖZEN'e, Prof. Dr. Nihan HABERAL REYHAN'a çok teşekkür ederim, üzerimdeki emeğinizi hiçbir zaman unutamam.

Tez aşamasında, konu bulmamda, yazım aşamasında her daim destek olan Prof. Dr. B. Handan ÖZDEMİR hocama ayrıca çok teşekkür ederim.

Doç.Dr. Ebru Şebnem AYVA'ya, Doç.Dr. Ayşen TERZİ'ye, Yrd. Doç. Dr. Merih TEPEOĞLU'na, Uzm. Dr. Eda YILMAZ AKÇAY'a, Uzm. Dr. Pelin BÖRCEK'e, Uzm. Dr. Gonca ÖZGÜN'e bana öğrettikleri, ablam oldukları, danıştığım her konuda yardım ettikleri ve her zaman ablam olacakları için çok teşekkür ederim.

Tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Merih TEPEOĞLU'na, tezimin her aşamasında bana destek olduğu, tezimin her camında göz emeği olduğu, her yönüyle fikir ve güven verdiği için çok teşekkür ederim.

Kıdemlim, her zaman yanımda olan, çok şey öğrendiğim Uzm. Dr. Alev OK ATILGAN'a çok teşekkür ederim.

Çok sevdiğim, birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum kardeşlerim Dr. Semih KAZANCI'ya, Dr. Ebru DENİZ'e, Dr. Zeyneb TUNCA'ya, Dr. Çiğdem SERCAN'a çok teşekkür ederim. Patoloji yolculuğumun başında sizlerle çalıştığım için çok şanslıyım.

Tezimin istatistiklerini yapan, tez aşamasında ve her zaman desteğini hissettiğim Dr. Zeyneb TUNCA'ya ayrıca çok teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan dolayı çok mutlu olduğum biyolog arkadaşlarım Ayşegül YÜCEL POLAT, Ceren GÜLGÖR'e, Melis DENİZ'e, aramızda ayrılan Özlem DEMİRKAN'a ve Funda GERÇEKER'e çok teşekkür ederim.

Tezimin ilk aşamalarından itibaren, tüm aksiliklerde sanki kendi teziymiş gibi uğraşan, çözüm arayıp emek veren, moralimi düzelten Ayşegül YÜCEL POLAT'a ayrıca çok teşekkür ederim.

Güler yüzleri, sabır ve yardımları için Ayten ŞAHİN'e, Ümit YILMAZ'a, Neşe GÜNEŞ'e teşekkür ederim. İş dışında da her zaman yardımına koşan Ayten ŞAHİN'e ayrıca çok teşekkür ederim.

Patoloji mutfağında birlikte çalıştığım arkadaşlarım Halil ÖZCAN'a, Fatma YALÇIN'a, Leyla BAŞKAN'a, Esra ASLAN'a, Hatice ÖZEN'e, Şeyma ÖZER'e, Yasemin ATILGAN'a, Cansu YANAL'a, Büşra KUMRU'ya, Büşra CAN'a, tezimde arşiv konusunda çok yardımcı olan Gülizar DANIŞMAN'a çok teşekkür ederim. Tezimin ilk aşamasından beri yardım eden, sorunları bana farketmeden düzelten, istediğim her an yardım eden Esra ASLAN'a ayrıca çok teşekkür ederim.

Güler yüzleri, samimiyetleri ve yardımları için Mustafa Akdemir'e, Huriye Aksu'ya teşekkür ederim.

Güvenliğimiz Necip Aktaş'a ve eski güvenliğimiz Gulden Ünal'a teşekkür ederim.

Bir daha benzerini veya daha kötüsünü yaşamamak için hep dua ettiğim hayatımın en zor günlerinde, hiçbir desteğini esirgemeyen, hep yanımda olan, beni neşelendirmeye çalışan, kafamı dağıtan, her türlü özveriyi gösteren başta Prof. Dr. B. Handan ÖZDEMİR hocama ve Uzm. Dr. Eda YILMAZ AKÇAY ablama olmak üzere, tüm çalışma arkadaşlarıma tek tek tüm içtenliğimle çok çok teşekkür ederim. Sizlerle birlikte hep güzel günler görmek dileğiyle...

Evlatları olduğum için onur ve mutluluk duyduğum, uzak-yakın her anımda hep destek oldukları, her zaman ellerinden gelenin daha da fazlasını yaptıkları, 'ben' olmamda katkısı olan, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim, tüm öğrendiklerimi öğrettikleri için annem Leyla TAŞLICA ve babam A. Hamdi TAŞLICA'ya sevgiler ve teşekkürler.

Tüm hayatımı, annemin karnını birlikte paylaştığım, ne zaman ihtiyacım olsa hep yanımda olan, aynı anda hem çok kızmayı hem de çok ve karşılıksız sevmeyi bana öğreten biricik kardeşlerim Yusuf, Ahmet ve Kadir TAŞLICA'ya çok teşekkürler, sizin ablanız olmak benim için büyük bir mutluluk.

İki sene boyunca her sabah beni işe götüren ve her akşam işten alan, sanki kardeşim değil de abimmiş gibi çıkmaza girdiğimi düşündüğümde akıl veren, hep çok sevdiğim, hep çok seveceğim, hep çok özleyeceğim, hala çok ihtiyacım olan ve her zaman da yanımda hissedeceğim, canım biricik kardeşim Emin Ahmet TAŞLICA'ya çok teşekkürler, senin gibi kardeşe sahip olmak herkese nasip olmazdı. Mekanın cennet olsun inşallah.

Yeni ailem olan, alıştığım hayatı bana aratmayan, her anımda bana destek olan, bana hep destek olacağına inandığım, sevgili eşim M. Enes TAŞTEPE'ye teşekkürler.

Hepiniz iyi ki varsınız, hepinizi iyi ki tanımışım. Sizleri çok seviyorum...

Firdevs Zeynep TAŞLICA TAŞTEPE

ANKARA, Ocak 2017

ÖZET

Tümör mikroçevresi tipik olarak kronik inflamasyon ve stromal hücreler, büyüyen damar hücreleri ve inflamatuvar infiltratı içeren konak komponentlerinden oluşmaktadır ve bu mikroçevrenin kanser gelişimi ile davranışında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Tümör mikroçevresinde geniş bir lökosit spektrumu bulunmaktadır. Bu lökositler tümör gelişim ve progresyonunda çift etkili role sahiptirler; immün hücreler tümör hücrelerini elimine edip anti-tümöral yanıtta etki edebildikleri gibi, uygun tümör hücreleri ile uyarıldıklarında tümör büyümesi ve progresyonuna sebep olurlar. Tümör mikroçevresindeki inflamatuvar infiltratın iyi bilinen bir diğer komponenti de tümör ilişkili makrofajlar (TAM-Tümör Associated Macrophages)'dır. TAM'lar kemokinler gibi birçok mediatörün üreticisidirler ki bu mediatörler kronik inflamatuvar sürecin aktivasyonu ve progresyonunu sağlar. Ayrıca bazı kanserlerde de TAM sayısının tümör hücre apoptozu ve CD8+ hücrelerin varlığı ile korele olduğu gösterilmiştir. Akciğer kanserli hastalarda ise TAM'ların önemi, yüksek TAM sayısı ve kötü prognoz arasındaki ilişki ile gösterilmiştir.

Tümörler neovaskülarizasyon olmadan ancak 2-3 mm çapa ulaşabilirler. Tümörün büyümesi için yeni damar yapıları ile desteklenmesi gerekmektedir, yeni damarların oluşumu ise endotel hücre proliferasyonu ve migrasyonunu stimüle eden faktörler arasındaki dengeye bağlı olan kompleks bir süreçtir. Bu olaylar kaskadının tetiklenmesi için tümör hücrelerinden çeşitli enzimler, büyüme faktörleri ve anjiyogenik maddeler salınması gerekir. Vasküler büyüme faktörlerinin prototipi 'vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)'dir. VEGF, damar permeabilitesini artırıp, endotele spesifik mitojenik faktör olarak etki göstererek endotelial hücre büyümesinde rol oynayan anjiyogenik bir faktördür. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, VEGF overekspresyonunun küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinin (KHDAK) prognozuyla ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Sperm-ilişkili antijen 9 (SPAG9), birçok kanser grubunda salgılanan ve güçlü immün yanıtı neden olan 'kanser testis antijen (KTA)' ailesinin bir üyesidir. KTA'lar primer olarak normal testis dokusunda eksprese edilen proteinlerdir. Bu antijenler diğer normal dokularda çok düşük seviyelerde eksprese edilirken, çeşitli kanseröz dokularda artmış ekspresyonları görülmektedir. Yapılan çalışmalarda da KHDAK olgularında, kanserli dokularda, komşu non-kanseröz dokular ile karşılaştırıldığında SPAG9 protein ekspresyonunun daha yüksek olduğu bulunmuş olup, ekspresyonun daha yüksek olduğu hastalarda ise düşük olanlara göre prognoz daha kötü olduğu görülmüştür. Ayrıca

SPAG9 baskılanması sonucunda VEGF ekspresyonunun azaldığı saptanmış olup, SPAG9'un VEGF üzerinden vaskülarizasyonu arttırdığı da belirtilmiştir.

Son yıllarda yapılan bu çalışmalar ile birlikte çalışmamızda, KHDAK'lerinde VEGF, tümör mikroçevresindeki TAM ve tümör ilişkili lenfositlerin tümör progresyonuna etkisi, SPAG9 proteininin prognoz ile ilişkisini ve tüm bunların KHDAK prognozu üzerine etkisini araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı'nda Ocak 2011-Mayıs 2016 tarihleri arasında tanı almış 80 KHDAK olgusu retrospektif olarak incelendi. Hemotoksilen&Eozin kesitleri tekrar gözden geçirildi; klinikopatolojik parametreler değerlendirildi. Ayrıca SPAG9, CD68, CD4, CD8 ve VEGF antikoları immünohistokimyasal yöntem ile tüm olgularda çalışıldı.

Çalışmamızda KHDAK'lu hastaların progresyonunda SPAG9 ekspresyonunu, SPAG9'un VEGF üzerindeki etkisini ve ayrıca tümör mikroçevresindeki TAM'lar ve lenfositlerin etkisini araştırmaya çalıştık. SPAG9 ekspresyonunun, KHDAK'larında tümör progresyonunu hızlandırdığını, tümör hücre invazyon, migrasyon ve metastaz yeteneği kazandırdığını bilmekteyiz. Çalışmamızda SPAG9 ekspresyon şiddeti yüksek olan olgularda, lenfovasküler invazyonun daha fazla olduğunu gördük ve bu tümörlerin pTNM evresinin daha yüksek olduğunu saptadık. Ayrıca SPAG9 ekspresyonu yüksek olan olgularda VEGF pozitif ekspresyon oranının daha fazla olduğunu saptadık. Tümör mikroçevresindeki TAM'ların ve lenfositlerin tümör progresyonu ile ilişkisi olduğunu bilmekteyiz. Çalışmamızda da TAM sayısı fazla olan tümörlerde TNM evresinin daha yüksek olduğunu gösterdik. Tümörü infiltre eden CD4+ ve CD8+ T lenfositler ile klinik parametreler arasında ise anlamlı bir ilişki saptamadık.

Bu çalışma sonucunda, SPAG9 proteininin ve VEGF ekspresyonu ile tümörü infiltre eden TAM sayısının kötü prognoz ile korele olduğunu düşünmekle beraber bu konuda daha fazla olgu üzerinde çalışma yapılması gerektiğini söyleyebiliriz.

Anahtar kelimeler: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri, SPAG9, TAM, VEGF

ABSTRACT

Role of Sperm-Associated Antigen 9, Tumor Associated Macrophages and Vascular Endothelial Growth Factor on Angiogenesis and Tumor Progression in Non-Small Cell Lung Cancer Patients

Tumor microenvironment is typically consists of stromal and chronic inflamatuar cells, growing vascular cells and host's inflamatuar cells. It is thought, this microenvironment plays an important role in cancer progression.

There is a broad spectrum of leukocytes in tumor microenvironment and these leukocytes has bifasic effect on tumor progression; immune cells eliminates tumor cells and acts as anti-tumoral but also when stimulated by appropriate tumor cells, they cause tumor progression. Other well known components of tumor microenvironment are 'tumor associated macrophages (TAMs)' and these TAMs produce many mediators, one of them is chemocins which provide activation and progression of chronic inflammatuary process. Also it is shown that number of TAM is correlated with tumor cell apoptosis and CD8+ lymphocytes. The potential significance of TAMs at lung cancer patients is shown with correlation between high numbers of TAMs and poor prognosis.

Tumors can't grow up more than 2-3 mm³ without neovascularisation. Tumors must be supported with new blood vessels and formation of vessels is a complex process including proliferation and migration of endothelial cells. Tumor cells express enzymes, growth factors and angiogenic substances for stimulating this neovascularisation cascade. The prototype of vascular growth factors is 'vascular endothelial growth factor (VEGF). VEGF is an angiogenic factor involved in endothelial cell proliferation and so tumor angiogenesis and progression. It up-regulates permeability of vessels and effects endothelial cell proliferation. Recent studies has showed correlation between poor prognosis in non-small cell lung cancer patients and VEGF overexpression.

Sperm-associated antigen 9 is a member of cancer testis antigen (CTA) family which is expressed and causes strong immune response in many cancers. CTAs are proteins primarily expressed in normal testis tissue. These antigens may be expressed in other normal tissues at very low levels while high levels of expression at many cancerous tissues can be seen. At recent studies with non-small cell lung cancer patients, expression of SPAG9 protein at cancerous tissue is higher when compared with adjacent non-cancerous tissue and these patients with high SPAG9 expressoin had poor prognosis. Also

down-regulation of SPAG9 results in reduced expression of VEGF so decreased vascularisation.

In our study, with recent studies, we aimed to investigate association between SPAG9 protein expression and TAMs with VEGF and CD4/CD8 lymphocytes in non-small cell lung cancer.

We selected 80 non-small cell lung cancer patients diagnosed and operated at Baskent University Hospital between 2011 January and 2016 May. Hemotoksilen&eosin sections were reviewed again, clinicopathologic parameters were analysed. Also SPAG9, VEGF, CD68, CD4 and CD8 antibodies were applied with immunohistochemistry to all patients.

We tried to analyze the effect of SPAG9 expression on tumor progression and VEGF, also activity of TAM and lymphocytes at tumor microenvironment at NSCLC patients. It is known that SPAG9 expression promotes tumor progression, tumor cell invasion, migration and metastatic ability at NSCLC patients. In our study, high SPAG9 expression is correlated with lymphovascular invasion and TNM stage. Also patients with high SPAG9 expression showed higher VEGF expression. We also know that TAMs and lymphocytes at tumor microenvironment are associated with tumor progression. In a similar manner, tumors with high number of TAMs are found to have advanced stage.

In conclusion, we think SPAG9 and TAMs are correlated with poor prognosis, still we can say more studies with higher number of patients are required.

Key words: Non-small cell lung cancer, SPAG9, TAM, VEGF

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|---|-------|
| Teşekkür | i |
| Özet | iv |
| Abstract | vi |
| İçindekiler dizini | viii |
| Kısaltmalar dizini | x |
| Şekiller dizini | xii |
| Tablolar dizini | xiv |
| 1. Giriş ve Amaç | 1 |
| 2. Genel Bilgiler | 3 |
| 2.1. Akciğer Embriyolojisi | 3 |
| 2.2. Akciğerlerin Anatomisi | 7 |
| 2.3. Akciğerlerin Histolojisi | 10 |
| 2.4. Akciğerlerin Makroskopik Örneklenmesi | 11 |
| 2.5. Akciğer Kanseri | 12 |
| 2.6. Akciğer Kanserinin Sınıflandırılması (WHO 2015) | 19 |
| 2.7. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri | 19 |
| 2.8. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserlerinin Moleküler Özellikleri | 28 |
| 2.9. Akciğer Kanserinin Evrelemesi | 30 |
| 2.10. Akciğer Kanserinin Derecelendirilmesi | 31 |
| 2.11. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinin Tedavisi | 33 |
| 2.12. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Prognostik Faktörler | 35 |
| 2.13. Tümör İlişkili Makrofajlar ve Lenfositlerin Tümör Progresyonundaki Rolü | 38 |
| 2.14. Kullanılan İmmünohistokimyasal Belirteçler Hakkında Bilgiler | 42 |

| | Sayfa |
|--|-------|
| 3. Gereç ve Yöntem | 48 |
| 3.1. Olguların Genel Özellikleri | 48 |
| 3.2. Hematoksilen&Eozin (H&E) Boyalı Kesitlerin Değerlendirilmesi | 48 |
| 3.3. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemleri | 48 |
| 3.4. İmmünohistokimyasal Olarak Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi | 49 |
| 3.5. İstatiksel Analiz | 54 |
| 4. Bulgular | 56 |
| 4.1. Klinik Parametrelerin Sonuçları | 56 |
| 4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular | 66 |
| 5. Tartışma | 89 |
| 6. Sonuç | 97 |
| 7. Kaynaklar | 100 |

KISALTMALAR

| | |
|---------------------------------|--|
| ALK | : Analplastik lenfoma kinaz |
| AJCC | : American Joint Committee on Cancer |
| CD4 | : Cluster of differentiation 4 |
| CD8 | : Cluster of differentiation 8 |
| CD68 | : Cluster of differentiation 68 |
| CK5 | : Sitokeratin 5 |
| CK 5/6 | : Sitokeratin 5/6 |
| CTLA4 | : Sitotoksik T-lenfosit İlişkili Antijen 4 |
| ÇTD | : Çevresel Tütün Dumanı |
| DNA | : Deoksiribo Nükleik Asit |
| EGFR | : Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü |
| ECM | : Ekstrasellüler matriks |
| FGF | : Fibroblast büyüme faktörü |
| FOXP3 | : Forkhead box protein P3 |
| H&E | : Hematoksilen eosin |
| IL-10 | : İnterlökin 10 |
| IL-13 | : İnterlökin 13 |
| JIP | : JNK interacting protein |
| JLP | : JNK-associated leucine zipper protein |
| JNK | : c-JUN NK ₂ -terminal kinaz |
| KHAK | : Küçük hücreli akciğer karsinomu |
| KHDAK | : Küçük hücreli dışı akciğer karsinomu |
| KPS | : Karnofsky performans skoru |
| LAG-3 | : Lökosit aktivasyon geni 3 |
| MAPK | : Mitojen activated protein kinase |
| MIF | : Makrofaj migrasyon inhibitor faktör |
| MIP-1α | : Makrofaj inflamatuvar protein-1 alfa |
| MMP | : Matriks metalloproteinaz |
| MVC | : Microvessel optical count |

| | |
|--------------|---|
| NNK | : 4- (metilnitrozamino)-1 (3-piridil)-1-butan |
| NK | : Natural killer |
| PD1 | : Programmed cell death protein 1 |
| SHK | : Skuamöz hücreli karsinom |
| SPAG9 | : Sperm ilişkili antijen 9 |
| siRNA | : Small interfering ribonükleik asit |
| TAM | : Tümör ilişkili makrofaj |
| TGF | : Transforming büyüme faktörü |
| Th | : Yardımcı T hücresi |
| TIMP | : Metalloproteinaz doku inhibitörü |
| TP 53 | : Tümör protein 53 |
| T-reg | : Regülatör T hücresi |
| TSNA | : Tütün-spesifik N-nitrozamin |
| TTF-1 | : Tiroid transkripsiyon faktör 1 |
| VEGF | : Vasküler endotelyal büyüme faktörü |
| WHO | : Dünya sağlık örgütü |

ŞEKİLLER

| | Sayfa |
|---|-------|
| Şekil 2.1. Akciğerlerin gelişim evreleri..... | 13 |
| Şekil 2.2. Türkiye’de her iki cinsiyet birlikte bakıldığında, en sık tanı alan kanserler..... | 14 |
| Şekil 2.3. Türkiyede her iki cinsiyet birlikte bakıldığında, en sık ölüme yol açan kanserler..... | 15 |
| Şekil 2.4. Makrofaj polarizasyonu | 40 |
| Şekil 2.5. TAM’ların hücre üzerine etkileri | 41 |
| Şekil 2.6. Tümör mikroçevresindeki makrofajların fonksiyonu | 42 |
| Şekil 2.7. SPAG9’un şematik resmi..... | 43 |
| Şekil 4.1. Tümörün histolojik tipi ile hastaların 3 yıllık surveyleri arasındaki ilişki..... | 62 |
| Şekil 4.2. Tümörün patolojik evresi ile hastaların 3 yıllık surveyleri arasındaki ilişki..... | 62 |
| Şekil 4.3. Vasküler invazyon varlığı ile hastaların 3 yıllık surveyleri arasındaki ilişki..... | 63 |
| Şekil 4.4. Klinik evre ile hastaların 3 yıllık surveyleri arasındaki ilişki..... | 64 |
| Şekil 4.5. SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile hastaların 3 yıllık survey ilişkisi..... | 70 |
| Şekil 4.6. VEGF ekspresyonu ile hastaların 3 yıllık survey ilişkisi..... | 74 |
| Şekil 4.7. SPAG9 yüksek ekspresyon+VEGF ekspresyonu birlikteliği ile hastaların 3 yıllık survey ilişkisi..... | 77 |
| Şekil 4.8. Tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu ile hastaların 3 yıllık survey ilişkisi..... | 81 |
| Şekil 4.9. Tümörü infiltre eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu ile hastaların 3 yıllık survey ilişkisi..... | 84 |
| Şekil 4.10. Tümörü infiltre eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu ile hastaların 3 yıllık survey ilişkisi..... | 87 |

RESİMLER

| | Sayfa |
|--|-------|
| Resim 2.1. Lepidik adenokarsinom (x100 büyütme)..... | 22 |
| Resim 2.2. Asiner adenokarsinom (x100 büyütme)..... | 23 |
| Resim 2.3. Papiller adenokarsinom (x40 büyütme)..... | 24 |
| Resim 2.3. Papiller adenokarsinom (x40 büyütme)..... | 24 |
| Resim 2.4. Mikropapiller adenokarsinom (x40 büyütme)..... | 24 |
| Resim 2.5. Solid adenokarsinom (x100 büyütme)..... | 25 |
| Resim 2.6. Skuamöz hücreli karsinom (x40 büyütme)..... | 27 |
| Resim 2.7. Büyük hücreli karsinom (x40 büyütme)..... | 27 |
| Resim 2.8. Adenoskuamöz karsinom (x100 büyütme)..... | 28 |
| Resim 3.1. CD68 antikoru ile skor 1 TAM yoğunluğu (x400 büyütme)..... | 50 |
| Resim 3.2. CD68 antikoru ile skor 2 TAM yoğunluğu (x400 büyütme)..... | 50 |
| Resim 3.3. CD68 antikoru ile skor 3 TAM yoğunluğu (x400 büyütme)..... | 51 |
| Resim 3.4. Düşük SPAG9 ekspresyonu (x40 büyütme)..... | 52 |
| Resim 3.5. Yüksek SPAG9 ekspresyonu (x40 büyütme)..... | 52 |
| Resim 3.6. VEGF negatif tümör alanı (x40 büyütme)..... | 53 |
| Resim 3.7. VEGF pozitif tümör alanı (x40 büyütme)..... | 53 |
| Resim 3.8. a-CD4 \leq 5 boyanma, b-CD4 $>$ 5 boyanma (x40 büyütme)..... | 54 |
| Resim 3.9. a-CD8 \leq 5 boyanma, b-CD8 $>$ 5 boyanma (x40 büyütme)..... | 54 |

TABLULAR

Sayfa

| | |
|---|----|
| Tablo 2.1. Akciğer kanserine neden olan mesleki maruziyet etkenleri ve kullanım alanları..... | 20 |
| Tablo 2.2. Akciğer tümörlerinin Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2015 yılı histolojik sınıflaması..... | 21 |
| Tablo 2.3. Akciğer Kanserlerinde 7. TNM Sınıflaması (WHO 2015)..... | 32 |
| Tablo 2.4. Yedinci TNM sistemine göre akciğer kanseri evrelemesi (WHO 2015)..... | 33 |
| Tablo 4.1. KHDAK tanısı almış 80 hastanın klinik parametreleri..... | 57 |
| Tablo 4.2. Tümörün histolojik tipi ile klinik parametreler arasındaki ilişki..... | 59 |
| Tablo 4.3. Tümörün patolojik T evresi ile klinik parametreler arasındaki ilişki..... | 59 |
| Tablo 4.4. Vasküler invazyon varlığı ile klinik parametreler arasındaki ilişki..... | 60 |
| Tablo 4.5. Tümörün klinikopatolojik evresi ile klinik parametreler arasındaki ilişki..... | 60 |
| Tablo 4.6. Hastaların klinikopatolojik bulguları ile sigara içme hikayeleri ve surveyleri arasındaki ilişki..... | 65 |
| Tablo 4.7. Hastaların klinik parametreleri ve SPAG9 ekspresyonları arasındaki ilişki..... | 68 |
| Tablo 4.8. SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki..... | 69 |
| Tablo 4.9. SPAG9 antikoru ile diğer immünohistokimyasal bulgular arasındaki ilişki..... | 70 |
| Tablo 4.10. Hastaların klinik parametreleri ve VEGF ekspresyonları arasındaki ilişki..... | 72 |
| Tablo 4.11. VEGF ekspresyonu ile hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki..... | 73 |
| Tablo 4.12. VEGF antikoru ile diğer immünohistokimyasal bulgular arasındaki ilişki..... | 75 |

| | |
|--|----|
| Tablo 4.13. SPAG9 yüksek ekspresyonu+VEGF pozitif ekspresyon varlığı ile hastaların klinikopatolojik bulguları arasındaki ilişki..... | 76 |
| Tablo 4.14. SPAG9 yüksek ekspresyonu+VEGF pozitif ekspresyon birlikteliği ile hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki.... | 77 |
| Tablo 4.15. Hastaların klinik parametreleri ve tümördeki TAM yoğunluğu arasındaki ilişki..... | 78 |
| Tablo 4.16. TAM yoğunluğu ile hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki..... | 80 |
| Tablo 4.17. TAM yoğunluğu ile diğer immünohistokimyasal bulgular arasındaki ilişki... | 82 |
| Tablo 4.18. Hastaların klinik parametreleri ve tümördeki CD4+ T lenfosit yoğunluğu arasındaki ilişki..... | 83 |
| Tablo 4.19. Tümörü infiltre eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu ile hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki..... | 83 |
| Tablo 4.20. Tümörü infiltre eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu ile diğer immünohistokimyasal bulgular arasındaki ilişki..... | 85 |
| Tablo 4.21. Hastaların klinik parametreleri ve tümördeki CD8+ T lenfosit yoğunluğu arasındaki ilişki..... | 86 |
| Tablo 4.22. Tümörü infiltre eden CD8+ T lenfosit yoğunluğu ile hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki..... | 87 |
| Tablo 4.23. Tümörü infiltre eden CD8+ T lenfosit yoğunluğu ile diğer immünohistokimyasal bulgular arasındaki ilişki..... | 88 |

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Akciğer kanseri tüm dünyada kanserlerden ölümlerin en sık sebebidir (1). Akciğer kanserlerinin yaklaşık %85'ini küçük hücreli dışı akciğer kanserleri (KHDAK) oluşturmaktadır (2). KHDAK'lerinde tüm hastalar içinde survey %15 iken, rezektabl hastalarda bu oran %50-60'tır (3).

Yapılan çalışmalar ve araştırmalar sonucunda tümör ilişkili makrofajlar (TAM-Tumor-associated macrophages) ile kanser arasında ilişki olduğu saptanmıştır. İnflamatuar mikroçevrenin tümör gelişimi ve ilerlemesinde etkili olduğu bulunmuştur. Bu iki antiteyi birbirine bağlayan durumun, inflamasyonun onkogenleri aktive etmesi ve sonucunda inflamatuvar sürecin kansere yol açması olduğu düşünülmektedir (4).

Tümör mikroçevresindeki lenfositlerin ise tümör hücreleri üzerinde bifazik etkisi vardır; lenfositlerin bir kısmı immün reaksiyonu desteklerken, diğer kısmı ise inflamasyonu baskılama yönünde çalışır. Tümör mikroçevresindeki CD4+ T hücreleri ortamdaki sitokin ve dendritik hücrelerin etkisiyle 4 çeşit farklılaşma geçirip, anti-tümöral ya da tümöral etki kazanırlar. Ayrıca TAM'lar çeşitli immünmodülatör sitokinler ve büyüme faktörleri salgılayarak, konağın tümöre karşı olan immün yanıtını azaltıp, sitotoksik T hücreler gibi anti-tümörojenik hücrelerin ortama gelmesini engeller ve T-reg ve Th2 hücreler gibi immün yanıtı baskılayan hücrelerin ortama ulaşmasına katkıda bulunurlar (5).

SPAG9, normalde kanser testis antijenlerinden eksprese edilen ancak birçok tümöral dokuda da artmış ekspresyonu saptanmış olan kanser testis antijen ailesinin bir üyesidir ve 'mitojen-activated protein kinase (MAPK)' yolunda etki eden önemli bir proteindir. Birçok fizyolojik olayda sinyal iletiminde odak nokta olan MAPK ailesi, ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz, c-JUN NH₂-terminal kinaz (JNK) ve p38 MAPK olmak üzere 3 gruba ayrılır. MAPKların yapısal organizasyonu farklı kinazlara sıkıca yapışmış olan yapısal proteinler ile düzenlenmektedir (6). Son zamanlarda tanımlanan bir JNK yapı taşı protein olan 'JNK-associated Leucine Zipper Protein (JLP)'; MAPKları ve onların hedef transkripsiyon faktörlerini biraraya getirerek spesifik sinyal yollarını düzenlemektedir. JIP4 ve SPAG9 adında iki farklı JLP varyantı tanımlanmıştır. SPAG9, JNK'lara, üzerlerinde bulunan 'JNK binding domain (JBD)' ile bağlanır ve MAPK yolağında aktivasyona sebep olur (6).

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) tümör anjiyogenezisinde anahtar mediatördür ve tümörlerin progresyonunda kan dolaşımını sağlamada görev alır. VEGF mitojenik aktivitesini esas olarak endotel hücreleri üzerinden göstermekte ve VEGF'ye yanıt olarak endotel hücreleri aktif proliferatif bir duruma geçmektedirler. Tümör hücrelerinde ve tümörün stromal hücrelerinden salgılanan birçok kemoatraktan biri olan VEGF ile tümör hücrelerinde büyüme tetiklenir, endotelde stimülasyon sonucu tümör vaskülaritesi artar. Tümör mikroçevresindeki TAM'lar da VEGF salınımına katkıda bulunurlar (7). Ayrıca SPAG9 proteini de, JNK sinyal yolağı ile VEGF promoter bölgesinde c-Jun fosforilasyonunu indükleyerek VEGF'yi aktive etmektedir (8).

Bizim bu çalışmadaki amacımız, VEGF, tümör mikroçevresindeki TAM ve tümör ilişkili lenfositlerin tümör progresyonuna etkisi, SPAG9 proteininin vaskülarizasyon ve prognoz ile ilişkisini araştırmak ve tüm bunların KHDAK prognozu üzerine etkisini göstermektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akciğer Embriyolojisi

İnsanlarda solunum sistemi 26.-27. günde, 4. faregeal ceplerin kaudalinde ve ön bağırsağın ventralinde gelişir. Solunum sisteminin gelişmesi ilk olarak ilkel farinksin tabanındaki ve orta hatta meydana gelen laringotrakeal oluğun (yarık) oluşmasıyla başlar. Laringotrakeal yarık bağırsak endodermi ile kuşatılmış olup larinks, trakea, bronşlar ve akciğerlerin epiteli ve bezlerin geliştiği bölgedir. Laringotrakeal yarığı kuşatan splanik mezodermden bağ dokusu, kan damarları gelişirken, kıkırdak ve düz kas dokusu ise baş mezoderm orijinlidir. Dördüncü haftanın sonunda laringotrakeal oluk derinleşerek ön barsağın kaudalinde kese biçiminde dışa doğru laringotrakeal divertikulumu (çıkıntı) yapar. Bu divertikulum kısa zamanda uzar ve splanik mezodermle sarılır. Bu divertikulumun bağırsak kanalının neresinden tomurcuklanacağı çevredeki mezenşim dokusundan gelen sinyaller ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) tarafından belirlenir. Laringotrakeal divertikulum kısa bir zaman sonra ilkel farinksten ayrılır ve ayrıldığı bölgede uzunluğuna katlantılar meydana gelir. Bu katlantılara özofagotrakeal katlantı adı verilir. Bu katlantılar birbirlerine yaklaşarak özofagotrakeal septum adı verilen bir yapıyı meydana getirir. Daha sonra, özofagotrakeal septum bir ventral bir de dorsal kısma ayrılır. Ventralden laringotrakeal tüp, larinks, trakea, bronşlar ve akciğer taslağı şekillenir. Dorsalden ise orofarinks ve özefagus taslağı oluşur. Laringotrakeal tüpün larinkse açılan deliğine larinks deliği (laringeal orifis) veya larinks girişi adı verilir. Laringeal orifis, solunum taslağının farinkle ilişkisini devam ettirir. Laringotrakeal divertikulum önce trakea ve bronşlar, distal sonu ise genişleyerek gelecekteki akciğer tomurcuğunu yapar (9).

Beşinci haftanın sonlarında trakea, bifurkasyo trakealis bölgesinden iki tomurcuk oluşturur. Bu tomurcuklar genişleyerek sağ ve sol primer bronşları oluşturur. Bundan sonra sağ primer bronştan üç, sol primer bronştan iki tane sekonder bronş oluşur. Gelişimin ilerleyen aşamalarında sekonder bronşlar da sağda 10, solda 8 tane olmak üzere tersiyer bronşları oluştururlar. Altıncı ayın sonunda yaklaşık 17 yeni bronş nesli oluşur. Bronşial ağaç son şeklini almadan postnatal hayatta 6-7 ek bölünme daha olur. Bu yeni bölünmeler oluşup, bronşial ağaç gelişirken akciğerler daha kaudal pozisyon kazanır. Kaudal ve lateral yönde büyüyen akciğer tomurcukları vücut boşluğuna gömülür. Akciğerlerin doldurduğu ve ön barsağın her iki yanında yer alan perikardiyoperitoneal kanal olarak bilinen bu boşluk biraz dardır. Akciğerlerin gelişimi ile birlikte bu kanal genişlemeye başlar. Sonunda, perikardiyoperitoneal kanallar, peritoneal ve perikardiyal kavitelerden sırasıyla

pleuroperitoneal ve pleuroperikardiyal katlantılarla ayrılır ve geride kalan boşluklara primitif plevral boşluk adı verilir. Akciğerleri dıştan saran lateral (splanik) mezodermden visseral plevra gelişir. Vücut duvarının iç yüzeyini döşeyen somatik mezoderm tabakasından da parietal plevra oluşur. Parietal ve visseral plevra arasında kalan boşluğa ise plevral boşluk denir. Yedinci prenatal aya kadar bronşiyoller sürekli olarak dikotomik bölünürler. Bu süre içinde damar desteği de düzenli olarak artar. Solunum ancak, küboidal solunum bronşiyollerinin bir kısmı ince, yassı hücrelere dönüştüğünde mümkün hale gelir. Çok sayıda kan ve lenf kapillerleri ile yakın ilişkide olan bu hücrelerin çevrelediği boşluklar, bundan sonra terminal keseler veya primitif alveoller olarak bilinir. Yedinci ayda gaz değişimi sağlayabilecek kadar kapiller ağ mevcuttur (9).

Prenatal hayatın son iki ayında ve postnatal hayatın ilk birkaç yılı boyunca terminal keselerin sayısı artmaya devam eder. Bu artma esnasında bu keselerin iç yüzünü döşeyen ve Tip-I olarak bilinen alveol epitelyal hücreleri (pnömosit-I) giderek incelik ve kapillerler alveoler keseler içine doğru çıkıntı yaparlar. Epitelyal ve endotelyal hücreler arasındaki bu yakın temas kan-hava bariyerini oluşturur. Karakteristik olgun alveoller doğum öncesi mevcut değildir. Altıncı ayın sonunda yassı alveol hücrelerine ek olarak septal hücre ya da Tip-II epitelyal (pnömosit-II) hücreleri gözlenir. Septal hücreler alveol yüzey geriliminin düşmesini sağlayan fosfolipitten zengin bir sıvı olan sürfaktanı sentezler. Doğumdan sonraki solunum hareketleri havanın akciğere girmesini sağlar. Havanın akciğerlere girmesi ile akciğerler genişler ve plevra boşluğunu doldurur. Alveol boyutları, doğum sonrası bir miktar genişlerse de, akciğerlerin doğumdan sonraki büyümesi esas olarak solunum bronşiyolleri ve alveollerin sayısındaki artışa bağlıdır. Alveoller 11 yaşına kadar dikotomik bölünmelerini devam ettirir (9).

2.1.1. Akciğerlerin Gelişim Evreleri

Akciğerlerin gelişim evreleri Şekil 2.1’de gösterilmiştir.

Psödoglandüler Dönem

Beş-on yedinci haftalar arasındaki dönemdir. Bu dönemde gelişen akciğer dış salgı bezlerine benzerlik gösterir. On yedinci haftaya gelindiğinde gaz alış verişi dışında akciğerlerin tüm temel elemanları hemen hemen gelişmiştir (10).

Kanaliküler Dönem

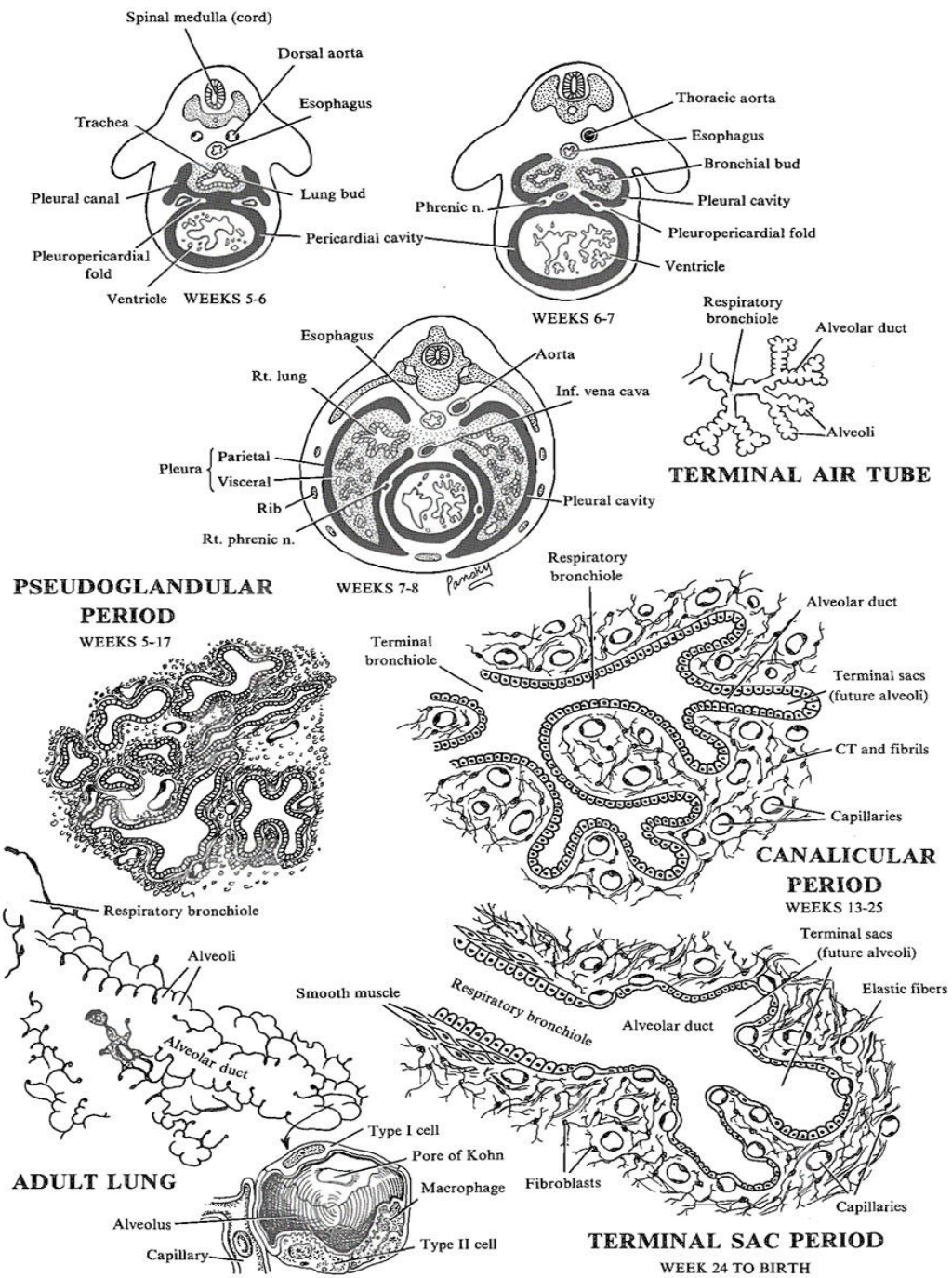
On yedi-yirmi dördüncü haftalar arasındaki dönemdir. Bu dönemde bronş ve terminal bronşiolün lümenleri daha geniştir. Akciğer dokusu aşırı şekilde damarlanmıştır. Yirmi dördüncü haftada her bir terminal bronşiol 2 ya da daha fazla respiratuar bronşiolü yapmak için dallanır. Solunum, bu dönemin sonlarına doğru mümkün olabilmektedir (10).

Terminal Kese Dönemi

Yirmi dördüncü haftadan doğuma kadar olan dönemdir. Bu dönemde birçok sayıda terminal kese gelişir. Terminal kesenin epiteli incelenerek respiratuar bronşiolü oluşturur. Kapillerler bu ilkel alveollere doğru çıkıntı yapmaya başlar. Yirmi dördüncü haftada terminal kesede bol miktarda pnömosit-I göze çarpar. Kapiller ağı, gelişen alveol çevresindeki mezenşimde hızla çoğalır ve aynı zamanda lenfatik kapillerlerde aktif gelişme gözlenir (10).

Alveol Dönemi

Geç fetal dönemden çocukluk dönemine kadar olan dönemdir. Tip-I alveol hücreleri o kadar incelmıştır ki, bitişik kapillerler terminal keseye doğru çıkıntı yapmışlardır. Bu terminal keseler gelecekteki alveol kanallarını temsil ederler. Karakteristik olgun alveoller doğumdan sonraya kadar oluşmazlar. Doğumdan önce olgun olmayan alveoller, respiratuar bronkioller ve terminal keselerin duvarlarında küçük çıkıntılar şeklinde gözlenirler. Doğumdan sonra ilkel alveoller akciğerler büyürken gelişir. Ancak akciğer büyüklüğündeki artışın çoğu respiratuar bronkioller ve ilkel alveol sayısındaki artışından çok alveol büyüklüğündeki artıştan kaynaklanmaktadır. Doğumdan sonra ilk 6 ay içinde akciğer gelişmesi, hava-kan bariyeri yüzeyinin aşırı artışı ile karakterizedir. İlk 6 ay içindeki alveol sayısı yetişkinin 1/6'sı kadardır (50 milyon). Üçüncü yaştan 8.yaşlara ya da daha sonraki yaşlara kadar birçok olgun olmayan alveol artmaya devam eder. Olgun olmayan alveoller olgun olan alveolleri yapma kapasitesine sahiptir. Yaklaşık 8 yaşında olgun elemanlı 300 milyon alveol bulunur (10).



Şekil 2.1. Akciğerlerin gelişim evreleri

(Pansky B. Review of Medical Embryology. First edition, Alameda, Embryome Sciences, 1982)

2.2. Akciğerlerin Anatomisi

Göğüs boşluğunda büyük bir alanı dolduran akciğerler, kalbin her iki yanında yer alır. Akciğerler, tepesi yukarıda, tabanı aşağıda, konveks yüzü dış yanda, düz yüzü iç yanda olan bir koni biçiminde organlardır ve dış yüzleri visseral plevra ile örtülüdür (11).

Yetişkin bir erkekte sağ akciğer yaklaşık 625 gr, sol akciğer ise 567 gramdır. Akciğerler erkeklerde vücut ağırlığının yaklaşık 1/37'sini, kadınlarda ise 1/43'ünü oluştururlar (11).

Her iki akciğerin yüksekliği arka kenarda tepeden tabana kadar 25 cm, tabanda önden arkaya çapı ise 15-16 cm kadardır. Kalbin büyük kısmının sol tarafta bulunması nedeni ile sağ akciğer sol akciğerden daha geniş fakat daha kısadır. Erişkin bir erkekte akciğerler derin bir ekspirasyondan sonra yapılan derin bir inspirasyonda 3700 cm³ hava alır. Normal bir solunumda erişkin bir erkek 500 cm³ lük bir hava verir (11).

Akciğerlerin bir tepesi (apex pulmonis), bir tabanı (basis pulmonis), üç tane de yüzü vardır. Organın ön, arka ve yanlarda toraks duvarının iç yüzüne bakan yüzüne 'facies costalis', mediastinuma bakan iç yüzüne 'facies mediastinalis' ve diafragma ile temas eden yüzüne de 'facies diafragmatica' denir. Ayrıca akciğerlerin 'margo anterior, posterior ve inferior' olarak isimlendirilen üç tane de kenarı vardır (11).

2.2.1. Akciğerlerin Lobları ve Fissürleri

Her iki akciğerin pulmoner hilusa kadar uzanan derin yarıkları organı sağda 3, solda 2 pulmoner loba ayırır. Ayrıca akciğerler, her iki akciğerde bulunan ve simetrik olarak yukarıdan aşağıya uzanan 'fissura obliqua pulmonis' denilen derin yarıklar ile 'lobus superior' ve 'lobus inferior' olmak üzere 2 loba ayrılır. Buna ek olarak sadece sağ akciğerde bulunan ve 'fissura horizontalis pulmonis' adı verilen yarık ile sağ akciğer superior lobu ikiye ayrılır. Bu şekilde fissura horizontalis pulmonis ile ayrılan parçadan 'lobus medius' denilen, üçgen biçiminde üçüncü bir lob oluşur. Medial lob sağ akciğerin en küçük lobudur (11).

2.2.2. Bronkopulmoner Segmentler

Akciğerlere giren bronkus principalis bronkus lobaris'lere, bronkus lobarisler de bronkus segmentalis denilen daha ince dallara ayrılır. Her bir bronkus segmentalis, yapı ve fonksiyon olarak ayrı bir birim oluşturan ve akciğerin diğer bölümleri ile fonksiyonel bir ilişkisi bulunmayan bir yapıyı şekillendirir. Diğer bölümlerden bağımsız olarak çalışan ve

cerrahi olarak çıkarıldığında diğer bölümlere zarar vermeyen bu fonksiyonel birime ‘bir akciğer segmenti’ denir. Bir akciğer segmenti piramit şeklinde olup tepesi akciğer hilumuna, tabanı ise akciğerin dış yüzüne doğru yönelmiştir. Her bir akciğer segmenti visseral plevra ile sarılmış olup sadece kendilerine ait damarları, bronkus segmentalisi ve sinirleri vardır. Bu nedenle akciğerin diğer bölümlerine zarar vermeden doku cerrahi olarak çıkartılabilir (segmentektomi) (11).

2.2.3. Akciğer Asinusları

Akciğer asinusları, ortamdaki oksijenin kana geçmesine ve oksidatif metabolizma ürünleri olan karbondioksit ve su buharının atmosfere atılmasını sağlayan yapılardır (11).

Terminal bronşiooller havanın sadece iletiildiği, gaz alışverişinin yapılmadığı bölümlerdir. Akciğerde respiratuar bölüm; respiratuar bronşiooller, alveolar duktuslar, alveolar keseler ve akciğer alveollerini içerir. Yaklaşık 2 mm çapında olan ince bronkioluslar çatallanarak 0,5 mm çapında olan ve terminal bronşiooller denilen çok ince 12-18 dala ayrılır. Her bir terminal bronşiol ise yaklaşık 0,3 mm çapında olan respiratuar bronşiol yapılarına ayrılır. Respiratuar bronşioollerin duvarlarında gaz değişiminin başladığı ‘pulmoner alveol’ denilen kesecikler bulunur ve her bir akciğerde yaklaşık 300 milyon alveol bulunur. Respiratuar bronşiooller tekrar yan dallar vererek ‘alveolar duktuslar’ denilen kanalları şekillendirirler. Alveolar duktusların her tarafını yan yana sıralanmış pulmoner alveoller sarar. Tüm alveoller ‘septum interalveolara’ denilen bölümler ile birbirlerinden ayrılmıştır. Bazı alveolar duktuslar ikiye ayrılarak, bazıları da ayrılmadan ‘alveolar keseler’ denilen bir veya iki kesecikle sonlanır. Bir terminal bronkustan çıkan bütün bu dallar, alveolar duktuslar ve alveolar keseler ile birlikte ‘bir akciğer asinus’unu oluşturur. Bu akciğer asinuslarının 12-18’i bir araya gelerek ‘bir akciğer lobcuğu’nu oluşturur (11).

2.2.4. Akciğerlerin Kanlanması

Akciğerin fonksiyonel (pulmoner) ve besleyici (sistemik) olmak üzere iki farklı damar sistemi vardır. Organın fonksiyonel damarları a. pulmonalis ve v. pulmonalis’ler, besleyici damarları ise a. bronkialis ve v.bronkialislerdir (11).

A.pulmonalis (dekstra ve sinistra) sağ ventrikülden çıkan ve venöz kan taşıyan trunkus pulmonalisten çıkarlar (11).

Pulmoner alveollerden başlayan venler birbirleri ile birleşerek önce intersegmenter venleri, sonra lobar venleri ve bunlar da birleşerek vena pulmonalisleri oluştururlar. Her bir akciğerden iki adet pulmoner ven çıkar ve atrium sinistrumun arka duvarında kalbe açılırlar. Pulmoner venler akciğerde temizlenmiş kanı atrium sinistruma kadar taşırlar (11).

Akciğer parankimi, bronkuslar ve visseral plevranın kan dolaşımı ise bronşiyal arter ve venler tarafından sağlanır. Sağ bronşiyal arter torasik arterden çıkarken, sol bronşiyal arter doğrudan aorttan çıkar. Bronşiyal venler ise; sağ bronşiyal venler azygos vene, sol bronşiyal venler ise hemiazygos vene drene olurlar (11).

Lenfatik drenaj: Akciğerlerde yüzeysel ve derin olmak üzere 2 grup lenf damar ağı bulunur. Lenf akımının yönü akciğer periferinden pulmoner hilusa doğrudur (11).

Yüzeysel lenf damarları visseral plevra ve akciğeri drene ederler ve nodi lymphatici bronchopulmonales'e dökülürler. Derin lenf damarları ise bronşların submukozasında ve çevresindeki bağ dokuda bulunurlar. Alveol duvarlarında lenf damarları bulunmaz. Bu damarlar nodi lymphatici pulmonales'ler aracılığı ile nodi lymphatici paratracheales'e açılırlar. Yüzeysel ve derin lenf damarları birlikte trunkus bronchomediastinalis'lere açılarak genel lenf dolaşımına katılırlar. Akciğerlerde yüzeysel ve derin lenf damarları arasında anastomoz bulunmaz (11).

2.2.5. Akciğerlerin Sinirsel İnnervasyonu:

Akciğerlerin sinirsel innervasyonu afferent ve efferent sempatik sinir (trunkus sympathicus) lifleri ile parasempatik (n. vagus) sinir liflerinin oluşturduğu pleksus pulmonalisten sağlanır (11).

Sempatik efferent lifler bronş ve bronşiollerde genişleme, damarlarda daralmaya yol açar; parasempatik efferent lifler ise tersine bronş ve bronşiolleri daraltır, damarları ise genişletir ve bezlerde sekresyon yaptırır. N. vagusun aşırı uyarılması astım krizlerine yol açabilir (11).

Solunum refleksinde görev alan gerilmeye karşı duyarlı olan reseptörlerin afferentleri n. vagus tarafından taşınır. Akciğerler gerildiğinde (inspirasyon) beyin sapındaki inspirasyon merkezi inhibe edilerek ekspirasyon başlar. Ekspirasyon sonunda da benzer bir refleks mekanizması çalışır ve bu şekilde solunum düzenlenir (11).

N. glossopharyngeus, glomus karotikum ve sinus karotikus'u; n. vagus ise glomus aortikus'u innerve eder. Bu baroreseptörler ve kemoreseptörler arteriyal kan parsiyel

oksijen basıncında azalma durumunda beyin sapındaki refleks mekanizması ile inspirasyon arttırılırken; kanın parsiyel O₂ basıncında artma ise inspirasyonu azaltır (11).

2.3. Akciğerlerin Histolojisi

Trakea, hilumdan akciğerlere giren iki adet primer bronşa açılır. Her primer bronş ikiye ayrılarak 9-12 defa iki uç çatallanır (dikotomi) ve böylece her dal çapı yaklaşık 5 mm oluncaya dek incelik. Bronşlar ise çapları 1 mm'den fazla olan kıkırdak havayollarıdır. En dış tabakalarında düz kas bulunur. Bronşöller genellikle 1 mm çaptan daha küçük olan membranöz hava yollarıdır. Mukozalarında kıkırdak ya da bez içermezler. Büyük bronşöllerde epitel yalancı çok katlı prizmatik silli epiteldir. Daha küçük terminal bronşöllerde ise epitel silli tek katlı prizmatik ya da kübik olur. Terminal bronşiol epiteli aynı zamanda Clara hücrelerini de içerir. Bu hücrelerin silleri yoktur, tepe sitoplazmalarında salgı granülleri bulunur ve sekretuar işlevleri vardır (ör. sürfaktan benzeri materyal). Aynı zamanda bronş hasarı sonrasında epitel yenilenmesinde progenitör hücreler olarak görev yaparlar (12).

Bronşöllerde nöroepitelyal cisimcikler adı verilen özelleşmiş bölgeler de bulunmaktadır. Bu yapılar, salgı granülleri içeren ve kolinerjik sinir uçları alan 80-100 hücreden oluşmuş gruplardır. İşlevleri çok anlaşılmamakla birlikte, olasılıkla hava yolundaki kemoreseptörlerdir. Her terminal bronşiyol iki ya da daha fazla respiratuar bronşiyole ayrılır. Respiratuar bronşiyollerin duvarında gaz değişiminin gerçekleştiği çok sayıda alveol bulunur. Respiratuar bronşiyol silli kübik epitel ve Clara hücreleri ile döşelidir ancak alveollerin açıldığı bölümde bronşiyol epiteli yassı alveol epiteli hücreleri ile (tip 1 pnömositler) devam eder (12).

Alveoller hava ile kan arasında O₂ ve CO₂ değişiminin gerçekleştiği kese şeklinde çıkıntılardır. Alveollerdeki hava ile kılcak kan damarlarındaki kan üç bileşenden oluşan bir kan-hava bariyeri ile birbirinden ayrılır. Bu bileşenler; alveollerin yüzey epiteli ve alveol hücrelerinin sitoplazması, birbirine komşu alveol ve endotel hücrelerinin kaynaşmış bazal laminası ve endotel hücrelerinin sitoplazmasıdır. Bu tabakaların toplam kalınlığı 0,1-1,5 µm arasında değişir (13).

Yassı alveol hücreleri olarak da isimlendirilen tip 1 hücreler alveol yüzeyini döşeyen, ileri derecede incelmış hücrelerdir. Bu tip 1 hücreler alveol yüzeyinin %97'sini kaplarken, geri kalan %3'ünü tip 2 hücreler örter. Tip 2 hücreler; tip 1 alveol hücreleri arasında bulunan küboidal hücrelerdir. Genellikle alveollerin birleştikleri ve birbirleriyle

açılar oluşturdukları noktalarda iki ya da üç hücreden oluşan gruplar halinde bulunurlar. Kendilerinin ve tip 1 hücrelerin sayısını korumak üzere mitozla bölünürler. Histolojik kesitlerde, sitoplazmaları keseye benzer ya da köpüksü tipik bir görüntü sergiler. Bu keseler elektron mikroskop için hazırlanan dokularda iyi korunmuş ve belirgin olarak görülen lamellar cisimcikler tarafından oluşturulurlar. Bu lamelli cisimcikler alveol yüzeyine yayılarak hücre dışı bir alveol örtüsü meydana getiren ve yüzey gerilimini düşüren pulmoner sürfaktanı oluşturur. Sürfaktan, alveol hücrelerinin yüzey geriliminin azaltılmasına yardımcı olur. Alveoller arası bölmenin iç tarafında ise akciğer makrofajları (toz hücreleri) bulunurlar ve bu hücreler epitelin dış yüzünde, sürfaktan tabakası içinde temizleyici görev üstlenirler (12, 13).

2.4. Akciğerlerin Makroskopik Örneklemesi

Akciğerlerin histopatolojik incelenmesi için hastanın kliniğine ve biyopsinin amacına (tanı koymak, tedavi etmek gibi) göre farklı örneklemeler ve operasyonlar yapılabilir. Bunlar; transtorasik ve transbronşiyal iğne biyopsileri, wedge rezeksiyon, büllektomi, segmentektomi, bilobektomi, lobektomi, pnömonektomi şeklindedir (14).

İğne biyopsileri makroskopik olarak örneklenirken her dokunun boyu mm cinsinden tanımlanmalı ve her bir biyopsi ayrı ayrı kasetlenmelidir (14).

Wedge rezeksiyonlar, uç kısımlarında 2 ayrı stapler hattı bulunan üçgen şeklinde akciğer ve plevra segmentleridir. Lezyonun lokalizasyonu için materyal palpe edilir. Materyalin üç boyutu verilir, plevra tarif edilir ve bir şırınga yardımı ile formalin enjeksiyonu yapılır. Cerrahi sınırların uzunluğu ölçülür. Stapler hattı mümkün olan en kısa şekli ile ayrıldıktan sonra parankimal sınır ve plevral yüz boyanır. Doku, parankimal cerrahi sınıra dik olacak şekilde 3 mm aralıklar ile dilimlenir. Lezyonun boyutu, rengi, plevraya mesafesi, cerrahi sınıra mesafesi belirtilir. Lezyon dışı akciğer tarif edilir. Tarif edilen tüm lezyonlardan; plevra, en yakın cerrahi sınır ve lezyon dışı akciğer ile ilişkisini gösterecek şekilde örnekler alınır (14).

Lobektomi, bilobektomi ve pnömonektomi prosedürleri çoğunlukla tümör rezeksiyonu amacı ile yapılır. Bu materyaller geldiğinde ilk önce tümör lokalizasyonu veya diğer anormal alanlar açısından materyal palpe edilir. Materyalin tipi, hangi akciğer olduğu belirlenir. Materyalin ağırlığı ve üç boyutu verilir. Plevra boyanır. Fiksasyon enjeksiyonu vermeden önce bronş ve damar cerrahi sınırı transvers olarak çıkarılır. Hiler lenf nodları örneklenir. Bir prob yardımı ile, tümör lokalizasyonuna göre, hava yollarına koronal ya da

parasagittal olacak şekilde materyal açılır. Materyal intakt ise, hava yollarından olacak şekilde formalin verilir ve formalin içerisinde fiksasyona koyulur. Eğer materyalin bütünlüğü bozuk ise bir şırınga yardımı ile formalin enjekte edilir. Materyal örneklenmeden önce 24-36 saat boyunca %10'luk tamponlu formalinde tesbit edilir. Materyal tesbit olduktan sonra, hiler bölgeden hava yolları boyunca bir prob yardımı ile tümöre ulaşılır. Materyal tümörün anatomik yapılar ile ilişkisini gösterecek şekilde 3 mm kalınlığında dilimlenir. Genellikle orta zondaki ve periferik lezyonlar parasagittal olarak dilimlenirken, hiler lezyonlar koronal olarak dilimlenir (15).

Lezyonun lokalizasyonu (santral, periferik), hava yolları ile ilişkisi, bronş cerrahi sınıra uzaklığı, plevraya uzaklığı, lezyonun üç boyutu, lezyonun görünümü (rengi, nekroz varlığı, kavite varlığı, hemoraji), lezyonun sınırları (iyi sınırlı, infiltratif) tarif edilir. Lezyon dışı akciğer tarif edilir (amfizematöz, fibrotik, büllöz, bronşiektazi). Hiler lenf nodlarının sayısı, boyutu tarif edilir. Tümör; tümör dışı akciğer, komşu bronş ve damarlar ile ve plevra ilişkisini içerecek şekilde örneklenir (en az 4 örnek). Lezyon dışı akciğerden 3 örnek alınır (eğer şüpheli asbestozis var ise daha fazla örnek alınabilir). Parietal plevra ve eğer var ise göğüs duvarı yumuşak dokusu ve kaburga cerrahi sınırları örneklenir. Hiler lenf nodlarının tümü örneklenir. Ayrıca cerrah ana materyale ek olarak evreleme amaçlı diğer bölgelerden, isimlerini belirterek lenf nodu disseksiyonu yapılabilir. Böyle durumlarda her bir bölge farklı kodlar ile örneklendirilerek lenf nodlarının sayısı ve boyutu ayrı ayrı kaydedilmelidir (14, 15).

2.5. Akciğer Kanseri

2.5.1. İnsidansı ve Epidemiyolojisi

Akciğer kanseri, kadınlarda ve erkeklerde en sık görülen 2. kanserdir. Ayrıca her iki cinsiyette de kanserlerden ölümlerin en sık sebebi akciğer kanseridir (16).

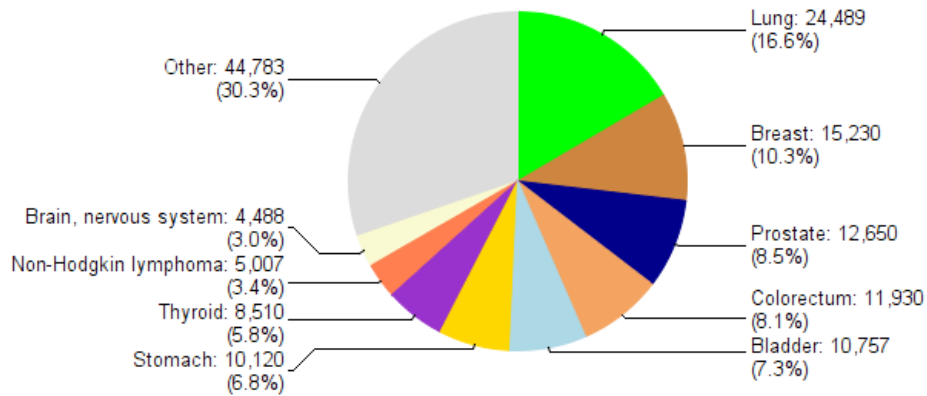
Akciğer kanserinin ortalama görülme yaşı 71 olup, 'Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER)' programı verilerine göre hastaların %0,2'si 20-34 yaş, %1,5'u 35-44 yaş, %8,8'i 45-54 yaş, %20,9'u 55-64 yaş, %31'i 65-74 yaş, %29'u 75-84 yaş ve %8,3'ü ise 85 yaş sonrasında görülmüştür (17).

Akciğer kanseri, solunum epiteli hücrelerinden köken alır ve küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) olmak üzere başlıca 2 geniş kategoriye ayrılabilir. KHAK; akciğer kanserlerinin %15'ini oluşturur ve nöroendokrin karakter gösteren hücrelerden köken alır. KHDAK ise akciğer kanserlerinin

%85'ini oluşturur. KHDAK 3 major patolojik alt tipe ayrılabilir; adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom (SHK) ve büyük hücreli karsinom (BHK). Adenokarsinom akciğer kanserlerinin %38,5'ini oluştururken, SHK %20'sini ve BHK %2'sini oluşturur. Son 70 yılda adenokarsinom insidansı artmış olup, en sık görülen KHDAK'leri arasında SKH'un önüne geçmiştir (18).

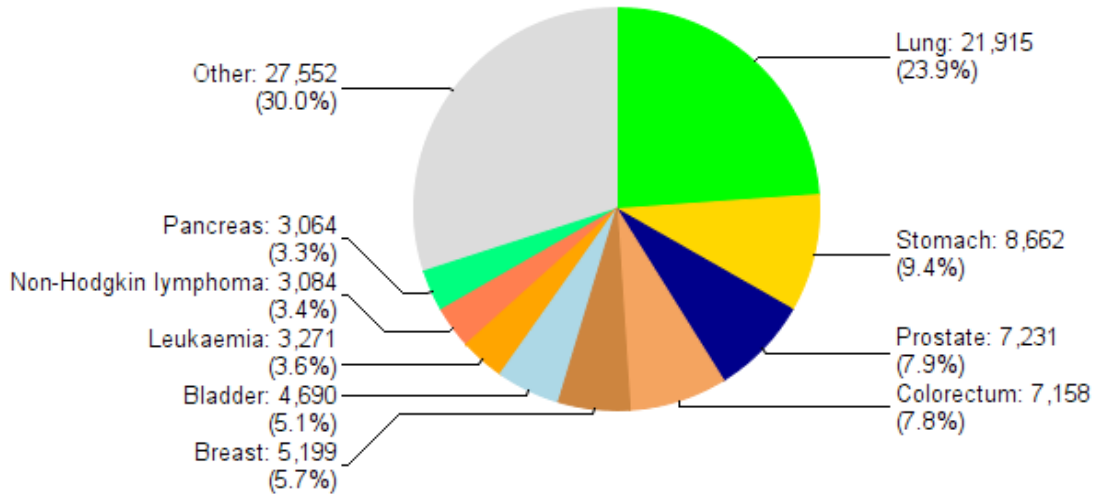
Akciğer kanseri vakalarının yaklaşık olarak yarısı (%49,9'u) gelişmekte olan ülkelerde görülürken, 1980 yıllarında bu oran %31 olarak bulunmuştur. ABD'de akciğer kanseri tanısı almış hastalarda 5 yıllık survey %15,6 olarak bildirilmiştir. Bununla birlikte tanı anında hastalığı akciğere sınırlı olan hastalarda 5 yıllık survey %52 iken, tanı anında uzak organ metastazı olan hastalarda bu oran %3,6'ya düşmektedir (19).

Akciğer kanseri insidansı ve mortalitesi ABD ve gelişmiş ülkelerde en yüksektir. Orta Amerika ve Afrika gibi az gelişmiş coğrafik bölgelerde ise akciğer kanseri sıklığı daha az görülürken, bu oran sigara kullanımına bağlı olarak son zamanlarda artmaya başlamıştır (20). Tütün kullanımı akciğer kanseri gelişiminde en temel risk faktörüdür ve akciğer karsinomlarının büyük bir kısmı sigara içiciliği etkisine bağlanabilir. Tütün kullanımının engellenmesine yönelik tüm çabalara rağmen tüm dünyada yaklaşık 1,1 milyar sigara içicisi vardır ve böyle devam ettiği takdirde bu sayının 2025 yılında 1,9 milyara çıkacağı düşünülmektedir (21). Türkiye'de ise 2012 yılında 24489 yeni tanı akciğer karsinomu olgusu bildirilmiş olup her iki cinsiyet birlikte bakıldığında, en sık görülen kanserler arasında 1. sıradadır (Şekil 2.2.) (22). Ayrıca 2012 yılında 21915 ölüm sayısı ve %23,9 oranı ile kanserlerden ölümün en sık sebebi olmuştur (Şekil 2.3.) (22).



Şekil 2.2. Türkiye'de her iki cinsiyet birlikte bakıldığında, en sık tanı alan kanserler

(WHO GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012)



Şekil 2.3. Türkiyede her iki cinsiyet birlikte bakıldığında, en sık ölüme yol açan kanserler

(WHO GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012)

2.5.2. Risk Faktörleri

Tütün Kullanımı (Sigara içiciliği)

Sigara kullananlarda artmış akciğer kanseri riski ilk olarak 1950’li yıllarda ABD ve İngiltere’de yapılan epidemiyolojik çalışmalarda gösterilmiştir (23, 24).

Sigara içen 9 kişiden 1’i akciğer kanserine yakalanmaktadır. Hiç sigara içmeyen erkekler ile karşılaştırıldığında, sigara içen erkeklerde akciğer kanseri gelişme riski 8-15 kat artmışken, bu oran kadınlarda 3-10 kat olarak bulunmuştur. Total olarak bakıldığında ise uzun süre sigara içen kişilerde, hiç içmeyenler ile karşılaştırıldıklarında, tüm ömürleri boyunca akciğer kanseri gelişme riski rölatif olarak 10-30 kat artmıştır (25).

Akciğer kanseri gelişme riski sigara tüketim miktarı ile doğru orantılıdır, bu yüzden de bir günde tüketilen sigara miktarı, sigaraya başlama yaşı, inhalasyonun derecesi, sigaranın katran ve nikotin içeriği, filtreli sigara kullanımı kanser gelişim riski açısından önemli parametrelerdir (26, 27).

Ayrıca, bireysel duyarlılık da karsinogenezde çok önemli bir faktördür. Akciğer kanserlerinin %80’den fazlası tütün maruziyeti olan insanlarda görülürken, sigara kullanan insanların %20’den daha azında akciğer kanseri gelişmektedir. Bu farklılıkların da çevresel faktörler ve/veya genetik yatkınlık ile ilişkili olduğu tahmin edilmektedir (28).

Hiç şüphesiz ki, sigara kullanımı akciğer kanseri gelişimi açısından en önemli değiştirilebilir risk faktörüdür ve buradan yola çıkılarak, tütün kullanımının eliminasyonu ile dünyadaki tüm kanserlerden ölümlerin %20 oranında azalacağı düşünülmektedir (28).

Tütün kullanımı tüm majör akciğer kanseri histolojik tiplerinde riski arttırmaktadır fakat en kuvvetli etki skuamöz hücreli karsinom, daha sonra da küçük hücreli karsinom ve adenokarsinomdadır (29).

Tütün tüketiminin ana kaynağı sigara olmasına rağmen, sigara ile benzer karsinojenik etkiler ile pipo, puro kullanımında da akciğer kanseri riskinde artış gösterilmiştir (30).

Sigaranın Etki Mekanizması

Sigara dumanı; gaz ve partikül bileşenlerinden oluşan kompleks bir aerosoldür. Duman; 'ana duman' ve 'yan akım dumanı' denen 2 komponentten oluşmaktadır. Ana duman, sigara içindeki havanın inhalasyonu ile oluşur ve sigara içicisindeki duman maruziyetinin temel kaynağıdır. Yan akım dumanı ise sigaranın tütürülmesi esnasında sigara partiküllerinin yanması ile oluşur ve çevresel tütün dumanının (ÇTD) başlıca kaynağıdır (19).

Tütün bağımlılığının başlıca etkeni nikotindir. Akciğer kanseri gelişimi riskinde ise majör komponent katrandır. Katran; su ve nikotin tükendiğinde, geride kalan sigara dumanındaki parçacıklı maddedir. Ancak ana duman akımının bileşenleri, sigara içen kişinin inhalasyon yoğunluğuna göre büyük değişkenlikler gösterebilmektedir. Dudak filtrelerinin kullanımı ana duman akımındaki nikotin ve katran miktarını azaltmakla birlikte, filtrelerin dudak/parmaklarla ezilmesine ve sigara içen kişinin inhalasyon derinliğine bağlı olarak filtrelerin etkileri de değişkenlik göstermektedir. Sigara dumanında 4000'den fazla kimyasal bileşen bulunmaktadır ve ana duman ağırlığının %95'i 400-500 gaz bileşeninden kaynaklanmaktadır. Geriye kalan ağırlığı ise 3500 partiküllü komponent oluşturmaktadır (31).

Vücuda giren dumanın içeriğinin dozu sadece sigara ile ilişkili değil, aynı zamanda inhalasyonun süresi ve yoğunluğuyla, filtre varlığı ve inhalasyondan önce dumanın soğutulmasıyla da ilişkilidir. Sigaranın yoğunluğunu belirleyen temel faktör aslında içicinin nikotin bağımlılığıdır; şimdiki sigaralar geçmişte kullanılanlara göre daha düşük nikotin ve katran içermektedirler ancak sigara içenler her bir nefeste kendi nikotin ihtiyaçlarını tatmin etmek için daha yoğun ve derin inspirasyon yaparlar (19).

Ana duman akımında polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), aromatik aminler, N-nitrozaminler, benzen, vinilklorid, arsenik, kromium gibi organik-inorganik çok sayıda potansiyel karsinojenler bulunmaktadır. PAH'lar ve N-nitrozaminlerin karsinojenik olabilmesi için metabolik aktivasyona ihtiyaçları vardır. Aynı zamanda bu bileşenlerin metabolik detoksifikasyonu da olmaktadır. İşte bu aktivasyon-detoksifikasyon arasındaki denge, bireylerin kanser riskini etkilemektedir (19).

Uluslararası kanser araştırma ajansı ise, tütün dumanında en az 50 karsinojen tespit etmiştir. Akciğer karsinomu açısından daha dikkat çekici ajanlar, tütünün işlenmesi ve sigara içimi sırasında tütünün nitrozlanması ile oluşan tütün-spesifik N-nitrozaminlerdir (TSNA). TSNA'ların hem sistemik hem de topikal etkisi bulunmaktadır; tütün dumanı inhalasyonu ile doğrudan akciğerlere iletilmekte, ayrıca sistematik olarak da emilip, hematogen yol ile pulmoner dolaşıma ve akciğerlere ulaşmaktadırlar. Sekiz adet TSNA tanımlanmıştır ve bunlardan biri de 4-(metilnitrozamino)-1(3-piridil)-1-butan'dır (NNK) ki bu maddenin deney hayvanlarında akciğer adenokarsinomunu indüklediği gözlenmiştir. NNK ve diğer tütün karsinojenleri DNA'yı bağlayıp, DNA'nın sigara dumanındaki PAH gibi diğer kanser öncüsü kimyasallara bağlanmasını açık hale getirirler. Normalde tamir mekanizmaları bu DNA'yı onarıp normal DNA'ya dönüştürebilirler ya da hasarlı hücreler apoptozise gider. Ancak normal tamir mekanizmalarının bozukluğunda, hasarlı DNA kalıcı mutasyonlara sebep olabilir. Ayrıca NNK'lar, kritik onkogenlerin modülasyonu ve tümör supresör genlerin aktivasyon yolağında değişiklikler yapıp, kontrolsüz hücre proliferasyonu ve tümörögenezise sebep olabilirler (32). Aynı zamanda NNK'lar, K-ras onkogenlerinin aktivasyonuna sebep olan DNA mutasyonları ile de ilişkilidirler (33) ve akciğer adenokarsinomlu hastaların %24'ünde K-ras onkogen aktivasyonu tespit edilmiştir (34). Bu aktivasyon aynı zamanda, sigarayı bırakan eski içicilerde de gösterilmiştir. Bu da önceden aktif içici olan ve yıllar önce sigarayı bırakanlarda görülen akciğer kanseri riskinin yüksek olmasını açıklayabilmektedir (34).

Ayrıca filtreli sigara kullanımı da akciğer adenokarsinomu gelişimini arttırıcı bir faktör olabilir (35). Çünkü nikotin bağımlı bu içiciler, filtreli sigara kullandıkları zaman, filtresiz sigaralar ile karşılaştırıldıklarında, aynı nikotin miktarını elde etmek için her nefeste daha derin inhalasyon yaparlar. Böylece sadece majör bronşların aksine, akciğerlerin periferlerindeki bronşlar da karsinojen içeren dumana maruz kalırlar. Bu periferel bronşlarda koruyucu epitel tabakası bulunmaz ve TSNA içeren karsinojenlere maruz kaldıklarında adenokarsinom gelişimine açık hale gelirler (36).

Tütün dumanında bulunan bir diğerk kimyasal olan benzo[a]piren metaboliti ise, akciğerk kanserli hastaların yaklaşık %60'ında görülen p53 tümör supresör gen lokusunda hasara sebep olmaktadır (36).

Pasif İçicilik

Pasif sigara içiciliğı de, maruziyetin derecesi ile doğru orantılı olarak akciğerk kanseri gelişim riskini arttırmaktadır. Sigara içen kişinin verdiği soluk yolu ile, pasif içiciler ana duman etkilerine ve sigaradan çıkan duman ile de yan akım dumanına maruz kalırlar (19).

Yapılan çalışmalarda, hiç sigara içmemiş olan fakat sigara içen biriyle birlikte yaşayan kişilerde akciğerk kanseri gelişimi için rölatif risk 1,14-5,20 arasında bulunmuştur (37, 38).

Cinsiyet

Dünyada her iki cinsiyette de kanserlerden ölümlerin en sık sebebi akciğerk kanseridir ve her iki cinsiyette de en büyük risk faktörü sigara kullanımındır. Ancak kadınların sigara dumanının karsinojenik etkilerine olan duyarlılığının erkeklerden fazla olup olmadığı halen tartışmalıdır. Yapılan bir çalışmada 1997-2006 yılları arasında kadınlarda akciğerk kanseri mortalite hızı 40,81/100.000 iken, erkeklerde 74,08/100.00 olarak bulunmuştur (39). Diğerk çalışmalarda ise kadınların, tütün dumanındaki karsinojenlere erkeklerden daha dayanıksız olduğu belirtilmiştir (40-43).

Cinsiyete bağılı bu farklılıkların, her iki cinste farklı olan nikotin metabolizması ve akciğerk karsinojenlerinin detoksifikasyonundaki farklılıklara bağılı olabileceğı bildirilmiştir. Örneğın bir çalışmada; akciğerk kanserli kadınların DNA'sında, erkeklerinkinden daha fazla DNA eklentisi saptanmış ve bu hastaların karsinojenlere daha duyarlı olabileceğı belirtilmiştir (44). Bu da kadınlarda neden daha düşük yoğunlukta sigara maruziyetinde akciğerk kanseri geliştiğini açıklayabilir.

Genetik

Yapılan çalışmalar, TP53 mutasyonu olan insanlarda akciğerk kanseri riskinde artış olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte sigara içen TP53 mutasyonu taşıyıcılarında da, sigara içmeyen taşıyıcılara göre akciğerk kanseri riskinde 3 kat artış bulunmuştur (45).

Ayrıca; çoklu KHDAK vakası görülen bir ailede, ‘epidermal growth faktör reseptörü (EGFR)’ T790M dizi varyasyonu bildirilmiştir (46).

Son yıllarda birbirlerinden bağımsız olarak yapılan 3 genetik çalışmada, 15. kromozom üzerinde akciğer kanseri ile ilgili bir gen bulunmuştur. Bu üç çalışmada da, genlerin 1 kopyasını taşıyan insanlarda akciğer kanseri riski %30 artmış bulunurken, 2 kopya olan insanlarda risk %70-80 artmış bulunmuştur (47, 48).

Diyet

Tüm kanserlerin yaklaşık %30’undan beslenme şeklinin sorumlu olduğu bildirilmektedir (49).

Birçok çalışma, beslenme şekli ile akciğer kanseri gelişim riski arasında ilişki olduğunu göstermektedir (50). Örneğin A, C ve E vitaminleri gibi antioksidanların düşük serum konsantrasyonları ve akciğer kanseri gelişimi arasında ilişki vardır (51, 52). A vitamini içerisinde bulunan β -karotenin, akciğer kanserine karşı en güçlü koruyucu etken olduğu bildirilmiştir (53). Doymuş yağ ve kırmızı et tüketimi ile artmış akciğer kanseri riski arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (54).

Alkol

Prospektif olarak yapılan, 399.767 kişinin ve 3137 akciğer kanseri hastasının değerlendirildiği bir çalışmada, hiç alkol almayan kişiler ile karşılaştırıldığında, günde en az 30 g alkol alan kişilerde akciğer kanseri riskinin hafif bir şekilde daha yüksek olduğu bulunmuştur (55).

Radon

Radon, renksiz ve kokusuz radyoaktif bir gazdır. Doğal bir gaz olarak birçok bölgede toprakta ve betonda tesbit edilmiştir. Yarılanma ömrü 3,8 olan radonun bozunma ürünü polonyum 241 ve 218’dir. Bu bozunma ürünlerinin radyoaktivite tehlikesi bulunmaktadır ve binalardan, katlar arasından geçebilmektedir. Avrupa’da, akciğer kanserinden ölümlerin %9’u ve tüm kanserlerden ölümlerin %2’sinin nedeninin evlerde radon maruziyeti olduğu bildirilmiştir (56). Amerika’da ise radona bağlı olarak bir yılda meydana gelen ölüm sayısı 18000 olarak hesaplanmıştır (57).

Egzersiz ve Fiziksel Aktivite

Yapılan çalışmalar, fiziksel olarak aktif bireylerin daha düşük akciğer kanseri riski olduğunu göstermektedir; orta seviyede fiziksel aktivitenin akciğer kanseri riskini %13-30 arasında azalttığı bulunmuştur. Ayrıca, yoğun sigara içicilerinde de fiziksel aktivitenin akciğer kanseri riski ve mortalitesini azalttığı bulunmuştur (58).

Çevresel Hava Kirliliği

Akciğer kanserinin hava kirliliğine maruz kalmanın uzun süreli yan etkilerinden biri olduğu düşünülmektedir (59). Yapılan bir çalışmada, Avrupa'da yoğun hava kirliliğine maruz kalmaya dayandırılabilir akciğer kanseri oranı %11 olarak bulunmuştur (60). İsveç'te yapılan başka bir çalışmada ise, kirli havada bulunan nitrik oksit miktarı 29,3 $\mu\text{m}/\text{m}^3$ ve daha fazla olan alanlarda yaşayanlar, 12,8 $\mu\text{m}/\text{m}^3$ ve daha az alanlarda yaşayanlar ile karşılaştırıldıklarında, akciğer kanseri gelişme açısından rölatif risk 1,44 olarak bulunmuştur (61). Ancak tüm bu çalışmalara rağmen tek başına hava kirliliğinin akciğer kanseri açısından karsinogenik riskini belirlemek halen zordur.

Mesleki Maruziyet

Çoğu iş yerlerinde, çalışanlar akciğer kanseri ve diğer kanserlere sebep olabilen karsinogenlere maruz kalmaktadırlar. Silika kristalleri ve asbestozis iyi bilinen iki karsinojendir; siliko tozu ve asbest liflerine maruz kalan çalışanlarda akciğer kanseri gelişme riski daha fazladır. Uranyum gibi nükleer alanlarda çalışan insanlarda da radyoaktif partiküllere maruziyetten dolayı akciğer kanseri gelişme riski artmıştır (62). 1950'li yıllardan beri, akciğer kanseri etyolojisinde rol oynayan spesifik mesleki maruziyet etkenleri iyi bir şekilde bilimektedir. Uluslararası kanser araştırma ajansının yayınladığı akciğer karsinogenleri listesi Tablo 2.1'de verilmiştir (29).

2.6. Akciğer Kanserlerinin Sınıflandırılması (WHO 2015)

Akciğer tümörlerinin Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan 2015 yılına ait sınıflaması tablo 2.2'de belirtilmiştir (29).

2.7. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri

2.7.1. Adenokarsinom

İnvaziv adenokarsinom, glandüler diferansiyasyonu, müsin üretimi veya pnömosit marker ekspresyonu olan malign epitelyal bir tümördür. Bu tümörler müsin veya pnömosit

marker ekspresyonu ile birlikte asiner, papiller, mikropapiller, lepidik veya solid büyüme paterni gösterirler ve baskın histolojik patternlerine göre sınıflandırılırlar (29).

Tablo 2.1. Akciğer kanserine neden olan mesleki maruziyet etkenleri ve kullanım alanları

| Ajanlar, karışımlar | Ana Sanayide Kullanım Alanı |
|-------------------------------|-----------------------------|
| Arsenik ve bileşikleri | Cam, metal ve zirai ilaçlar |
| Asbestozis | Yalıtım, filtreler, dokuma |
| Berilyum ve bileşikleri | Uzay Sanayi |
| Bisklorometil eter | |
| Klorometil eter | Kimyasal ara ürünler |
| Kadmiyum ve bileşikleri | Boya/pigment |
| Krom [VI] bileşikleri | Metal boyama, boya/pigment |
| Dioksin | Kimyasal sanayi |
| Nikel bileşikleri | Metallurji, alaşım |
| Plütonyum-239 | Nükleer sanayi |
| Radon-222 | Madencilik |
| Silika kristalleri | Taş kesimi, maden, cam |
| Pudra içeren asbest lifleri | Kağıt, boyalar |
| X- ve gamma- ışınları | Medikal, nükleer sanayi |
| Katran | Yapı sanayi, elektrotlar |
| Zift | Yakıt |
| İs, kurum | Pigmentler |
| | |
| Maruziyet | |
| Alüminyum ürünleri | |
| Kömür ürünleri | |
| Kok ürünleri | |
| Hematit madenleri (yeraltı) | |
| Demir-çelik üretimi | |
| Boyacılar (mesleki maruziyet) | |

(WHO 2015)

Lepidik adenokarsinom:

Bu varyant, morfolojik olarak minimal invaziv adenokarsinom ve adenokarsinoma in situya benzer şekilde alveolar duvarların yüzeyleri boyunca büyüyen atipik pnömositik hücrelerden (tip 2 pnömositler veya Clara hücrelerinden) oluşur ve uzun çapı 5 mm olan en az bir odakta invaziv adenokarsinom komponenti vardır (Resim 2.1). Eğer çok sayıda

invaziv odak varsa ya da ayrı ayrı odakların invazyon uzunluğu ölçülemiyorsa, invaziv odağı ölçmenin başka bir yolu; invaziv komponentlerin yüzdesini toplayıp, sonucu tüm tümör çapı ile çarpmaktır. Sonuç >5 mm ise, tümör lepidik predominant adenokarsinom olarak yorumlanır. İnvazyon; i- lepidik patern dışındaki histolojik subtipler (ör: asiner, papiller, mikropapiller ve/veya solid patern), ii-invaziv tümör hücreleri ile ilişkili miyofibroblastik stroma varlığı, iii-vasküler veya plevral invazyon varlığı ve iv- hava boşlukları boyunca yayılım varlığı olarak tanımlanır.

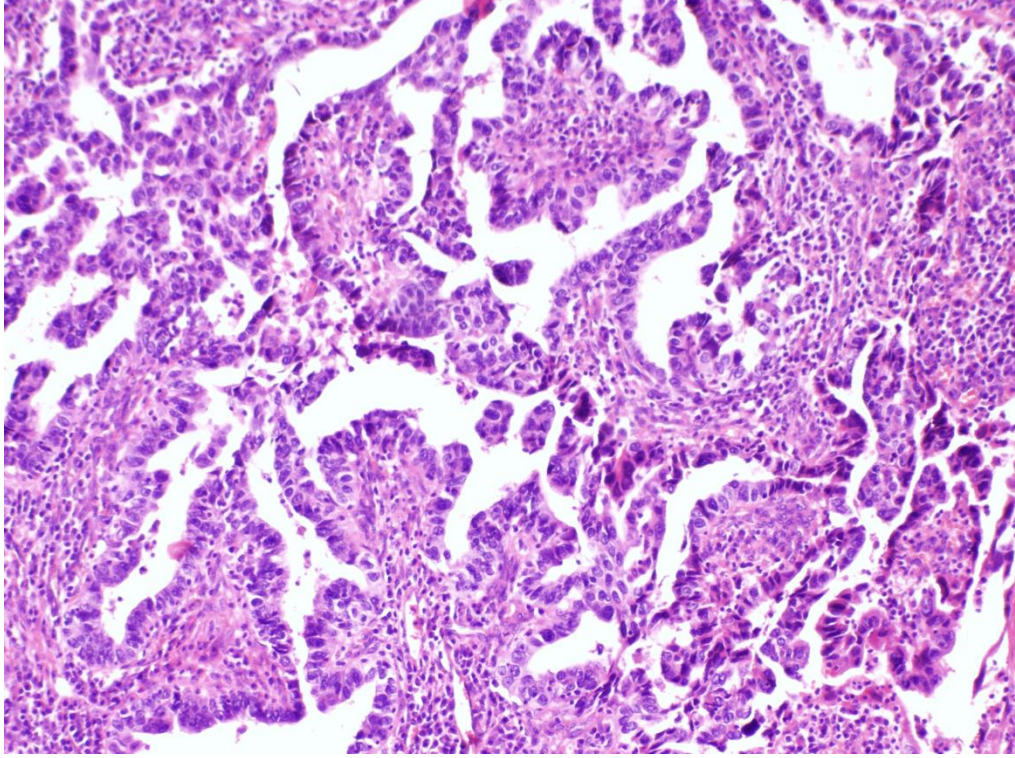
Tablo 2.2. Akciğer tümörlerinin Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2015 yılı histolojik sınıflaması

| Epitelial Tümörler | Nöroendokrin tümörler | Papillomlar | İnflamatuvar miyofibroblastik tümör |
|--|--|---|---|
| Adenokarsinom | Küçük hücreli karsinom | Skvamöz hücreli papillom | Epiteloid hemanjiyoendoteloma |
| Lepidik adenokarsinom | Kombine küçük hücreli karsinom | Ekzofitik | Pleuropulmoner blastom |
| Asiner adenokarsinom | Büyük hücreli nöroendokrin karsinom | İnverted | Sinoviyal sarkom |
| Papiller adenokarsinom | Kombine büyük hücreli nöroendokrin karsinom | Glandüler papillom | Pulmoner arter intimal sarkom |
| Mikropapiller adenokarsinom | Karsinoid tümörler | Mikst skuamöz ve glandüler papillom | EWSR1-CREB1 translokasyonlu pulmoner mikzoid sarkom |
| Solid adenokarsinom | Tipik karsinoid tümör | Adenomlar | Miyoepitelyal tümörler |
| İnvaziv müsinoz adenokarsinom | Atipik karsinoid tümör | Sklerozan pnömositom | Miyoepitelyoma |
| Mikst invaziv müsinoz ve non-müsinoz adenokarsinom | Pre-invaziv lezyon | Alveolar adenom | Miyoepitelyal karsinom |
| Kolloid adenokarsinom | Diffüz idiyopatik pulmoner nöroendokrin hücre hiperplazisi | Papiller adenom | Lenfohistiyositik Tümörler |
| Fetal adenokarsinom | Sarkomatoid karsinomlar | Müsinoz kistadenom | Mukoza ilişkili lenfoid dokunun ekstranodal marjinal zon lenfoması (MALT lenfoma) |
| Enterik adenokarsinom | Pleomorfik karsinom | Müköz gland adenomu | Diffüz büyük hücreli lenfoma |
| Minimal invaziv adenokarsinom | İgisi hücreli karsinom | Mezenkimal Tümörler | İntravasküler büyük B hücreli lenfoma |
| Non-müsinoz | Dev hücreli karsinom | Pulmoner hamartom | Pulmoner Langerhans hücreli histiositosis |
| Müsinoz | Karsinosarkom | Kondrom | Erdheim-Chester hastalığı |
| Skvamöz hücreli karsinom | Pulmoner blastom | PEComatöz tümörler | Ektopik Kökenli Tümörler |
| Keratinize skuamöz hücreli karsinom | Diğer ve Sınıflanamayan karsinomlar | Lenfanjiyomiyomatozis | Germ hücreli tümörler |
| Non-keratinize skuamöz hücreli karsinom | Lenfoepitelyoma benzeri karsinom | Benign PEComa | Matür teratom |
| Bazoloid skuamöz hücreli karsinom | NUT karsinom | Şeffaf hücreli tümör | İmmatür teratom |
| Pre-invaziv lezyon | Tükürük bezi-benzeri tümörler | Malign PEComa | İntrapulmoner timoma |
| Skvamöz hücreli karsinom in situ | Mukoepidermoid karsinom | Konjenital peribronşiyal miyofibroblastik tümör | Melanom |
| Büyük hücreli karsinom | Adenoid kistik karsinom | Diffüz pulmoner lenfanjiyomiyomatozis | Menengioma, NOS |
| Adenoskuamöz karsinom | Epitelial-miyoepitelyal karsinom | | Metastatik tümörler |
| | Pleomorfik adenom | | |

Eğer kanser; i- lenfatikleri, kan damarlarını veya plevrayı invaze ediyor ise, ii- tümör nekrozu var ise, iii- 5 mm'den büyük invaziv komponent var ise veya iv- tümörü çevreleyen akciğer parankimindeki alveolar boşluklar boyunca yayılım gösteriyor ise minimal invaziv adenokarsinom tanısı yerine lepidik baskın adenokarsinom tanısı verilir (29).

İnvaziv müsinoz adenokarsinomlarda da lepidik büyüme paterni görülebilir. Fakat sınıflamadaki spesifik 'lepidik baskın adenokarsinom' terimi, baskın komponent olarak

lepidik büyüme paterni olan non-müsinöz adenokarsinomları tanımlamaktadır, baskın olarak lepidik büyüme paterni gösteren müsinöz adenokarsinomlar için lepidik baskın adenokarsinom terimi kullanılmamalıdır (29).



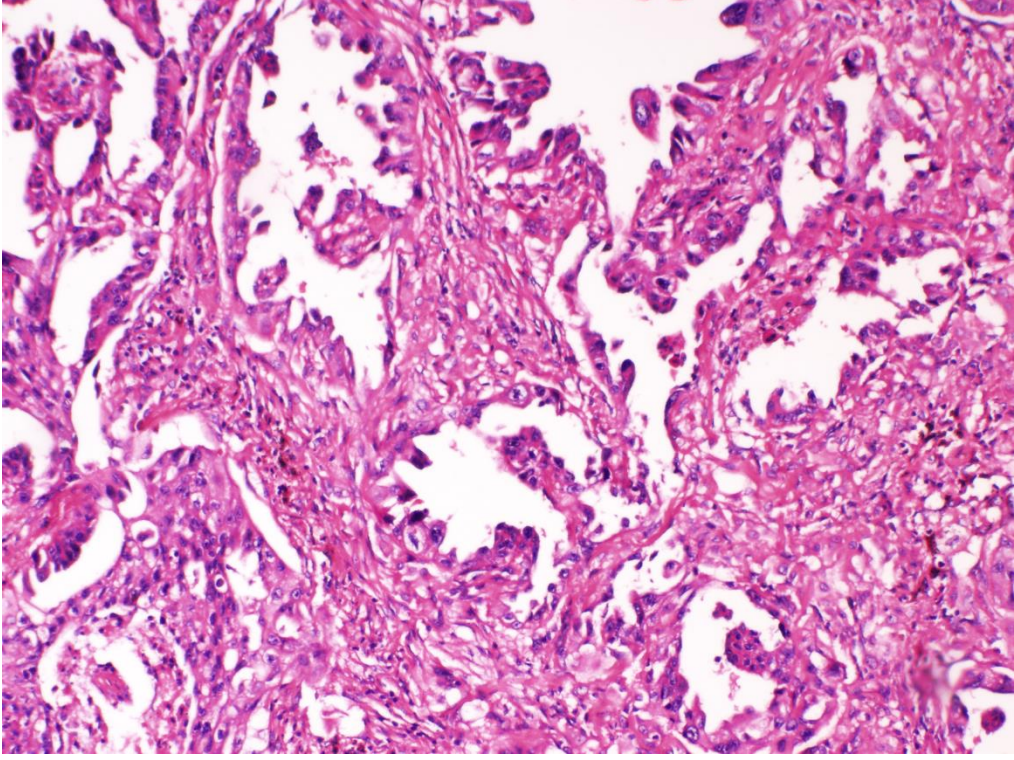
Resim 2.1. Lepidik adenokarsinom (x100 büyütme)

Asiner adenokarsinom:

Bu varyant büyük ölçüde, yuvarlak-oval şekilli, ortalarında tümör hücreleri ile çevrili lüminal boşlukları olan glandlardan oluşur. Neoplastik hücreler ve/veya glandüler boşluklar müsin içerebilirler (Resim 2.2) (29).

Asiner yapılar, periferik nükleer polarizasyon ve santral sitoplazmalı tümör hücrelerinden oluşan, belirgin bir lümen içermeyen yuvarlak agregatlar şeklinde de görülebilirler (29).

Kribriform yapılar da asiner adenokarsinomun bir paternidir ve bu patern kötü prognoz ile ilişkilidir (29).



Resim 2.2. Asiner adenokarsinom (x100 büyütme)

Papiller Adenokarsinom:

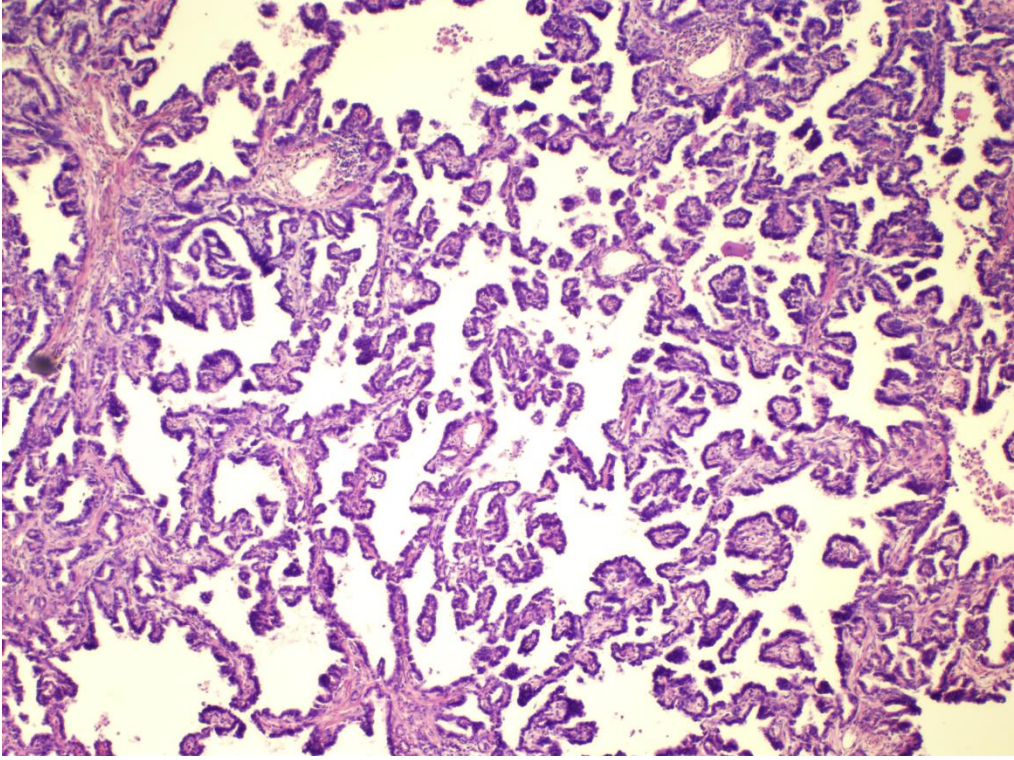
Bu varyantın majör komponenti santral fibrovasküler kor boyunca büyüme gösteren glandüler hücrelerdir (Resim 2.3). Eğer tümör asinusları veya alveolar boşluklar papiller veya mikropapiller yapılar ile dolu ise, tümör paterni (sırasıyla) papiller veya mikropapiller adenokarsinom olarak sınıflanır. Papiller adenokarsinom tanısı için miyofibroblastik stroma varlığı gerekmemektedir (29).

Mikropapiller Adenokarsinom:

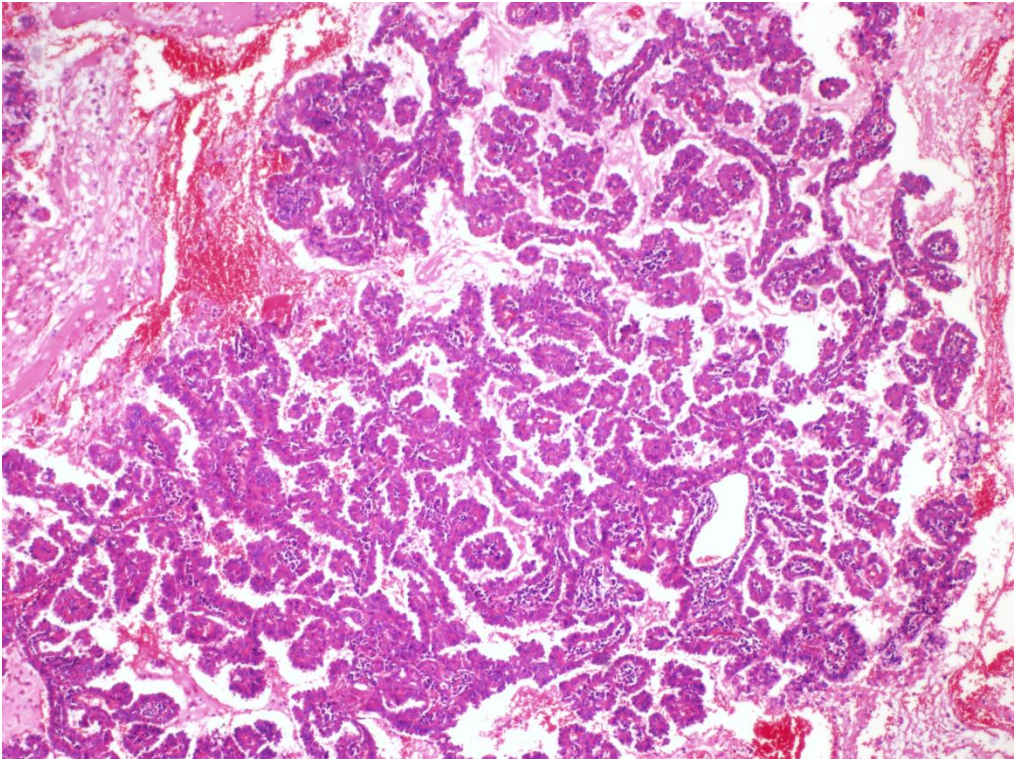
Bu varyant majör komponent olarak, fibrovasküler kor içermeyen, küçük çiçek benzeri yapılar oluşturan, papiller kümeler şeklinde büyüyen tümör hücreleri içerirler (Resim 2.4). Tümör hücreleri genellikle küçük ve küboiddir ve değişen oranlarda nükleer atipi içerirler. Alveolar boşluklarda yüzük benzeri glandüler yapılar görülebilir. Vasküler ve stromal invazyon siktir. Psammom cisimleri görülebilir (29).

Solid Adenokarsinom:

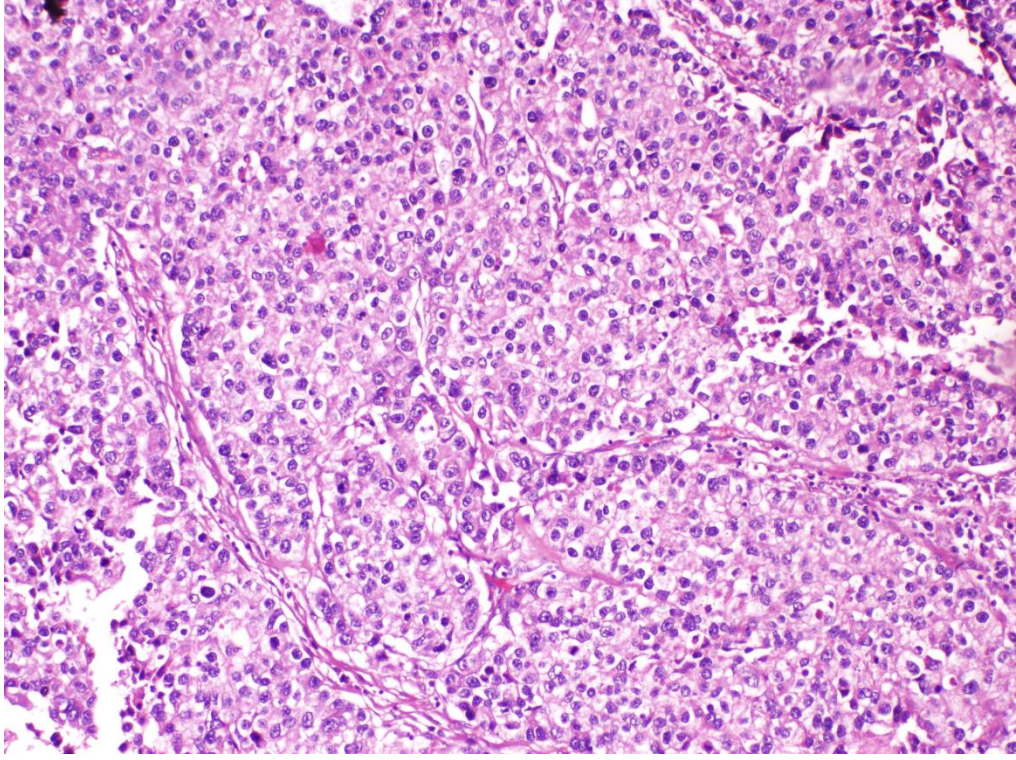
Majör komponenti; adenokarsinomun tanımlayıcı patternlerini (ör: asiner, papiller, mikropapiller veya lepidik büyüme gibi) içermeyen ve tabakalar oluşturan poligonal tümör hücreleridir (Resim 2.5).



Resim 2.3. Papiller adenokarsinom (x40 büyütme)



Resim 2.4. Mikropapiller adenokarsinom (x40 büyütme)



Resim 2.5. Solid adenokarsinom (x100 büyütme)

Daha önceden TTF-1 ve/veya napsin A gibi pnömosit belirteç ekspresyonu pozitif olan büyük hücreli karsinomlar, artık müsin içermeseler bile solid adenokarsinom olarak sınıflandırılıyorlar (29).

İmmünohistokimya:

En sık kullanılan 2 pnömosit belirteci TTF1 ve napsin A'dır. İnvaziv adenokarsinomların yaklaşık %75'i TTF1 pozitifdir. Adenokarsinom paternleri arasında bakıldığında ise, en sık lepidik ve papiller alanlar TTF1 pozitifliği gösterirken, solid baskın kanserlerde TTF1 pozitifliği daha az sıklıkta görülür (29).

2.7.2. Skuamöz Hücreli Karsinom

Skuamöz hücreli karsinom ya keratinizasyon gösteren ve/veya intersellüler köprüler içeren ya da skuamöz hücre diferansiyasyonunun immünohistokimyasal olarak saptandığı KHDAK morfolojisi gösteren malign epitelyal tümördür (Resim 2.6) (29).

Skuamöz hücreli karsinom keratinize veya non-keratinize olabilir. Keratinize SHK; keratinizasyon, keratin incisi ve/veya intersellüler köprülerin varlığı ile tanımlanır. Bu özellikler diferansiyasyon derecesi ile doğru orantılı olarak farklı oranlarda görülürler; iyi

diferansiye tümörlerde bu özellikler belirgin iken, az diferansiye tümörlerde daha az sıklıkta görülürler (29).

Non-keratinize SHK'da ise büyük hücreli karsinomdan ayırmak için immünohistokimya gerekmektedir. Bu tümörlerde skuamöz belirteçler (p40, p63, CK5 veya CK5/6 gibi) ile diffüz pozitif boyanma görülürken, TTF-1 negatiftir. Birkaç hücrede müsin görmek ise tanıyı dışlamaz (29).

İmmünohistokimya:

Non-keratinize SHK'larda diffüz ve kuvvetli p40, p63, CK5 ve CK5/6 pozitifliği görülmektedir. p40 pozitifliği diğer üç belirteçten daha spesifiktir. Keratinize SHK'larda ise bu belirteçlerin pozitifliğine ek olarak TTF1 negatif olmalıdır. Non-keratinize SHK'larda nadiren fokal zayıf TTF1 pozitifliği görülebilir (29).

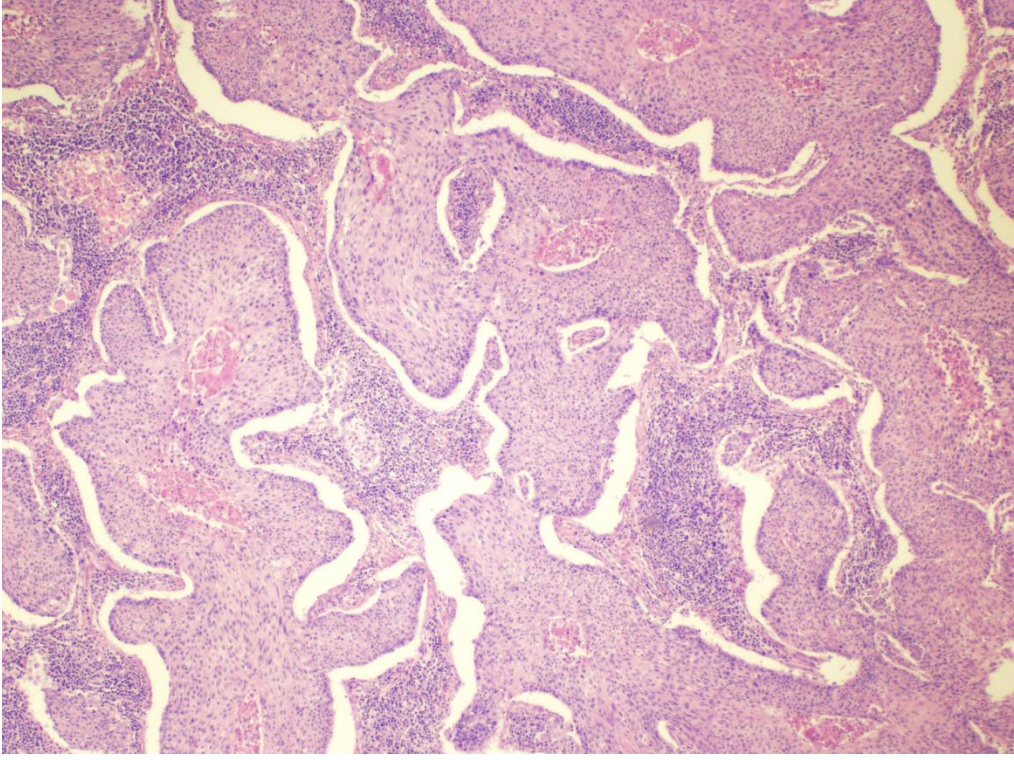
2.7.3. Büyük Hücreli Karsinom

Büyük hücreli karsinom; küçük hücreli karsinom, adenokarsinom veya SHK'nın sitolojik, yapısal ve immünohistokimyasal özelliklerini içermeyen andiferansiye KHDAK'dir. Tanı rezeksiyon materyallerinde ve çok sayıda örneklemeler ile konmalıdır, küçük biyopsiler veya sitoloji materyallerinde tanı verilemez (29).

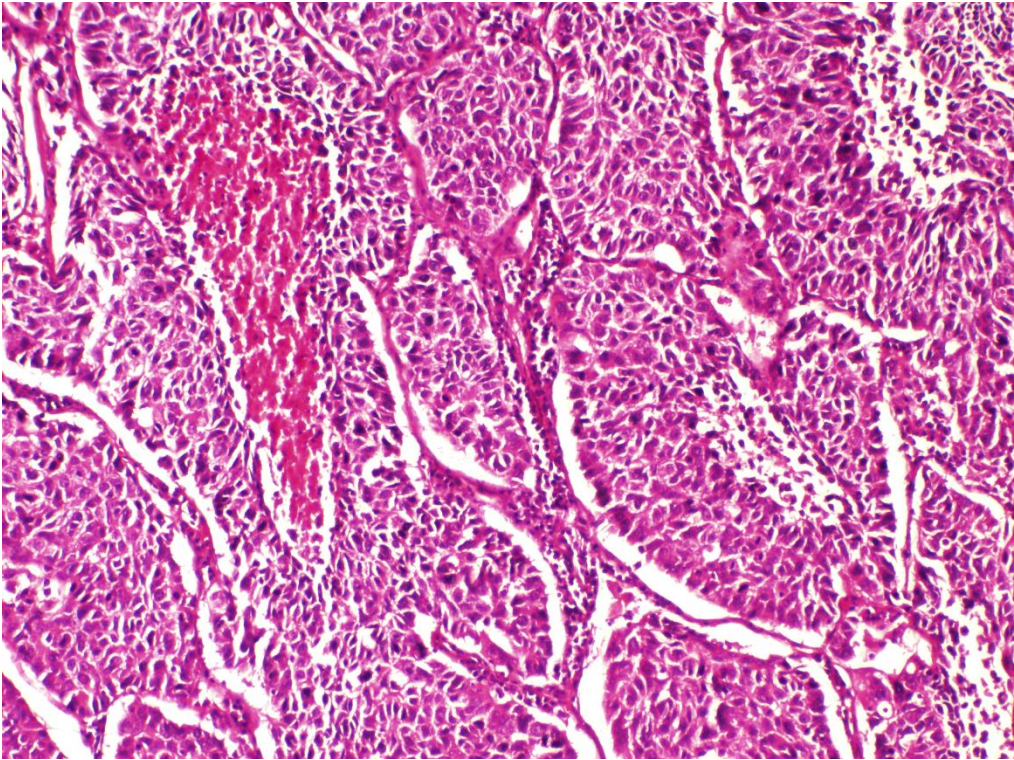
Büyük hücreli karsinom veziküler nükleuslu, belirgin nükleollü, büyük, poligonal hücrelerden oluşan tabakalar veya kümelerden oluşur (Resim 2.7). Aslında büyük hücreli karsinom, SHK, adenokarsinom veya küçük hücreli akciğer karsinomları immünohistokimyasal olarak dışlandıktan sonra verilen bir ekartasyon tanısıdır. Büyük hücreli nöroendokrin karsinom tanısı ise nöroendokrin belirteçler ile dışlanır (29).

2.7.4. Adenoskuamöz Karsinom

Adenoskuamöz karsinom, tümörün en az %10 komponentinde olmak üzere, hem skuamöz hücreli karsinom hem de adenokarsinom komponentleri içeren karsinomdur (Resim 2.8) (29). Tümör içerisinde skuamöz hücreli karsinomun ve adenokarsinomun iyi tanımlanmış komponentleri vardır. Her iki komponent de ayrı olarak görülebileceği gibi, birbirleri ile iç içe geçmiş şekilde de görülebilir. Her bir komponent de kendi içinde farklı diferansiyasyon dereceleri gösterebilir (29).

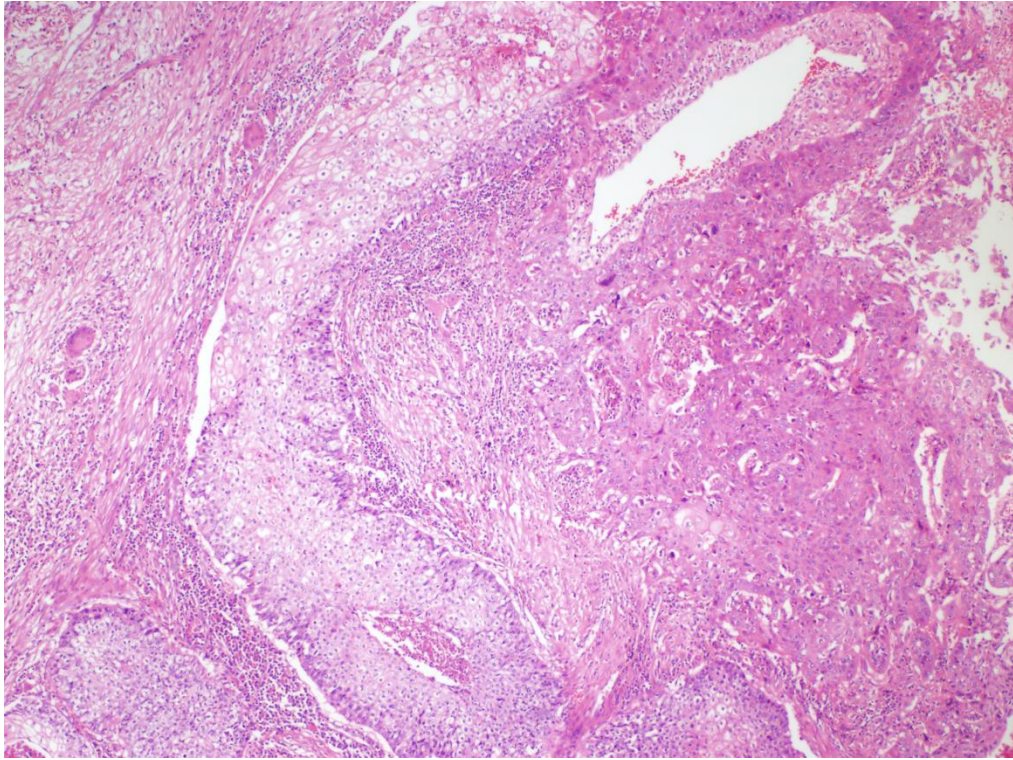


Resim 2.6. Skuamöz hücreli karsinom karsinom (x40 büyütme)



Resim 2.7. Büyük hücreli karsinom (x40 büyütme)

Tümör kısmen solid adenokarsinom komponenti veya non-keratinize skuamöz hücreli karsinom komponentleri içeriyorsa tanı koymak güçleşir. Böyle durumlarda müsin histokimyası ve immünohistokimya uygulanmalıdır. Hem adenokarsinom hem de skuamöz belirteçler içeren bir panel çalışılmalıdır (bunun için en iyi 2 belirteç sırasıyla TTF-1 ve p40 antikorlarıdır). İmmünohistokimyayı değerlendirirken de, sadece diffüz ve belirgin pozitif boyanmalar anlamlı olmalıdır, örneğin TTF-1 pozitif hücreler arasında tek tük p63 veya sitokeratin pozitif hücre görmek adenoskuamöz fenotip olarak kabul edilmemelidir. Aynı şekilde p40 ile diffüz, tabaka şeklinde boyanma olduğunda pozitif olarak kabul edilmelidir çünkü dağınık olarak tek tük hücrede fokal pozitiflik adenokarsinomlarda da görülebilmektedir (29).



Resim 2.8. Adenoskuamöz karsinom (x100 büyütme)

2.8. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserlerinin Moleküler Özellikleri

Tümör hücrelerinde birçok genetik anormallikler görülebilir fakat sadece ‘sürücü mutasyon’ denilen belli anormallikler tümör hücresinin yaşaması için önemlidir. İşte tümör hücreleri bu sürücü mutasyonlara bağımlı oldukları için, bu mutasyonların inaktivasyonları kanser hücrelerinin ölmesini sağlamaktadır (29).

Sürücü mutasyonlar tümörögeneziste temel rol oynamaktadır, dolayısıyla bu mutasyonların analizi akciğer kanserinin kompleks moleküler patolojisini çözmemize yardımcı olabilmektedir (29).

Küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında görülen başlıca moleküler değişiklikler; mutasyonlar sonucu onkogenlerin aktivasyonu (ör: EGFR, KRAS, BRAF ve ERBB2), translokasyonlar (ör: ALK, ROS1 ve RET) ve amplifikasyonlardır (ör: MET ve FGFR1). Son zamanlarda bu moleküler değişiklikler üzerinde çalışmalar ilerletilmiş ve yeni tedavi hedefleri üzerine yoğunlaşmıştır (29, 63).

Genel olarak bakıldığında akciğer kanserinde görülen prototip sürücü mutasyonlar EGFR, KRAS ve ALK mutasyonlarıdır fakat bu mutasyonlar hemen hemen tamamen akciğer adenokarsinomuna spesifik bir özellik kazanmıştır. EGFR veya ALK mutasyonu olan akciğer adenokarsinomları genellikle hiç sigara içmemiş kişilerde ve akciğerin periferik bölgelerinde görülürken; KRAS mutasyonu olan adenokarsinomlar ise, skuamöz hücreli karsinom ve küçük hücreli karsinoma benzer şekilde, sigara içen kişilerde ve akciğerin hiler bölgesinde görülür (29).

EGFR, proliferasyon ve apoptozisi düzenleyen sinyallerin iletim yollarını kontrol eden hücre yüzey reseptörü tirozin kinazların ErbB ailesinin bir parçasıdır. Bu reseptörler, ligand denilen hücre dışı bir sinyal ile bağlandığında dimerizasyon gerçekleşir ve aktive olurlar (64). Avrupa kökenli akciğer adenokarsinomlu hastaların %10-20'sinde ve Doğu Avrupa kökenli hastaların ise yaklaşık %50'sinde somatik EGFR mutasyonları görülmüştür. Bu oran farklılığı yerel sigara içme miktarlarına bağlıdır; sigara tüketimi yüksek olan alanlarda EGFR mutant kanser oranı düşük iken, KRAS-mutant kanser oranları fazladır. Zaten KRAS mutasyonları EGFR hedefli ajanlar ile tedaviye yanıtız akciğer adenokarsinomları ile ilişkilidir (63).

Anaplastik lenfoma kinaz (ALK) geni de bir tirozin kinaz reseptörüdür. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde, ALK geninin tirozin kinaz kodlayan bölgesi, EML-4 (Echinoderm Microtubule-Associated protein-like 4 gene) geninin dimerizasyon kodu taşıyan bölgesi ile birleşir. Böylece bir tirozin kinaz bölgesi, bir de dimerizasyon bölgesi içeren yeni bir füzyon proteini üretilir. Bu yeni füzyon geninin transkripsiyonu gerçekleşir gerçekleşmez dimerizasyon meydana gelir ve yeni protein aktive olur. Bu yeni ALK füzyon proteini, normal bir ALK'nın aksine, ligand gereksinimi duymadan, daha sitoplazmada aktive olmuştur (65). ALK- EML4 füzyon geni sonucu oluşan re-aranjmanlar akciğer adenokarsinomlarının %3-7'sinde görülmektedir (63, 64). Bu tümörler; erken yaşta görülme, hiç sigara içmemiş veya hafif içmiş kişilerde görülme ve özellikle taşlı yüzük

veya asiner paternde adenokarsinom morfolojisinde olma gibi ayırt edici klinikopatolojik özellikler gösterirler. Ayrıca ALK gen rearanjmanları adenoskuamöz karsinomlarda da bildirilmiştir fakat SHK'larda çok nadirdir (66).

KRAS aktivasyonu, KHDAK'lerinin %15-50'sinde görülür. Adenokarsinom ve büyük hücreli kanserlerin %30-60'ında, SKH'ların daha az bir oranında KRAS aktivasyonu vardır (67).

ROS1 ve RET genlerinin CD74 ve SLC34A2'yi de içeren çeşitli olası partnerler ile füzyonu sonucu aktive olması da yaklaşık %1 akciğer adenokarsinomlarında görülmektedir. RET füzyonlarının da hemen tümü hiç sigara içmemiş kişilerde görülmektedir (29).

ERBB2 mutasyonları akciğer adenokarsinomlarının yaklaşık %1-5'inde görülmektedir (29).

BRAF mutasyonları ise akciğer adenokarsinomlarının %2-10'unda görülmektedir (29).

Sürücü bir diğer mutasyon olan fibroblastik büyüme faktörü 1 (FGFR1)'in amplifikasyonu ise akciğer skuamöz hücreli karsinomlarının yaklaşık %20'sinde bulunurken, akciğer adenokarsinomlarında nadir görülürler (68).

Ayrıca akciğer skuamöz hücreli karsinomlarının %4'ünde 'diskoidin domain reseptör 2 (DDR2)' denen bir başka kinaz reseptöründe mutasyonlar saptanmıştır (69).

Gen amplifikasyonları da son zamanlarda KHDAK'lerinde tedavi açısından hedef moleküllerdendir, MET amplifikasyonu akciğer adenokarsinomlarının %1'inde görülürken, SKH'ların ise %6'sında görülebilmektedir (70).

2.9. Akciğer Kanserinin Evrelemesi

Akciğer kanseri evrelemesinde uluslararası TNM (primer tümör yayılımı- bölgesel lenf nodu tutulumu- intratorasik veya uzak metastaz) evreleme sistemi kullanılmaktadır.

İlk kez 1946 yılında Denoix tarafından önerilen TNM sistemi, 1966 ve 1973 yıllarında uluslararası kanser mücadele birliği ve Amerikan kanser birliği tarafından akciğer kanserlerine uyarlanmıştır. Günümüze kadar çeşitli güncellemeler yapılan bu sistem, en son akciğer kanser evreleme komitesi tarafından 2014 yılında güncellenmiş ve 2015 yılında yayınlanmıştır. Bu yeni TNM sistemi ile küçük hücreli, küçük hücreli dışı akciğer karsinomları ve bronkopulmoner karsinoidlerin evrelemesi yapılabilmektedir (71).

Akciğer kanserli olguların değerlendirilmesinde kullanılan yöntemlere göre çeşitli TNM sınıflandırmaları kullanılmaktadır (71):

Klinik Evreleme (cTNM, cEvre): Tedavi uygulanmadan önce fizik muayene, görüntüleme yöntemleri, bronkoskopi, mediastinoskopi ve gerekli durumlarda cerrahi biyopsi sonucunda elde edilen bulgularla yapılan evrelemedir. Primer tedavi seçilmesinin temelini oluşturur (71).

Patolojik Evreleme (pTNM, pEvre): Rezekte edilen akciğerin patolojik incelemesi sonuçlarına dayanan bir evredir. Patolojik evrelendirme primer tümör (T) ve bölgesel lenf nodları hakkında ayrıntılı ve kesin bilgiler vermekle birlikte, intrapulmoner metastaz varlığı dışında uzak metastaz (M) hakkında bilgi vermez. Bu nedenle klinik evrelemenin cM'si, patolojik evrede de genellikle geçerlidir (71).

Tedavi sonrasında ya da sırasında yeniden evreleme (yTNM, yEvre): Bir kısım ya da tüm tedavi modalitesini takiben hasta yeniden evrelenerek tekrar değerlendirilir. Hastanın cerrahi tedavi şansının olup olmamasına, tedavinin sonlandırılmasına ya da devamına karar verilir (71).

Rekürrens evreleme (r): Nüks tümörlerde yapılan evrelemedir (71).

Multipl tümör evrelemesi (m): Aynı anda görülen multipl tümörlerin evrelemesidir (71).

Otopsi evrelemesi (a): İlk kez otopside tesbit edilen tümörlerin evrelemesidir (71).

Tablo 2.3'de TNM sınıflaması ve tablo 2.4'de akciğer kanseri evrelemesi gösterilmiştir (29).

2.10. Akciğer Kanserinin Derecelendirilmesi

Akciğer kanseri için, meme ve prostat kanserlerinde olduğu gibi herkes tarafından kabul gören bir derecelendirme sistemi yoktur. Ancak 2011 yılında Amerikan Torasik derneği ve Avrupa Solunum Derneği, akciğer adenokarsinomları için beş histolojik alttiplerine göre oluşturdukları bir derecelendirme önerdiler. Buna göre akciğer adenokarsinomları histolojik olarak 'grade 1' (iyi diferansiye), 'grade 2' (orta derece diferansiye) ve 'grade 3' (az diferansiye) olarak sınıflandırılmıştır.

Tablo 2.3. Akciğer Kanserlerinde 7. TNM Sınıflaması (WHO 2015)

| Primer tümör (T) | |
|---------------------------|--|
| Tx | Primer tümör gösterilemiyor ya da balgam veya bronkoalveloler lavaj sitolojisinde malign hücreler tespit ediliyor fakat görüntüleme yöntem-leri ya da bronkoskopide tümör gösterilemiyor |
| T0 | Primer tümör kanıtı yok |
| Tis | Karsinoma in situ |
| T1 | Tümör en büyük çapı ≤ 3 cm, akciğer ya da visseral plevra ile çevrili, lobar bronşun daha proksimaline invazyon bulgusu yok (Bronşun yüzeysel duvarıyla sınırlı herhangi bir büyüklükteki süperfisyel tümörler ana bronşun proksimaline uzanıyor olsa bile bu tümörler T1a olarak değerlendirilir) |
| T1a | Tümör en büyük çapı ≤ 2 cm |
| T1b | $2 \text{ cm} < \text{tümör en büyük çapı} \leq 3 \text{ cm}$ |
| T2 | $3 \text{ cm} < \text{tümör en büyük çapı} \leq 7 \text{ cm}$, karinaya 2 cm ve daha fazla uzaklıkta ana bronş tutulumu, visseral plevra invazyonu, hilusa uzanan fakat tüm akciğeri kapsamayan obstrüktif atelettazi ya da pnömoni |
| T2a | $3 \text{ cm} < \text{tümör en büyük çapı} \leq 5 \text{ cm}$ |
| T2b | $5 \text{ cm} < \text{tümör en büyük çapı} \leq 7 \text{ cm}$ |
| T3 | Tümör en büyük çapı < 7 cm, göğüs duvarı (süperior sulkus tümörleri dahil), diafragma, frenik sinir, medias-tinal plevra, parietal perikard invazyonu, ana bronşun karinaya 2 cm den daha az yakınlıkta invazyonu (karina tutulumu yok), tüm akciğeri kapsayan total atelettazi ya da obstrüktif pnömoni, aynı lobta tümörden anatomik olarak ayrı tümör nodülleri varlığı |
| T4 | Her hangi bir boyuttaki tümörde Mediasten, kalp, büyük damar, trakea, rekürren laringeal sinir, özofagus, vertebra korpusu, karina, aynı taraf farklı lobta tümör nodül ya da nodülleri varlığı. |
| REGIONAL LENF NODLARI (N) | |
| NX | Bölgesel lenf nodlarının değerlendirilemiyor |
| N0 | Bölgesel lenf nodu tutulumu yok |
| N1 | Aynı taraf hiler, peribronşial, interlober, lobar, segmental, subsegmental lenf nodu tutulumu |
| N2 | Subkarinal ve/veya ipsilateral mediastinal lenf nodu tutulumu |
| N3 | Kontralateral mediastinal, ipsilateral ya da kontralateral skalen ve supraklaviküler lenf nodu tutulumu |
| UZAK METASTAZ (M) | |
| M0 | Uzak metastaz yok |
| M1 | Uzak metastaz var |
| M1a* | Malign plevral efüzyon, malign perikardiyal efüzyon, malign plevral nodüller, kontralateral akciğerde metastaz yapan tümörler |
| M1b | Uzak organ metastazı |

*Plevral ya da perikardiyal efüzyonun tekrarlanan sitolojik incelemelerinde tümör saptanamazsa, sıvı hemorajik ya da eksüdatif değilse, klinik durum malign plevral efüzyonu düşündürmüyorsa sıvı dikkate alınmadan evreleme yapılması önerildi.

Tablo 2.4. Yedinci TNM sistemine göre akciğer kanseri evrelemesi (WHO 2015)

| | Tümör | Lenf nodu | Metastaz |
|----------------|--------|-----------|----------|
| OKÜLT KARSİNOM | TX | N0 | M0 |
| EVRE 0 | Tis | N0 | M0 |
| EVRE IA | T1a,b | N0 | M0 |
| EVRE IB | T2a | N0 | M0 |
| EVRE IIA | T1a, b | N1 | M0 |
| | T2a | N1 | M0 |
| | T2b | N0 | M0 |
| EVRE IIB | T2b | N1 | M0 |
| | T3 | N0 | M0 |
| EVRE IIIA | T1, 2 | N2 | M0 |
| | T3 | N1, 2 | M0 |
| | T4 | N0,1 | M0 |
| EVRE IIIB | T4 | N2 | M0 |
| | Tüm T | N3 | M0 |
| EVRE IV | Tüm T | Tüm N | M1a, b |

Histolojik olarak ise lepidik pattern baskın tümörler grade 1, asiner veya papiller pattern baskın tümörler grade 2 ve solid ya da mikropapiller pattern baskın olan tümörler grade 3 olarak derecelendirilmiştir. Ancak WHO 2015 sınıflamasına göre, raporlarda grade belirtilmemektedir (29).

Bununla birlikte skuamöz hücreli karsinom ve adenoskuamöz hücreli karsinomların derecelendirilmesi için henüz yeterli bir bilgi ya da karar bulunmamaktadır (29).

2.11. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserin Tedavisi

Küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde tedavi temel olarak klinik evreye göre yapılırken, hastanın genel durumu ve akciğer fonksiyonu da göz önünde tutulmaktadır (72).

Hasta eğer sigara içiyorsa, ilk önce mutlaka sigarayı bırakması gerekmektedir (72).

2.11.1. Okkült Kanserin Tedavisi (T_xN₀M₀):

Okkült kanserde malign hücreler balgam sitolojisinde veya bronş lavajında görülürken, görüntüleme yöntemleri veya bronkoskopide tümör hücresi görülmez.

Fotodinamik tedavi, yüksek frekanslı elektrokoter tedavisi, kriyoterapi, laser ve brakiterapi yöntemleri kullanılabilir. Tüm bu yöntemler ile 5 yıllık yaşam %85 oranında olmasına rağmen, lokal nüks ve multipl tümör gelişimi riski nedeni ile her üç ayda bir bronkoskopik kontrol gereklidir (72).

2.11.2. Evre 0 KHDAK'lerinde Tedavi:

Bu evrede tümör 'in-situ' olduğu için tek başına cerrahi tedavi yeterlidir (72).

2.11.3. Evre 1 A-B KHDAK'lerinde Tedavi:

Standart tedavi cerrahidir. Cerrahi işlem sırasında mediastinal lenf bezi disseksiyonu yapılması önemlidir. Cerrahi işlem olarak lobektomi önerilmekle birlikte, ameliyatı tolere edemeyecek hastalarda segmentektomi ve wedge-rezeksiyon da yapılabilmektedir. Bu grupta radyoterapi ancak inoperabl olgulara yapılan bir yöntemdir. Tam bir cerrahi rezeksiyon sağlanmış ise postoperatif radyoterapiye gerek yoktur. Postoperatif kemoteratinin kullanımı standart değildir. Cerrahi sınır pozitifliği olan olgularda kemoterapi önerilmektedir (72, 73).

2.11.4. Evre II A-B KHDAK'lerinde Tedavi:

Standart tedavi cerrahidir ve lobektomi veya pnömonektomi ile birlikte mediastinal lenf nodu disseksiyonu yapılması önerilmektedir. Bazı vakalarda rezeksiyon öncesinde tümör boyutunu küçültmek amacı ile kemoterapi ve/veya kemoradyoterapi yapılmaktadır.

Postoperatif olarak ise, cerrahi sınır pozitif inkomplet rezeksiyonda veya kuşkulu olgularda adjuvan radyoterapi eklenmelidir. Postoperatif cerrahi sınırda tümör yok ise radyoterapiye gerek yoktur. Postoperatif adjuvan kemoterapi ise standart olarak önerilmemektedir (72).

2.11.5. Evre III A KHDAK'lerinde Tedavi:

Radyoterapi, kemoterapi ve cerrahi kombinasyonları kullanılır. Tolere edebilen hastalarda önce neoadjuvan kemoterapi (radyoterapi ile birlikte veya tek başına) verilir, daha sonra cerrahi rezeksiyon yapılır. Postoperatif olarak ise yine kemoterapi verilir (hasta daha önce almadıysa postoperatif radyoterapi de tedaviye eklenir). Cerrahiye tolere edemeyecek hastalarda ise genellikle radyoterapi uygulanır.

Kemoteröpatik ajan olarak sisplatin, etoposid, vinblastin, vinorelbin, pemetreksed, karboplatin ve paklitakselin uygun kombinasyonları kullanılır (72).

2.11.6. Evre III B KHDAK'lerinde Tedavi:

Bu evrede standart tedavi kemoradyoterapidir. Tolere edemeyecek hastalara ise tek başına radyoterapi (nadiren tek başına kemoterapi) uygulanır (72).

2.11.7. Evre IV KHDAK'lerinde Tedavi:

Bu evrede hastanın yaşam kalitesini düzeltmek, hastalıksız yaşam süresini uzatmak amacı ile kemoterapi yapılır. Beyin ve kemik metastazı olan olgulara palyatif lokal radyoterapi yapılır (74).

2.11.8. Kanserli Yayılmış Hastalarda Tedavi:

İlk tanı anında vücutta geniş yayılım gösterdiği saptanan ve hiç tedavi almamış hastalarda ilk önce EGFR, ALK veya ROS1 gen mutasyonları bakılır. Mutasyon pozitif olgularda;

ALK mutant olgulara crizotinib, ceritinib veya alectinib tedavisi verilir (74).

EGFR gen mutasyonu olan olgulara anti-EGFR ilaçlar olan erlotinib, gefitinib veya afatinib verilir (74).

ROS1 gen mutasyonu olgularda ALK inhibitörü olan crizotinib kullanılır (74).

2.12. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserlerinde Prognostik Faktörler

2.12.1. Tümörün TNM Evresi

Patolojik TNM evresi küçük hücreli dışı akciğer karsinomlu hastalarda en kuvvetli prognostik faktördür (75, 76). Birçok seride T evresi prognostik bir faktör olarak tanımlanmaktadır (77, 78) ve araştırmacılar tümör çapının 3 cm'den büyük ya da küçük olmasının survey açısından oldukça anlamlı olduğunu göstermişlerdir (79). Ayrıca tümör çapı (T) arttıkça, hastaların 5 yıllık yaşam ömründe anlamlı azalma bulunmuştur. Hatta aynı evrede fakat farklı çaplarda olan tümörlerde bile surveyin anlamlı olarak azaldığı belirtilmiştir (80).

Lenf nodu pozitifliği de hastanın prognozu açısından önemlidir. Hiler bölgedeki lenf nodlarında pozitiflik olması prognozu olumsuz yönde etkilemektedir (81). Pozitif lenf nodu sayısı da surveyi etkilemektedir; her iki grup da N1 olmasına karşın, hiler bölgede tek bir lenf nodu pozitifliği olan hastalar ile karşılaştırıldığında, multipl lenf nodu pozitif olan olgularda prognoz daha kötü bulunmuştur (82). Hiler bölgede pozitif lenf nodu olmayıp,

mediastinal lenf nodu tutulumu olan N2 durumlar 'skip metastaz' olarak adlandırılmaktadır (83). Sadece N2 hastalıkta, N1 ve N2 lenf nodu pozitifliği olan olgular ile karşılaştırıldığında prognozun daha iyi olduğu gözlenmiştir (83, 84). Hiç lenf nodu pozitifliği olmayan N0 hastalar ile mediastinal lenf nodu pozitif N2 hastalar karşılaştırıldığında ise, 3 yıllık yaşam ömrü N0 hastalarda %54 iken, N2 hastalarda %39 olarak bulunmuştur (85). Uzun dönem survey açısından bakıldığında ise en önemli prognostik faktör uzak metastaz veya aynı taraf tümörsüz akciğerde ayrı tümör nodüllerinin varlığı yani M1 hastalıktır (86).

2.12.2. Tümörün Derecesi ve Farklılaşması

Yapılan çalışmalarda tümörün 'grade'i ile hastanın yaşam ömrü arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. İyi diferansiye kanserli hastalar ile karşılaştırıldığında orta derece diferansiye kanserli hastalarda ölüm riskinin %40, az diferansiye kanserli hastalarda ise %70 oranında arttığı gösterilmiştir (87).

2.12.3. Tümörün Histolojik Tipi

Küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde tümörün histolojik alt tipi prognozu etkilemektedir. Çoğu çalışmada skuamöz hücreli olmayan histolojiler ile karşılaştırıldığında skuamöz hücreli tümörlerde artmış yaşam ömrü gösterilmiştir (88-90). Ancak histolojik subtipin survey açısından anlamlı olmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (91).

2.12.4. Anjiyogenez

Yeni damar oluşumu tümör büyüme ve metastazında önemli bir role sahiptir. Evre I-IIIa KHDAK'li 195 hastanın değerlendirmeye alındığı bir çalışmada tümör anjiyogenezinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan bir yöntem olan 'microvessel optical count (MVC)' ölçülmüştür ve MVC'nin prognoz açısından önemli bir faktör olduğu bulunmuştur (92). Benzer şekilde Avrupa Akciğer Kanseri Çalışma Grubu tarafından yayınlanan bir derlemede de yüksek MVC'nin istatistiksel olarak anlamlı bir olumsuz prognostik faktör olduğu bildirilmiştir (93).

2.12.5. Cinsiyet

Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde, cinsiyetin prognoz üzerine etkisi halen tartışmalıdır. Bazı araştırmalarda cinsiyet ile prognoz arasında fark bulunmamışken (75), bazı çalışmalarda ise kadınlarda yaşam ömrü %65 iken erkeklerde %32 olarak

bulunmuştur (78, 94). Cinsiyet farklılığında görülen bu anlamlı farkın, kadınlarda sigara içme alışkanlığının daha az agresif olması, pulmoner fonksiyonlarının genellikle daha iyi olması, kardiyovasküler hastalık insidanslarının daha düşük olması dolayısıyla tedaviyi daha iyi tolere edebilmeleri, daha erken evrede tanı alma eğiliminde olmaları ve daha küçük ameliyat prosedürüne (daha az pnömonektomi) gereksinim duymalarına bağlı olduğu düşünülmektedir (95).

2.12.6. Sigara İçiminin Kesilmesi

Retrospektif olarak yapılan değerlendirmelerde tanıdan sonra hastaların sigara içmeye devam etmesinin, tedavi ile elde edilen yanıtlarda düşmeye ve sağkalım sürelerinde azalmaya neden olduğu bildirilmektedir (96, 97).

Bu klinik gözlemin biyolojik temelini araştırdığı bir laboratuvar çalışmasında da tütün içeriğinin, hücre proliferasyonunda rol alan nükleer faktör kapp B yolağını uyarmak sureti ile bu etkiyi sağladığı gösterilmiştir (98).

2.12.7. CYPIA-1 Gen Pleomorfizmi:

CYPIA-1 geni sigara dumanında bulunan benzopirenlerin metabolik aktivasyonundan sorumludur. CYPIA-1 gen polimorfizmi taşıyan hastalarda tütün ile ilişkili akciğer kanserine duyarlılık önemli ölçüde artmaktadır. Ek olarak, duyarlı genotipin varlığının artmış nüks oranları ve kısa sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (99).

2.12.8. Rezeksiyonun Tipi

Rezeke edilebilir hastalarda rezeksiyonun boyutu arttıkça, post-operatif komplikasyonlar ve hastane mortalitesi anlamlı olarak artmaktadır (100). Pnömonektomi sonrası mortalite oranları çeşitli serilerde %6-12 arasında değişmekte iken, bu oran daha küçük rezeksiyon materyallerinde %1-7 olarak bildirilmiştir (101-104). Ancak wedge rezeksiyon ve segmental rezeksiyon gibi akciğer koruyucu cerrahilerde pnömonektomiler ile karşılaştırıldığında bölgesel rekürrens riskinde artış saptanmıştır (105). Tümü evre Ia olan 247 hastayı kapsayan bir çalışmada, sınırlı rezeksiyon yapılan hastalarda rekürrens oranının pnömonektomi yapılan hastalardan %75 oranında daha fazla olduğu görülmüştür (105).

2.12.9. İnkomplet Rezeksiyon

Hem rezidü makroskopik hastalık hem de mikroskopik cerrahi sınır pozitifliği önemli prognostik faktörler olup, mikroskopik cerrahi sınır pozitifliği olan olgularda radyoterapi veya kemoterapi uygulanması önerilmektedir. Pek çok çalışmada ek tedavi uygulanmış olmasına rağmen mikroskopik cerrahi sınır pozitifliğinin sağkalım üzerine negatif etkili güçlü bir prognostik faktör olduğu bildirilmiştir (106).

2.12.10. Karnofsky Performans Skoru ve Kilo Kaybı:

Karnofsky Performans Skoru (KPS) hastanın genel iyilik halinin değerlendirilmesi için kullanılan bir skorlama yöntemidir. Bu skora göre hasta tedaviye dayanabilir mi, doz ayarlaması ya da palyatif tedavi yapılmalı mı gibi durumlara karar verilir. KPS’de hastaya 0’dan 100’e kadar puan verilir; 100 puan çok iyi sağlığı, 0 puan ise ölümü belirtir. Bununla beraber skalada her 10 puanlık aralık bir duruma tekabül eder. Akciğer kanserli hastalar, hastalığın yayılımı ve son 6 aydaki kilo kaybının değerlendirilmesi ile skorlanır. Kilo kaybı olmayan ve hastalığı bir hemitoraksa sınırlı hastaların KPS skoru 100 olarak kabul edilir ve bu hastaların ortalama yaşam ömrü 72 ay, KPS’si 40-50 olan supraklaviküler hastalığı ve >%10 kilo kaybı olan hastalarda yaşam ömrü ortalama 68 ay olarak bulunmuştur (107).

Ayrıca farklı kilo kaybı tanımlamalarının prospektif olarak karşılaştırıldığı 388 akciğer kanserli hasta ile yapılan bir çalışmada, tüm kilo kaybı değişkenleri prognostik öneme sahip bulunurken, bunlar arasında total kilo kaybının (tanı anındaki kilo ile iyi durumdayken en son ölçülen kilo arasındaki farkın yüzde olarak ifadesi) en anlamlı faktör olduğu saptanmıştır (108).

2.13. Tümör İlişkili Makrofajlar ve Lenfositlerin Tümör Progresyonundaki Rolü

Yapılan araştırmalar ve çalışmalar, inflamasyon ile kanser arasında ilişki olduğunu göstermektedir. İnflamatuar mikroçevrenin tümör gelişimi ve ilerlemesinde etkili olduğu bulunmuştur. İnflamasyon ilişkili programın onkogenleri aktive ettiği ve bunun sonucunda inflamatuvar durumun kansere yol açtığı olduğu düşünülmektedir. Bu yolda ise transkripsiyon faktörleri, TGF- β gibi sitokinler ve kemokinler rol almaktadır (4).

Normalde tümörü infiltre eden immün hücrelerin büyük kısmını tümörü infiltre eden lenfositler (TIL) oluşturur. Geri kalanı ise tümör ilişkili makrofajlar (TAM), dendritik hücreler ve granülositlerden ibarettir. Tümör mikroçevresindeki bu hücrelerin bir kısmı immün aktivasyonu desteklerken, diğer kısmı inflamasyonu baskılama yönünde çalışırlar.

Bu hücrelerden immün sistemi baskılayıcı etki gösterenlere 'regülatör hücreler' denir (109).

Tümör mikroçevresinde bulunan CD4⁺ T hücre grubu naif iken, ortamdaki sitokin ve dendritik hücrelerinin etkisiyle 4 çeşit farklılaşma gösterebilir ve bu şekilde Th1 hücreleri, Th2 hücreleri, Th17⁺ hücreler ve regülatör Th (T-reg) hücrelerine dönüşebilirler (109).

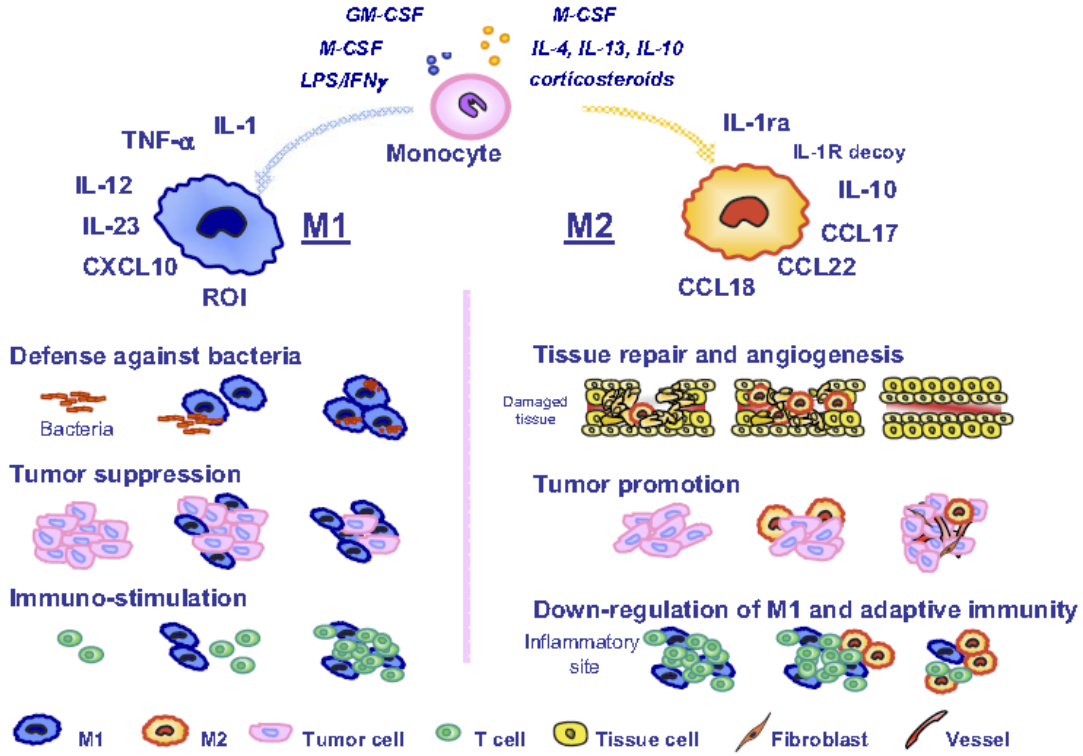
Th1 hücreleri, INF- γ salgısıyla makrofajı uyarır, kompleman sistemini aktive eder ve antikor izotip üretimini artırır. Bu özellikleri ile tümöre karşı savaşta en önemli yere sahip hücrelerden biridir. Th2 hücreleri, IL-10 ve IL-13 artışıyla Th1 aracılı immüniteyi baskırlar. Fizyolojik şartlarda Th1 ve Th2 sayısı belli bir dengede tutulmaktadır. Th17⁺ hücreler mukozal bariyerlerde aktif rol alırlar. T-reg hücreler ise TIL'in yaklaşık %20'lik kısmını oluştururlar. Fizyolojik ortamda görevleri inflamatuvar yanıtın kronikleşmesini önlemek veya otoimmüniteyi engellemek için immün sistem hücrelerini baskılamaktır. FOXP3 ekspresyonu, IL-10 ve TGF- β aracılığıyla IL-2 etkisini engeller ve dendritik hücrenin 'baskılayıcı' tipe dönüşmesine yol açarlar. Lökosit aktivasyon geni (LAG-3), PD1 ve sitotoksik T-lenfosit ilişkili antijen (CTLA4) üretimi de yapabilirler. CTLA4⁺ olanlar, aynı zamandaIDO salgılayarak T hücre gelişimini bozarlar (109, 110).

Makrofajlar kanda dolaşan monositlerden köken almaktadır. TGF- β , monositlerin makrofaja diferansiye olmalarında etkilidir (111).

Makrofajlar yüzeylerinde çok çeşitli hücre yüzey belirteçleri içerirler ve böylece hasarlı alanlardan hücre debrisinin uzaklaştırılması, mikropların uzaklaştırılması, T hücrelerine antijen sunumunda görev alıp, lenfosit aktivasyonunda da aksesuar hücreler olarak rol oynarlar. Doku homeostazisinin devamlılığında, inflamasyonun ortadan kaldırılmasında, yeniden şekillenme ve tamir sırasında kritik önemleri vardır (112).

Makrofajlar heterojenik davranışlar gösterip, içlerinde buldukları mikroçevrelere uyum sağlamak için fenotiplerini değiştirebilirler (makrofaj polarizasyonu) ve böylece dokularda M1 ve M2 olmak üzere 2 farklı makrofaj tipine diferansiye olabilirler (Şekil 2.4). M1 makrofajlar, lipopolisakkarit ve interferon γ gibi klasik aktivatörler ile aktive olarak bakterisidal ve antijen-sunucu hücre olarak görev yapıp, naif CD4⁺ T hücrelerinin Th1 efektör hücreler ve Th17 hücrelerine farklılaşmasını düzenlerler. Bunun aksine M2 makrofajlar ise alternatif yoldan IL-4, IL-10, IL-13 tarafından aktive olurlar ve CD4⁺ Th2 hücreleri ve T-reg farklılaşmasını düzenlerler.

Böylece M2 makrofajlar B hücrelerinden antikor sentezlenmesini etkinleştirirken, sitotoksik CD8⁺ T hücrelerini ise baskırlar. Bunun sonucunda ise mikroçevredeki CD4⁺/CD8⁺ T lenfosit oranında artmaya sebep olurlar (112).



Şekil 2.4. Makrofaj polarizasyonu

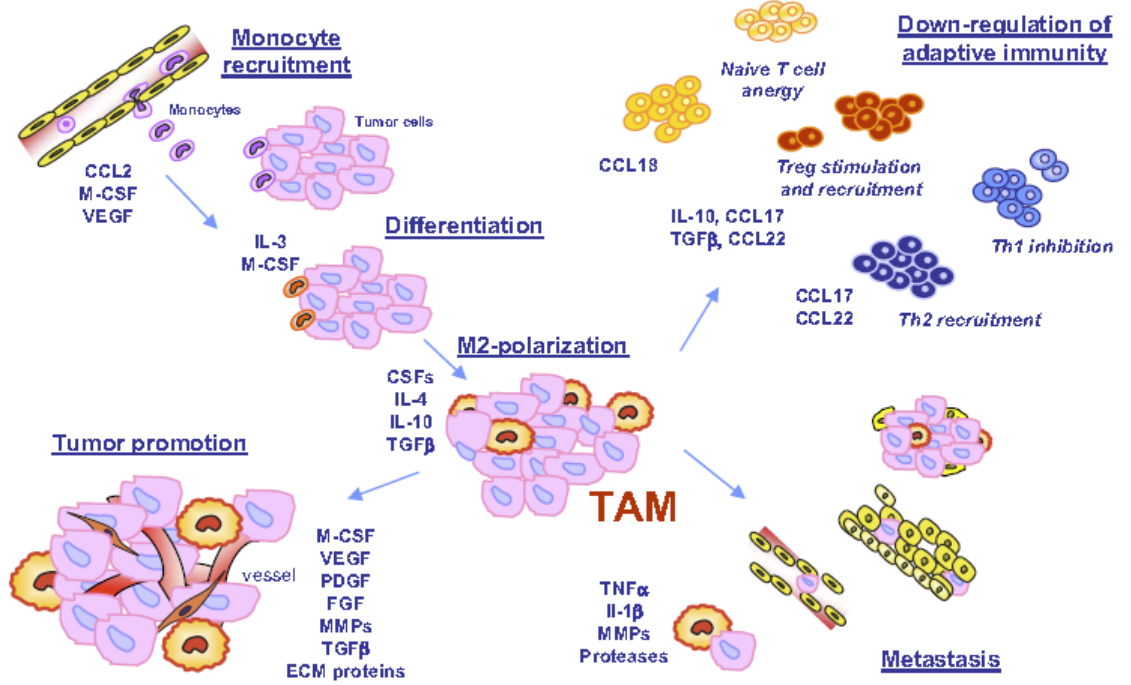
(J Leukoc Biol; 86 (5):1065-73,2009)

Tümör mikroçevresinde bulunan TAM'lar ise M2 fenotipinde makrofajlardır. Tümörde TAM'ların artışı sağlayan, tümör hücrelerinden salgılanan CSF-1, CCL 2-3-4-5-8, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), makrofaj inflamatuvar protein-1alfa (MIP-1 α), makrofaj migrasyon inhibitör faktör (MIF) gibi monosit kemoatraktanlarıdır. Bununla beraber TAM'lardan salgılanan çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler, inflamatuvar mediyatörler ve proteolitik enzimler, makrofajların tümör ilerlemede etkili olduğunu göstermiştir (Şekil 2.5) (111).

Tümör mikroçevresindeki bu TAM'ların rolü (Şekil 2.6):

İmmüsupresyon; TAM'lar çeşitli immünmodulator sitokinler ve büyüme faktörleri salgılayarak, konağın tümöre karşı olan immün yanıtını azaltırlar. Ayrıca TAM'lardan salgılanan bu maddeler ile sitotoksik T hücreler gibi anti-tümörojenik hücrelerin ortama gelmesini engeller, CCL17 ve CCL22 kemokin salgısı ile de T-reg ve Th2 hücreler gibi

immün yanıtı baskılayan hücrelerin ortama ulaşmasına katkıda bulunurlar ve diğer antijen sunan hücrelerde down-regülasyona sebep olurlar (112).



Şekil 2.5. TAM'ların hücre üzerine etkileri

(J Leukoc Biol; 86 (5):1065-73,2009)

Metastaz: Tümör hücreleri, primer tümör alanını terk etmeden önce ortama çeşitli soluble faktörler salgırlar. Daha sonra bu soluble maddelerin öncülük etmesi ile ekim yoluyla metastaz yaparlar. Ayrıca primer tümör alanında TAM'lar bazal membranı bozan ve tümör hücrelerini hareketlendiren proteazlar üretirler. Böylece tümör hücreleri bazal membranı aşır, hematojen ve lenfatik sisteme girebilir hale gelirler (112).

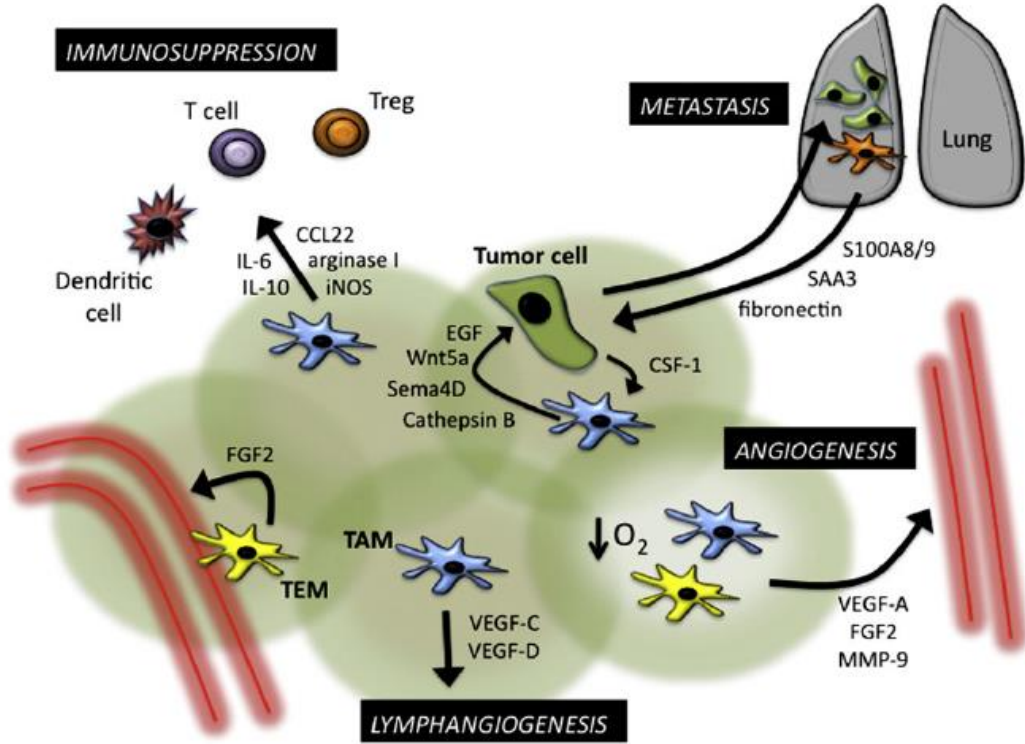
Anjiogenezis: Tümör kitlesindeki düşük oksijen basıncı ya da hipoksi sonucu salınan inflamatuvar moleküllerin etkisi ile TAM'lar ortama gelirler ve VEGF, fosforilaz ve ürokinaz plazminojen aktivatör gibi birçok anjiogenik faktörler salgırlar. Bu moleküller de endotel hücrelerinin çoğalmasını, migrasyonunu ve yeni damarlara farklılaşmasını sağlarlar (112).

Yine TAM'lardan salınan temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), transforming büyüme faktörü (TGF α ve β) de tümör hücrelerinde büyümeyi tetikler ve endotelde stimülasyona neden olarak tümör vaskülaritesini artırır. Bu

anjiogenik dönüşüm kanser progresyonunda önemli bir basamaktır (111). Çünkü vaskülarizasyon olmadığı takdirde tümör, 2-3 mm³ hacminden daha fazla büyüyemez veya metastaz yapamaz. Sonuçta yeni kan damarlarının oluşumu, tümör hücrelerinin büyümeleri için ihtiyaçları olan besin ve oksijene ulaşmalarını sağlamaktadır (113).

Lenfanjiogenezis: TAM'lar, özelleşmiş endotel hücrelerinden lenfatiklerin oluşmasını başlatan VEGF-C ve VEGF-D gibi büyüme faktörlerini salgırlarlar (112).

Solid organ tümörleri üzerinde yapılan çoğu çalışmada, yüksek yoğunlukta TAM içeren tümörlerin daha ileri evrede oldukları, daha sık metastaz yaptıkları bulunmuştur (114). Ayrıca yapılan çalışmalarda küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde, TAM'ların tümör dokusunda fazlaca bulunmalarının kötü prognostik faktör olduğu gösterilmiştir (115).



Şekil 2.6. Tümör mikroçevresindeki makrofajların fonksiyonu

(Biochimica et Acta 1796: 11-18, 2009)

2.14. Kullanılan İmmünohistokimyasal Belirteçler Hakkında Bilgiler

2.14.1. CD68

Monosit ve makrofajların sitoplazmasında yerleşim gösteren, lizozomlardan salınan bir glikoproteindir. Monoklonal KP1 ve PG-M1 klonlarına ait CD68 antikoru sadece

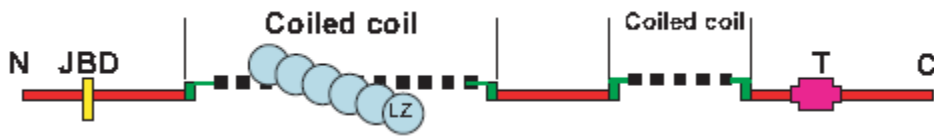
monosit/makrofajlar ile reaksiyona girer. Araştırma ve çalışmalarda doku makrofajlarını işaretlemek için kullanılmaktadır (116).

2.14.2. Sperm İlişkili Antijen 9 (SPAG 9)

Kanser testis antijenleri (KTA), normalde sadece testisin germ hücrelerinde eksprese edilen özgün tümör antijen sınıfıdır, fakat birçok malignitede de artmış ekspresyonları gösterilmiştir (117). KTA'ler kanser hastalarında spontan humoral ve hücresele yanıtı oluşturmaktadırlar (118). Ayrıca KTA'lerinin birçok malignitede aberan ekspresyonlarının, immortalite, migrasyon, invazyon ve metastatik kapasite gibi tümörün malign özellikleri ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (117).

SPAG9 ise KTA ailesinin yeni bir üyesidir. Normal dokuda SPAG9 sadece sperimin yüzeyinde lokalizedir ve spermatogenez sırasında haploid germ hücrelerinde eksprese edilir. İntersellüler Ca^{+2} ve pH artışı ve birçok proteinin tirozin fosforilasyonu ile karakterize olan sperm-yumurta birleşimine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Son zamanlarda da birçok kanserli dokuda artmış ekspresyonu bulunması sebebi ile SPAG9'un kanserdeki rolü araştırılmaktadır (117).

Transmembran bir protein olan SPAG9 proteini 84 kDa ağırlığında olup 766 aminoasitten meydana gelmekte ve 3 bölgeden oluşmaktadır: JNK bağlanma bölgesi, birbirlerine bağlanmış lösin zincirinden oluşan bölge ve transmembran bölgesi (şekil 2.7). SPAG 9 bu yapısı sebebi ile JNK-sinyal kaskadı ile ilişkili olup JNK'lara bağlanmada 'yapıtışı protein' olarak görev almaktadır. Böylece hücre yaşamı, proliferasyon, apoptozis ve tümör gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır (6).



Şekil 2.7. SPAG9'un şematik resmi

(Keio J Med 54(2): 66-71, 2005)

Somatik hücrelerde tirozin fosforilasyonunun indüksiyonu sonucunda MAPK gibi kinazları içeren bir dizi hedefte aktivasyon gerçekleşmektedir. Serin/treonin kinazlar grubundan olan MAPK ailesi, sinyal iletiminde odak nokta olup; büyüme, adezyon, sekresyon ve diğer fizyolojik olayların regülasyonunda görev alır ve hücre büyümesi, farklılaşması ve apoptozis gibi kritik yolları düzenlemektedirler. MAPK'ler

ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz (ERK), c-JUN NH₂-terminal kinaz (JNK) ve p38 MAPK olmak üzere 3 gruba ayrılır. Farklı sinyaller için MAPK kinazların yapısal organizasyonu 'JNK interacting protein (JIP)' gibi farklı kinazlara sıkıca yapışmış olan yapıtaş proteinler ile düzenlenmektedir (6). 'Yapıtaş proteinler'sinyal amplitüdü ve süresini düzenleyerek 'mitojen-activated protein kinazların (MAPK)' sinyallerini kontrol ederler (119).

Son zamanlarda tanımlanan bir JNK yapıtaş proteini olan 'JNK- associated Leucine Zipper Protein (JLP)', MAPK'ları ve onların hedef transkripsiyon faktörlerini biraraya getirip spesifik sinyal yollarını düzenlemektedir. JIP4 ve SPAG9 adında 2 farklı JLP varyantı tanımlanmıştır; her ikisinin de 3' exon bölgeleri aynı iken, 5' exon bölgeleri farklılık göstermekte ve farklı dokularda eksprese olmaktadır. JIP4, JNK'lar ile etkileştiği gibi p38 MAPK yolağını da aktive etmektedir ancak SPAG9, MAPK'ların JNK altgrupları ile etkileşirken, p38 MAPK ile etkileşmemektedir (119).

Aslında JNK'ların yapıtaş proteinler ile etkileşimlerinin fonksiyonları tam olarak anlaşılabilmiş değildir ancak çeşitli fizyolojik olaylardaki JNK sinyal yolağında önemli oldukları düşünülmektedir. Örneğin SPAG9, JNK'lara, üzerinde bulunan 'JNK binding domain (JBD)' ile bağlanır ve bu bölge JIP1, JIP2 ve JIP3'ün JBD'leri ile anlamlı dizi benzerlikleri göstermektedir (119). Önceki çalışmalarda da JBD'si olmayan SPAG9'un JNK yolağına giremediği gösterilmiştir ki bu da SPAG9'un JBD'sinin JNK etkileşimini sağladığını göstermektedir. Yani sonuç olarak SPAG9 geninin kodladığı protein, spesifik sinyal yollarının aktivasyonunda MAPK'ları ve onların transkripsiyon faktörlerini bir araya getirmede görev alan bir yapıtaş proteindir (6). Ayrıca JNK'lar ekstrinsik ve intrinsik apoptotik yolda kritik role sahiptirler. JNK'lar pro-apoptotik genlerde artış sağlayarak apoptotik sinyali aktive ederler. Bunu da ya spesifik transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu yolu ile ya da direkt olarak mitokondriyal pro ve anti- apoptotik proteinleri fosforilasyon ile düzenleyerek sağlarlar (120).

SPAG9'un ilk önce epitelyal over kanserinde potansiyel bir immünoterapi hedefi olduğu gösterilmiştir (117). Daha sonra ise renal hücreli karsinom, meme, tiroid, serviks, kolon ve akciğer kanserleri gibi diğer birçok kanser tipinde de SPAG9 overekspresyonu gösterilmiştir. Ayrıca farklı kanser türlerinde 'small interfering RNA (siRNA) kullanılarak SPAG9'un baskılanması sonucunda hücre proliferasyonu, hücrelerin koloni oluşturma

yeteneği, hücre sel migrasyon ve invazyon kapasitesinde anlamlı azalma olduğu ve tümör büyümesinin inhibe olduğu görülmüştür (121).

Metastaz, metastaz yapacak olan hücrelerin primer tümör kitlesinden ayrılması, ekstrasellüler matriks (ECM) yoluyla migrasyon yapması ve çevre alanlara kolonizasyonu içeren çok basamaklı bir olaydır. Bu süreçte ise metastaz için temel olan iki basamak hücre motilitesi ve invazyondur. Kanser invazyonu ve metastazında anahtar faktörlerden biri ECM'ye kanser hücrelerinin saldırması ve bunun sonucunda ECM'nin yapısının bozularak tümör hücrelerinin migrasyonuna izin vermesidir. Matriks metalloproteinazların (MMP) bu süreçte önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. SPAG9 ekspresyonunun baskılanması ile de, MMP'lerin negatif düzenleyicileri olan metalloproteinaz doku inhibitörü (TIMP) 1 ve 2'nin up-regülasyonu sonucunda kanser hücrelerinde MMP-2 ve MMP-9 aktivitesi anlamlı şekilde inhibe olmuştur ve bu da azalmış hücre motilitesi ve invazyon yeteneği ile sonuçlanmıştır (117).

Solid tümörlerin büyümesi için temel ihtiyaçları angiyojenezistir. VEGF tümör anjiyojenezisinde anahtar mediyatördür ve tümörlerin progresyonunda kan dolaşımını sağlamada görev almaktadır. VEGF mitojenik aktivitesini esas olarak endotel hücreleri üzerinden göstermekte, VEGF'ye yanıt olarak da endotel hücreleri aktif, proliferatif bir duruma geçmektedir. SPAG9 ekspresyonu JNK sinyal yolağında VEGF promoter bölgesinde c-Jun fosforilasyonunu indükleyerek VEGF'yi aktive etmektedir. Yapılan çalışmalarda SPAG9'un baskılanması sonrası, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında endotel hücrelerinin proliferasyonunda azalma saptanmıştır ki bu da tümör hücrelerinin anjiyogenik potansiyelini anlamlı olarak baskılamıştır. SPAG9 azalması ile de VEGF sekresyonunun azalması, SPAG9'un VEGF aktivitesini regüle ederek kan damarı oluşumunu baskıladığını göstermektedir (117).

Yapılan başka bir çalışmada ise, mesanenin transizyonel hücreli karsinomunda, tümör hücrelerinde eksprese edildiği gösterilen SPAG9'un baskılanması sonucunda, G2-M fazındaki hücre sayısının belirgin olarak azaldığı ve G0-G1 fazındaki hücre sayısının ise belirgin olarak arttığı görülmüştür. SPAG9'un baskılanması sonucu hücrelerin G0-G1 fazında durdurulmasının yanısıra, p21 ve p16 gibi CDK inhibitörlerinde de anlamlı bir artma olduğu gözlenmiştir. Zaten p21 ve p16 gibi CDK inhibitörlerinin miktarında artma, cyclin D, cyclin E, cyclin B, CDK1 ve CDK4'ün miktarında azalma ile ilişkilidir. Bütün bunlar birlikte değerlendirildiğinde sonuçta SPAG9 proteininin baskılanması, tümör

hücrelerinde G0-G1 büyümesinde duraklamaya sebep olarak hücresel proliferasyonu ve hücre döngüsünü inhibe etmektedir (118).

2.14.3. CD4 ve CD8

CD4 ve CD8, diğerlerinden tamamen farklı ve ayrı fonksiyonları olan T hücre gruplarının membranlarının yüzeylerinde eksprese edilen glikoproteinlerdir (122).

CD4 antijen tanınması sırasında HLA Class II ile etkileşir ve T hücrelerinin yardımcı alt tiplerini tanımlar. CD4 antijenleri T hücreleri, monositler, makrofajlar, Langerhans hücreleri ve diğer dendritik hücrelerde eksprese edilirken, B hücrelerinde eksprese edilmezler. CD8 antijeni ise T hücrelerinin supresör/sitotoksik alt tipini tanımlar ve sitotoksik T hücreleri, NK hücrelerinin bir kısmı gibi sitotoksik aktivitesi olan hücrelerde eksprese edilirler (122).

2.14.4. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

VEGF, 6. Kromozomda lokalize gen ile kodlanan (6p21), 45 kDa ağırlığında heparin bağlayan bir glikoproteindir. Tirozin kinaz aktivitesi olan reseptörlere bağlanarak etki etmektedir (123).

Solid tümörlerin büyümesi ve metastaz yapabilmesi için anjiogenezise ihtiyaç vardır (124, 125) ve anjiogenezis tümör hücreleri tarafından üretilen anjiogenetik faktörler ile düzenlenmektedir (126-129). Anjiogenetik faktörlerden en potenti ‘VEGF’dir. VEGF gen ekspresyonu vaskülarizasyonun derecesi ve tümörün prognozu ile yakından ilişkilidir, VEGF ekspresyonunun inhibisyonu tümör büyümesinde baskılanma ile sonuçlanır (130).

VEGF'nin primer hedef hücreleri vasküler endotel hücreleridir ve endotel hücreleri üzerinde kuvvetli mitojenik etkisi vardır. VEGF, hem anjiogenik hem de vaskülojenik süreç üzerinden, herhangi bir damarda normal veya patolojik büyümeyi düzenlemektedir (131, 132).

VEGF anjiogenezin her evresinde etkilidir, proteolitik enzimlerin (matriks metalloproteazlar, plazminojen aktivatör) sekresyon ve aktivasyonunu stimüle eder böylece endotel hücrelerinin proliferasyon ve migrasyonu ile tübüler yapılar oluşturmalarını kolaylaştıracak şekilde ekstrasellüler matriksin bozulmasını indükler (133). VEGF overekspresyonu over kanseri, melanom ve gastrik kanser gibi birçok kanserde kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (134-136).

Bununla birlikte birçok çalışmada da yüksek VEGF ekspresyonu ve yüksek anjiogenik aktivite KHDAK'lerinin yaklaşık %30-40'ında tesbit edilmiştir. Yüksek VEGF ekspresyonunun akciğer kanserlerinde total yaşam ömrü ve hastalıksız sağkalımda belirgin olarak negatif bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir (123).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olguların Genel Özellikleri

Bu çalışmada, Ocak 2011 ile Mayıs 2016 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı arşivi kullanılarak, KHDAK tanısı alan olgular yeniden gözden geçirildi ve çalışmaya düzenli klinik takibi olan 80 olgu dahil edildi. Her olgunun dosyasından takip süresi, hayatta kalma süresi, klinik takip bilgileri (PA AC grafisi, PET taraması ve MR tetkik sonuçları, preoperatif ve postoperatif tedavileri) araştırıldı. Çalışmaya Hastane Klinik Araştırmalar ve Etik Kurulu onayı alındıktan sonra başlandı.

3.2. Hemotoksilen & Eozin Boyalı Kesitlerin Değerlendirilmesi

Her olgunun H&E boyalı preparatlarının tamamı yeniden değerlendirilerek, olguların tümü 'American Joint Committee on Cancer (AJCC)' tarafından 2015 yılında modifiye edilen TNM sistemi ve patolojik evrelendirilmesine göre yeniden evrelendirildi. Skuamöz hücreli karsinom histolojik tipindeki tümörler iyi-orta-az diferansiye ve adenokarsinom histolojik tipindeki tümörler asiner, lepidik, solid, papiller baskın patternlerine göre sınıflandırıldı.

Ayrıca ameliyatın şekli, cerrahi sınırların durumu, plevra tutulumu, lenfovasküler invazyon varlığı yeniden değerlendirildi. Lenf nodu disseksiyonu yapılan olgularda lenf nodlarına ait H&E boyalı preparatların tamamı tekrar incelenerek lenf nodu metastazları yeniden değerlendirildi.

3.3. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemleri

Her bir olgu için tümör histolojik tipini en iyi temsil eden ve komşu normal akciğer dokusunu da içeren parafin bloklardan poly-l-lysine ile kaplı lamlara 3 µ kalınlığında kesitler alındı. Hazırlanan kesitler 60°'lik etüvde 60 dakika bekletildikten sonra ksilolde deparafinize, alkolde rehidrate ve distile suda hidrate edilmiştir. İnkübe edilmeden önce antijenin geri kazanılması için 'antigen retrieval' işlemi uygulanmıştır. Bunun için 10mM ve pH8.0 olarak hazırlanan EDTA tampon solüsyonu hazırlanmıştır. Kesitler sıvı seviyesi lamları örtecek şekilde hazırlanan EDTA tampon solüsyonuna yerleştirilip 'DAKO, PT link, Denmark' cihazında 20 dakika kaynatılmıştır. EDTA solüsyonunun soğuması için oda sıcaklığında 20 dakika beklendikten sonra kesitler fosfatlanmış tamponlu tuz solüsyonunda (phosphate buffer salina-PBS) yıkandı.

İmmünohistokimyasal boyama işlemi 'DAKO Autostainer Link 48, Denmark' cihazında otomatik olarak yapılmıştır. Yıkama işleminin ardından; kullanıma hazır anti human CD68 antikoru (monoklonal mouse, clone KP1, DAKO) antikoru oda ısısında 30 dakika, anti human CD4 antikoru (monoklonal mouse, clone 4B12, DAKO) ve anti human CD8 antikoru (monoklonal mouse, clone C8/144B, DAKO) oda ısısında 20 dakika uygulanmıştır. Konsantre anti human 'vascular endothelial growth factor (monoklonal mouse, clone VG1, DAKO) antikoru' 1: 20 oranında dilüe edilerek oda ısısında 30 dakika uygulandı. Konsantre JLP (SPAG9) (polyclonal rabbit, GeneTex) antikoru ise 1: 20 oranında dilüe edilerek 30 dakika uygulandı. Daha sonra primer antikorla muamele edilmiş camlara FLEX/HRP solüsyonları damlatılarak 20 dakika inkübe edildi. Kesitlere kromojen solüsyonu olan Envision FLEX DAB+ çalışma solüsyonu damlatılıp oda ısısında 10 dakika bekletildikten sonra distile su ile yıkandı. En son basamakta hematoksilin ile 5 dakika zıt boyama yapıp alkol, ksilen aşamalarından geçirilerek kapama işlemi gerçekleştirildi.

3.4. İmmünohistokimyasal Olarak Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi

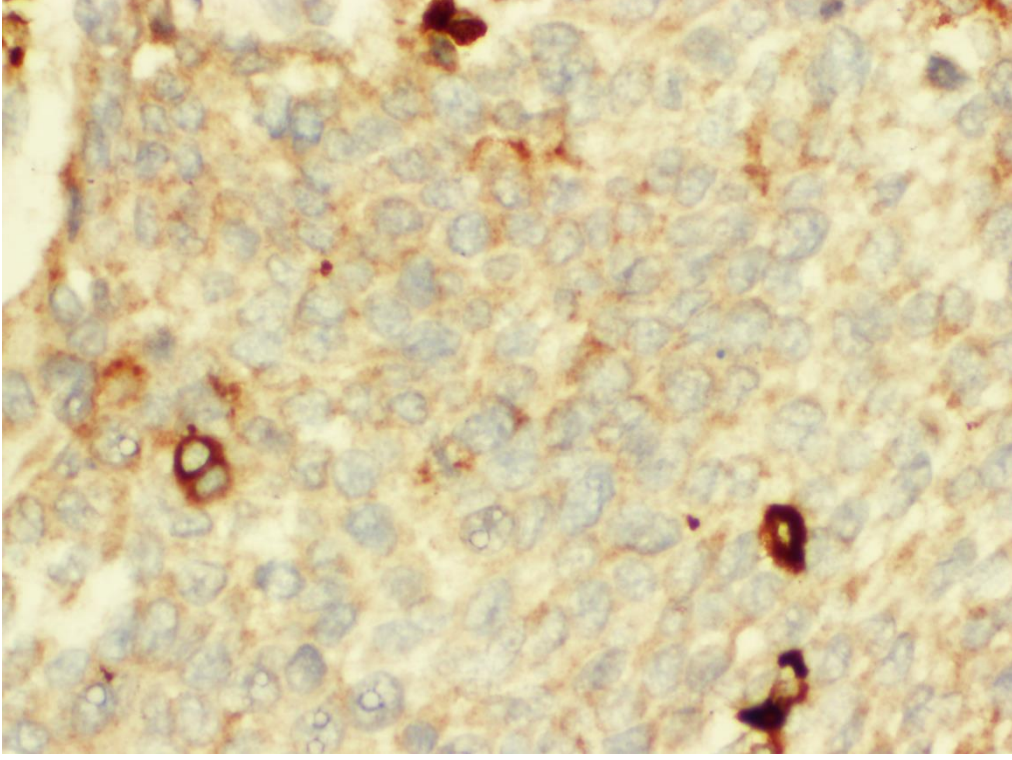
3.4.1. CD68 Pozitif Tümör İlişkili Makrofaj (TAM) Sayısının Değerlendirilmesi

CD68 monoklonal antikoru ile tümör içindeki makrofajların varlığı araştırıldı. CD68 ile boyanan makrofajlar x400 orijinal büyütmede ve en yüksek 3 alanda sayılarak ortalama değerler bulunarak 3 skor altında değerlendirildi:

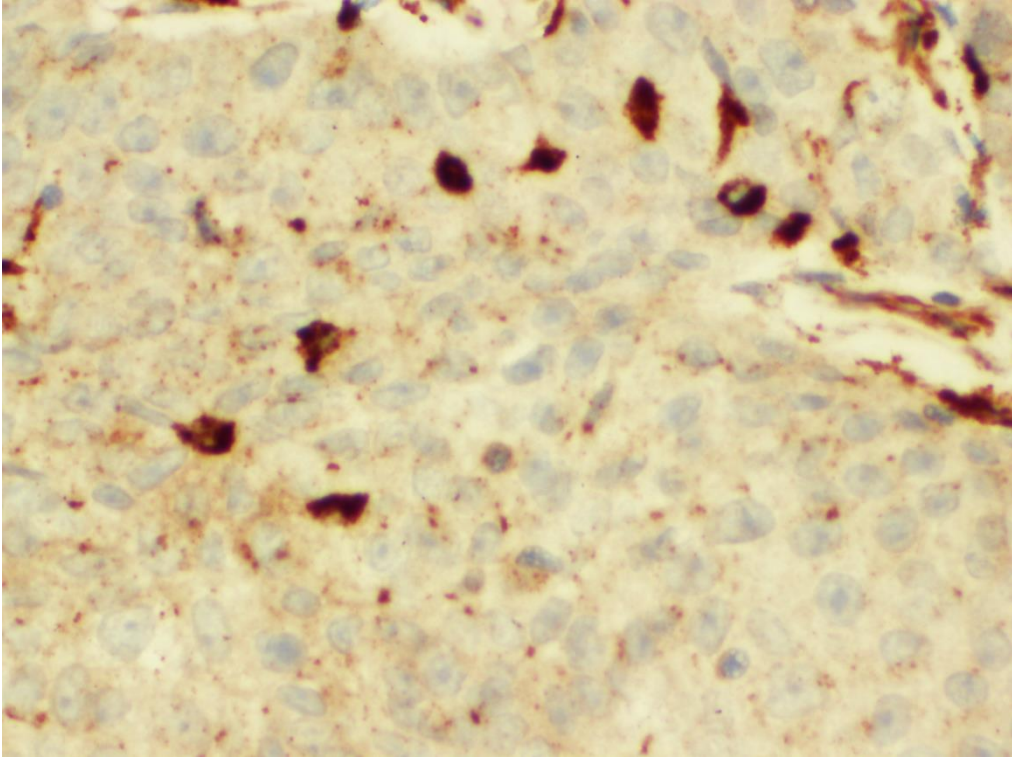
Skor 1: CD68 boyalı makrofaj sayısı 0-5 arasında (Resim 3.1.)

Skor 2: CD68 boyalı makrofaj sayısı 5-15 arasında (Resim 3.2.)

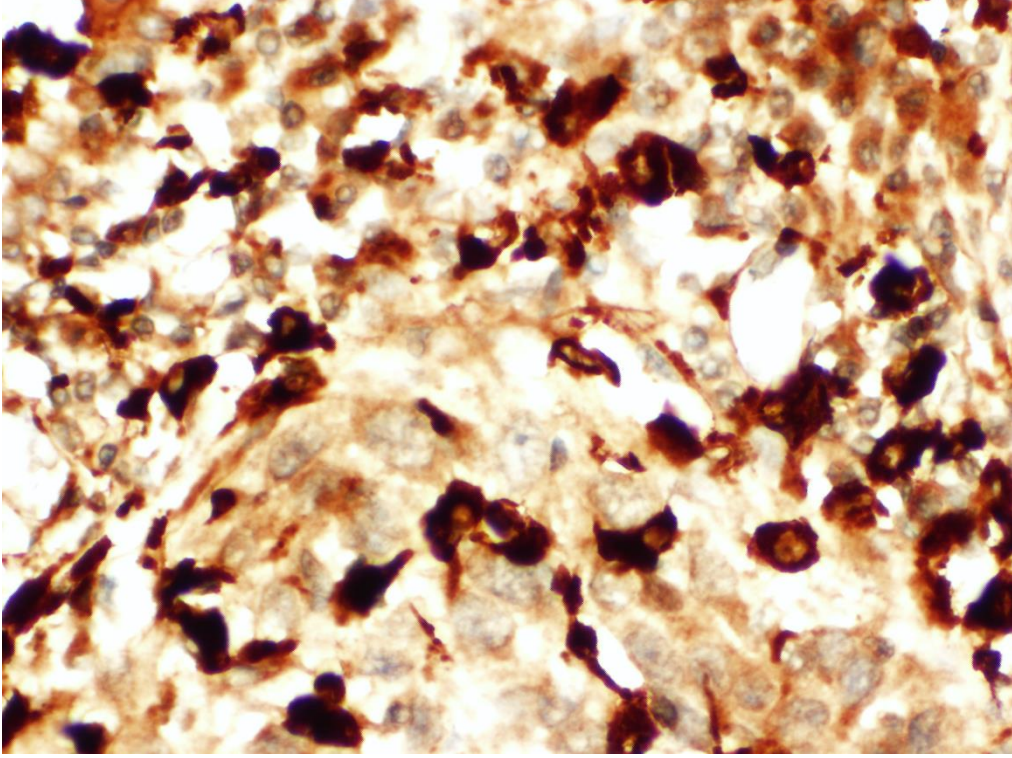
Skor 3: CD68 boyalı makrofaj sayısı 15'den fazla (Resim 3.3.)



Resim 3.1. CD68 antikoru ile skor 1 TAM yoğunluğu (x400 büyütme)



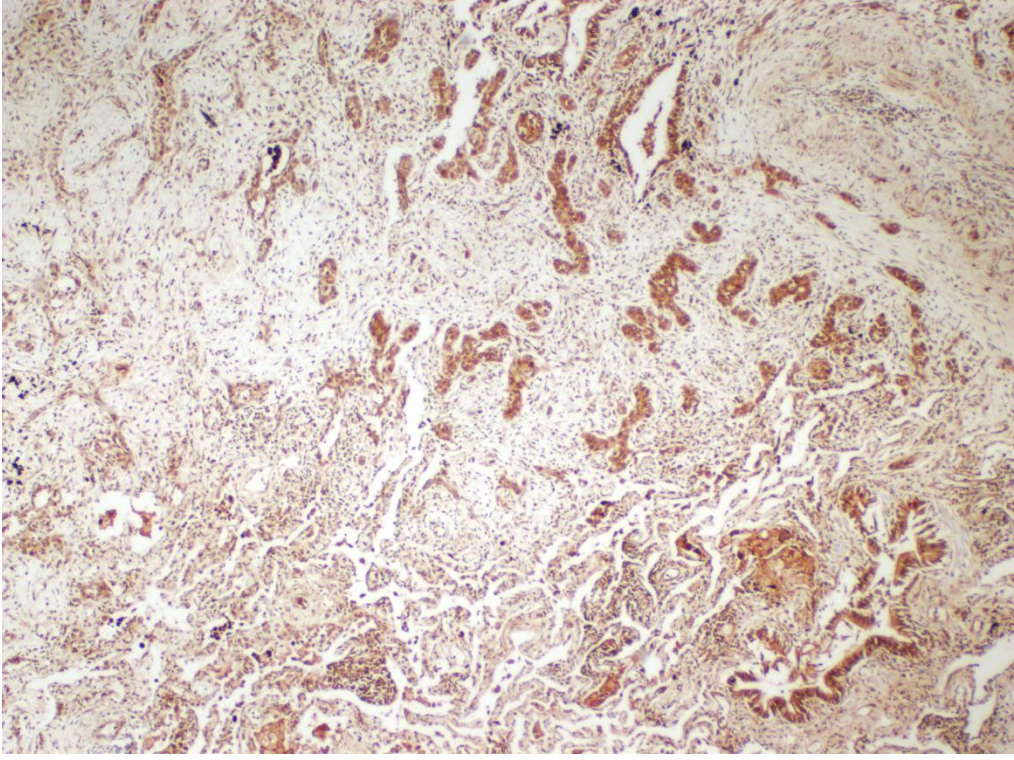
Resim 3.2. CD68 antikoru ile skor 2 TAM yoğunluğu (x400 büyütme)



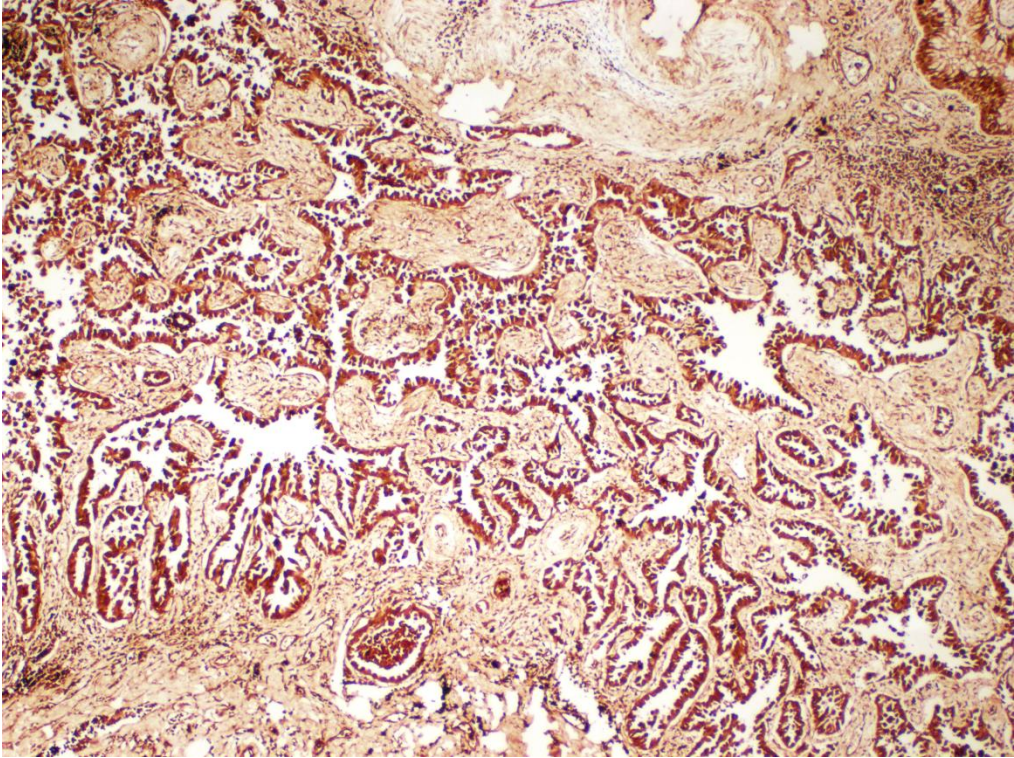
Resim 3.3. CD68 antikoruna ile skor 3 TAM yoğunluğu (x400 büyütme)

3.4.2. SPAG9 ile Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi

SPAG9 antikorunun, tümör hücrelerinde sitoplazmik ekspresyonu izlendi. Her vaka boyanma yoğunluğuna ve boyanma alanına göre puanlandı. En az 5 büyük büyütme alanında 500 hücre sayıldı. Boyanma yoğunluğuna göre hücreler; 0: boyanma yok, 1+: hafif boyanma, 2+: orta boyanma ve 3+: kuvvetli boyanma olarak puanlandı. Boyanma alanına göre ise; 0:mikroskoptaki hiçbir alandaki hücrede boyanma yok, 1+:dokunun <%30'unda boyanma var, 2+:dokunun %30-60'ında boyanma var ve %60< 3+ pozitif boyanma şeklinde puanlandı. Her bir vaka için bu iki değer toplandıktan sonra (boyanma yoğunluğu+boyanma alanı) 0-6 arasında değerler elde edildi. Toplam skor ≤ 3 olan olgular nihai sonuç 1+ (düşük SPAG9 ekspresyonu) (Şekil 3.4), skor $4 \leq$ olan olgular nihai sonuç 2+ (yüksek SPAG9 ekspresyonu) (Şekil 3.5) olarak değerlendirildi.



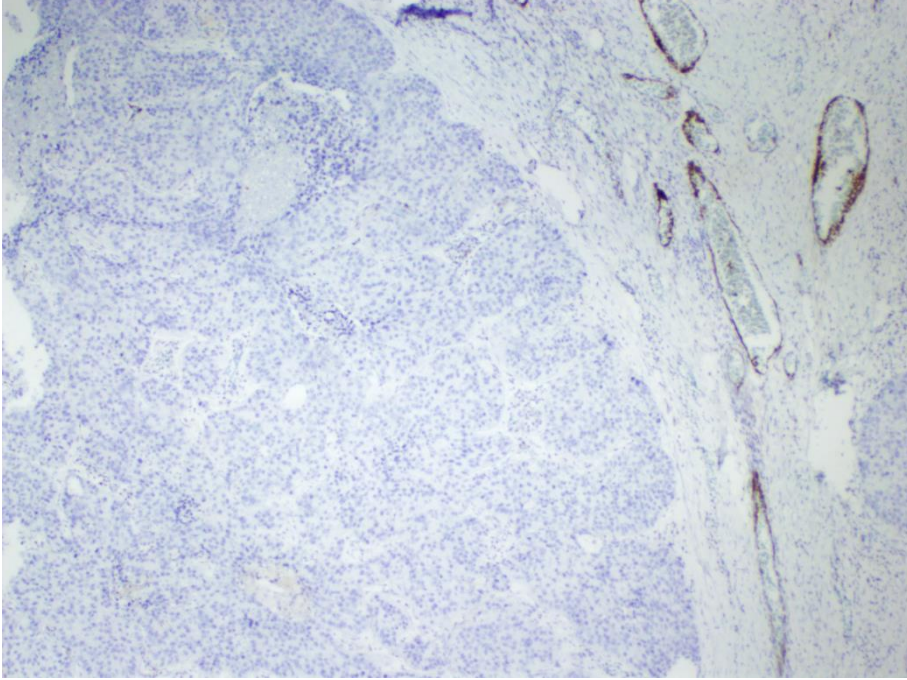
Resim 3.4. Düşük SPAG9 ekspresyonu (x40 büyütme)



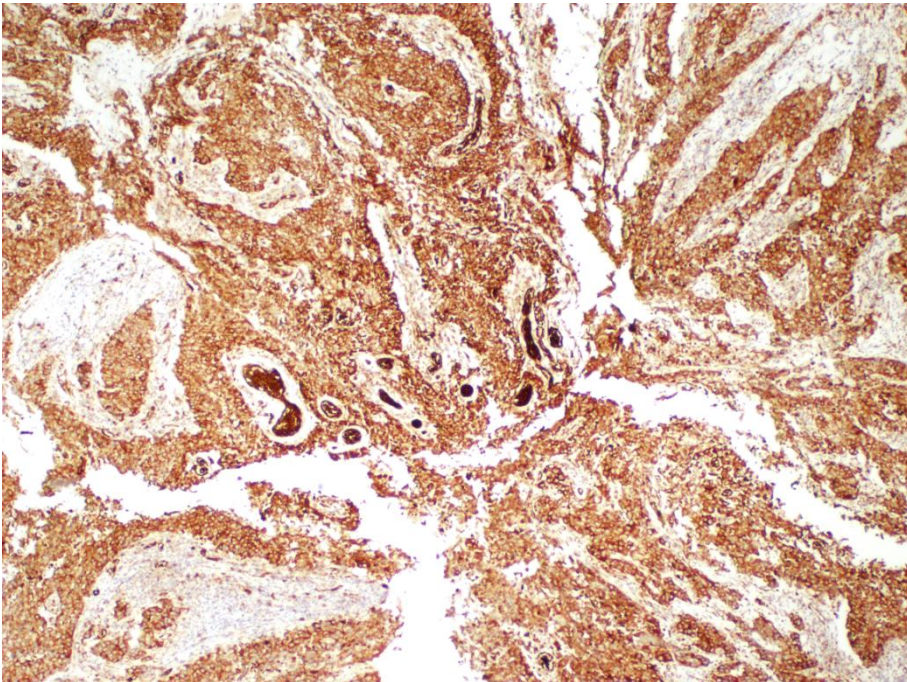
Resim 3.5. Yüksek SPAG9 ekspresyonu (x40 büyütme)

3.4.3. VEGF Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi

VEGF vasküler endotel hücresini boyamaktadır. Tümördeki bariz sitoplazmik (ve/veya membranöz) boyanmalar pozitif kabul edildi. Hastalar tümör alanlarında VEGF antikoru ile boyanıp boyanmamalarına göre 2 gruba ayrıldı ve boyanma izlenen hastalar 1+, boyanma izlenmeyen hastalar 0 olarak değerlendirildi.



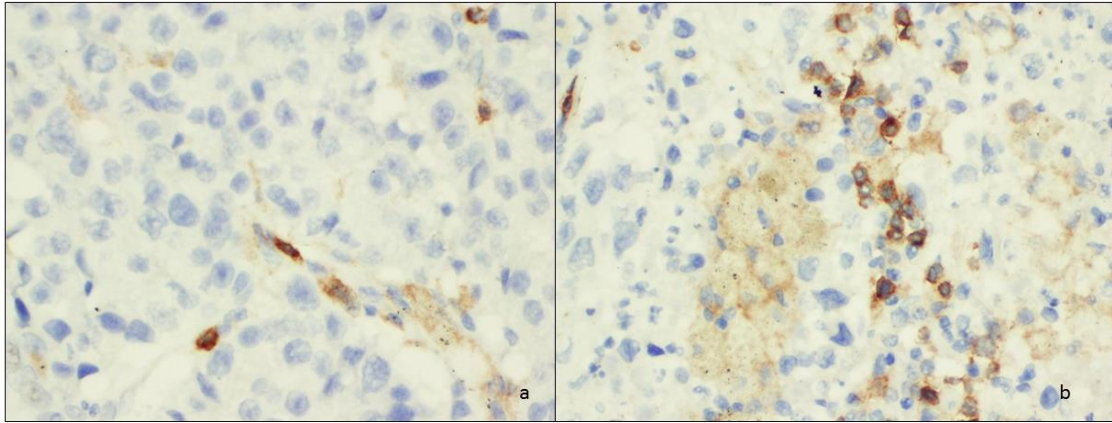
Resim 3.6. VEGF negatif tümör alanı (x40 büyütme)



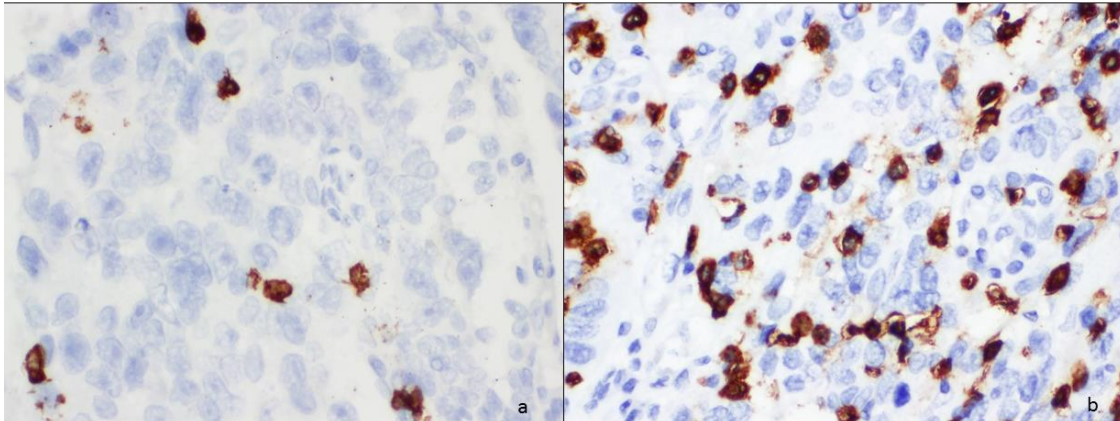
Resim 3.7. VEGF pozitif tümör alanı (x40 büyütme)

3.4.4. CD4 ve CD8 Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi

CD4 ve CD8 sırasıyla yardımcı T hücreleri ve sitotoksik T hücrelerinin yüzeylerinde eksprese edilmektedir. Kesitlerde tümör dokusunda, tümör her iki antikor için de membranöz boyanmalar pozitif olarak kabul edildi. En büyük büyütmede (x400) değerlendirilen kesitlerde, boyanmanın en yoğun olduğu alanlarda pozitif boyanan hücre sayısının çekirdekli hücre sayısına oranı yüzde olarak verildi. Hastalar, boyanma yüzdeleri ≤ 5 ve $5 <$ olmak üzere iki gruba ayrılarak değerlendirildi (Resim 3.8 ve resim 3.9).



Resim 3.8. a-CD4 \leq 5 boyanma, b-CD4 $>$ 5 boyanma (x40 büyütme)



Resim 3.9. a-CD8 \leq 5 boyanma, b-CD8 $>$ 5 boyanma (x40 büyütme)

3.5. İstatiksel Analiz

Verilerin istatiksel analizleri 'Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)' for Windows yazılımı, version 15.0, SPSS INC, Chicago, IL, USA ile yapılmıştır. Gruplanabilen klinikopatolojik verilerin birbirleri ve immünohistokimyasal veriler ile karşılaştırılmasında Ki-kare testi, ortalama değerler ile diğer klinikopatolojik verilerin

karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi (iki grup arasındaki karşılaştırma) ve Kruskal Wallis testi (ikiden fazla grup arasındaki karşılaştırma) kullanılmıştır. Kantitatif değişkenler için değerler ortalama \pm standart sapma olarak verildi. İmmünohistokimyasal verilerin birbiri ile karşılaştırılması ‘Spearman’s rho’ korelasyon testi ile yapıldı. ‘p’ değeri 0,05’in altındaki değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Hastaların sağkalım hızları Kaplan-Meier sağkalım analizi kullanılarak verildi.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Parametrelerin Sonuçları

Çalışmamızda incelenen KHDAK'li 80 hastanın 9'u (%11,3) kadın ve 71'i (%88,8) erkektir. Hastaların ortalama yaşları $63,46 \pm 9,19$ (37-47) olup, hastalar ortalama $34,3 \pm 18,2$ (1-70) ay süre ile takip edildi.

Hastaların klinik parametreleri tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1'de görüldüğü gibi, hastaların 49'u (%61,2) halen yaşamakta iken, 31 hasta (%38,5) $34,3 \pm 18,2$ aylık takip süresi içerisinde exitus olmuştur. Ölen 31 hastanın 6 tanesi ameliyat sırasında veya hemen sonrasında cerrahi komplikasyon ve/veya enfeksiyon nedeni ile ex olmuştur. Geriye kalan 25 hasta ise akciğer kanserine sebebi ile ex olmuştur. Bu 25 hastanın ise takip sırasındaki tanı aldıktan sonra ortalama ölüm süresi $28,1 \pm 14,7$ ay'dır.

Hastaların sadece 6 tanesi hayatları boyunca hiç sigara içmemiş iken, geriye kalan 74 hasta ortalama $37,8 \pm 11$ yıl süre boyunca sigara içmişlerdir. Bu hastaların sigara tüketimini için hesaplanan 'paket.yıl' sonucu ortalama $51,4 \pm 27,5$ (15-150) bulunmuştur. Sigara içen hastaların 37 tanesi (%50) akciğer kanseri tanısı almadan önce sigarayı bırakmış olup, sigarayı bıraktıktan ortalama $8,5 \pm 7,1$ ay sonra kanser tanısı almışlardır. Geriye kalan 37 hasta (%50) ise, akciğer kanseri tanısı aldıklarında halen sigara içmektedirler.

Hastaların 15'i (%18,84) operasyon öncesi neoadjuvan kemoterapi almıştır.

Hastaların 29'una (%36,3) sağ üst lobektomi, 13'üne (%16,3) sol pnömonektomi, 11'ine (%13,8) sol üst lobektomi, 7'sine (%8,8) sağ inferior lobektomi, 6'sına (%7,5) sağ pnömonektomi, 6'sına (%7,5) sol inferior lobektomi, 3'üne (%3,8) sağ orta lobektomi, 2'sine (%2,5) sol üst lobektomi+toraks rezeksiyonu, 1'er hastaya da (%1,3) sol alt bilobektomi, sağ üst lobektomi+toraks rezeksiyonu ve sol üst lob wedge rezeksiyon uygulanmıştır.

Operasyon sonucu incelenen materyallerde, 80 hastanın 36'sında (%45) SHK, 36'sında (%45) adenokarsinom, 6'sında (%7,5) büyük hücreli karsinom ve 2'sinde (%2,5) adenoskuamöz karsinom saptanmıştır. SHK tanısı alan 36 hastanın 6'sı (%16,7) iyi differansiye, 24'ü (%66,7) orta derece differansiye ve 6'sı (%16,7) az differansiyedir. Adenokarsinom tanısı alan 36 hastanın ise 9'u (%25) solid patterde, 21'i (%58,3) asiner

patterde, 2'si (%5,5) papiller paternde, 2'si (%5,5)lepidik patternde ve 1'i (%2,7) mikropapiller patterndedir.

Tablo 4.1. KHDAK tanısı almış 80 hastanın klinik parametreleri

| Klinik Parametre | | n (%) | |
|---|--------------------------|--|----------|
| Kadın | | 9 (%11,3) | |
| Erkek | | 71 (%88,8) | |
| Sigara kullanımı | Var | 74 (%92,5) | |
| | Yok | 6 (%7,5) | |
| Neoadjuvan kemoterapi | Var | 15 (%18,8) | |
| | Yok | 65 (%81,3) | |
| Histolojik tip | Skvamöz hücreli karsinom | 36 (%45) | |
| | | iyi diferansiye 6(%16,7) orta diferansiye 24 (%66,7) | |
| | | az diferansiye 6 (%16,7) | |
| | Adenokarsinom | 36 (%45) | |
| | | Solid pattern 9 (%23,7) Asiner pattern 21(%55,3) Lepidik pattern 2 (%5,3) Papiller pattern 2 (%5,3) Mikropapiller pattern 1 (%2,6) | |
| | | Büyük hücreli karsinom | 6 (%7,5) |
| | | Adenoskuamöz karsinom | 2 (2,5) |
| Patolojik T evresi | 1 | 31 (%38,8) | |
| | 2 | 37 (46,3) | |
| | 3 | 12 (%15) | |
| Lenf nodu metastaz varlığı | 0 | 48 (%60) | |
| | 1 | 21 (%26,3) | |
| | 2 | 11 (%13,8) | |
| Uzak organ Metastazi varlığı | Yok | 78 (%97,5) | |
| | Var | 2 (%2,5) | |
| Klinikopatolojik evre | 1a | 22 (%27,5) | |
| | 1b | 10 (%12,5) | |
| | 2a | 20 (%25) | |
| | 2b | 12 (%15) | |
| | 3a | 14 (%17,5) | |
| | 4 | 2 (%2,5) | |
| Post-op radyoterapi | Almış | 9 (%88,8) | |
| | Almamış | 71 (%11,3) | |
| Post-op kemoterapi | Almış | 40 (%50) | |
| | Almamış | 40 (%50) | |
| Tedavi sonrası metastaz gelişimi | Var | 13 (%23,8) | |
| | Yok | 67 (%76,3) | |
| Tedavi sonrası nüks gelişimi | Var | 6 (%7,5) | |
| | Yok | 74 (%92,5) | |
| Ex/Yaşıyor | Ex | 31 (%38,8) | |
| | Yaşıyor | 49 (%61,3) | |

Tablo 4.1’de görüldüğü üzere, patolojik T evresine göre hastaların 31 tanesi (%38,8) pT1, 37 tanesi (%46,3) pT2 ve 12 tanesi (%15) pT3 olarak değerlendirildi.

Hastaların 32’sinde (%40) lenf nodu metastazı saptanmış iken, 48 hastada (%60) lenf nodu metastazı izlenmemiştir. Ayrıca 2 hastada tanı anında uzak organ metastazı saptanmış iken, geriye kalan 78 hastanın tanı anında uzak organ metastazı olmadığı saptanmıştır.

İncelenen materyallerde 41 hastada (%51,3) vasküler invazyon görülürken, 39 hastada (%48,8) vasküler invazyon izlenmedi.

Klinik evreleme yapıldığında hastaların 22’si (%27,5) evre 1a, 10’u (%12,5) evre 1b, 20’si (%25) evre 2a, 12’si (%15) evre 2b, 14’ü (%17,5) evre 3a ve 2’si (%2,5) evre 4 olarak değerlendirildi.

Hastaların 40 tanesi (%50) operasyon sonrası adjuvan kemoterapi alırken, 40 hasta (%50) adjuvan kemoterapi almadı.

Olguların histolojik tip, patolojik T evresi, TNM evresi, vasküler invazyon varlığı ve prognostik faktörler arasındaki ilişki tablo 4.2, tablo 4.3, tablo 4.4 ve tablo 4.5’te özetlenmiştir.

Tablo 4.2’den de anlaşıldığı gibi, tümörün histolojik tipi ile hastaların patolojik T evreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlendi ($p<0,05$). Skuamöz hücreli karsinomlu hastaların %33’ü erken T evresine (pT1) sahipken, %16,7’si ileri T evresindeydi (pT2b ve T3). Buna karşın non-skuamöz hücreli karsinomlu hastaların ise %43’ü erken T evresinde ve %34,1’i ileri T evresinde oldukları görüldü.

Ayrıca tümörün histolojik tipi ile hastaların klinik evreleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p<0,01$). SHK’lu hastaların sadece %5,6’sı ileri evre (evre 3 ve 4) iken, non-SHK’lu hastaların %31,8’inin ileri evre (evre 3 ve 4) oldukları raporlandı.

Ancak olguların histolojik tipleri ile lenf nodu metastazı varlığı, uzak metastaz varlığı, tedavi sonrası nüks veya metastaz gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.3’te izlendiği gibi, hastaların patolojik T evresi ile tedavi sonrası nüks gelişimi arasında istatistiksel olarak sınırda anlamlı pozitif ilişki bulundu ($p=0,05$). Buna göre ileri T evresindeki hastalarda, erken T evresindeki hastalar ile karşılaştırıldıklarında, tedavi

Tablo 4.2. Tümörün histolojik tipi ile klinik parametreler arasındaki ilişki

| Histolojik Tip | Patolojik Evre | | | Lenf nodu metastaz varlığı | | Uzak metastaz varlığı | | TNM evresi | | | Tedavi sonrası metastaz gelişimi | | Tedavi sonrası nüks gelişimi | | Toplam |
|----------------|-----------------|-------------|-------------|----------------------------|-------------|-----------------------|-----------|-----------------|-------------|-------------|----------------------------------|------------|------------------------------|-----------|--------|
| | 1a+1b | 2a | 2b+3 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 3+4 | 0 | 1 | 0 | 1 | |
| SHK | 12 %33,3 | 18 %50 | 6 %16,7 | 21 %58,3 | 15 %41,7 | 36 %100 | 0 - | 15 %41,7 | 19 %52,8 | 2 %5,6 | 29 %80,6 | 7 %19,4 | 34 %94,4 | 2 %5,6 | 36 |
| Non-SHK | 19 %43,2 | 10 %22,7 | 15 %34,1 | 27 %61,4 | 17 %38,6 | 42 %95,5 | 2 %4,5 | 17 %38,6 | 13 %29,5 | 14 %31,8 | 36 %81,8 | 8 %18,2 | 40 %90,9 | 4 %9,1 | 44 |
| p | <0,05 | | | >0,05 | | >0,05 | | <0,01 | | | >0,05 | | >0,05 | | |

(SHK: Skuamöz hücreli karsinom, non-SHK: Non-skuamöz hücreli karsinom)

Tablo 4.3. Tümörün patolojik T evresi ile klinik parametreler arasındaki ilişki

| Patolojik Evre | Lenf nodu metastaz varlığı | | Uzak metastaz varlığı | | TNM evresi | | | Tedavi sonrası metastaz gelişimi | | Tedavi sonrası nüks gelişimi | | Toplam |
|----------------|----------------------------|-------------|-----------------------|-----------|------------------|-------------|------------|----------------------------------|------------|------------------------------|------------|--------|
| | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 3+4 | 0 | 1 | 0 | 1 | |
| 1a+1b | 22 %71 | 9 %29 | 30 %96,8 | 1 %3,2 | 22 %71 | 5 %16,1 | 4 %12,9 | 26 %83,9 | 5 %16,1 | 28 %90,3 | 3 %9,7 | 31 |
| 2a | 16 %57,1 | 12 %42,9 | 37 %96,4 | 1 %3,6 | 9 %32,1 | 14 %50 | 5 %17,9 | 23 %82,1 | 5 %17,9 | 28 %100 | 0 - | 28 |
| 2b+3 | | 11 %52,4 | 21 %100 | 0 - | 1 %4,8 | 13 %61,9 | 7 %33,3 | 16 %76,2 | 5 %23,8 | 18 %85,7 | 3 %14,3 | 21 |
| p | >0,05 | | >0,05 | | <0,001 | | | >0,05 | | =0,05 | | |

Tablo 4.4. Vasküler invazyon varlığı ile klinik parametreler arasındaki ilişki

| Vasküler İnvazyon | Histolojik Tip | | Patolojik Evre | | | Lenf nodu metastaz varlığı | | Uzak metastaz varlığı | | TNM evresi | | | Tedavi sonrası metastaz gelişimi | | Tedavi sonrası nüks gelişimi | | Toplam |
|-------------------|----------------|-------------|----------------|-------------|-------------|----------------------------|-------------|-----------------------|-----------|-------------|-------------|-------------|----------------------------------|------------|------------------------------|-----------|--------|
| | SHK | Non-SHK | 1a+1b | 2a | 2b+3 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 3+4 | 0 | 1 | 0 | 1 | |
| 0 | 22 %56,4 | 17 %43,6 | 18 %46,2 | 14 %35,9 | 7 %17,9 | 20 %71,8 | 11 %28,2 | 39 %100 | 0 - | 21 %65,6 | 15 %46,9 | 3 %18,8 | 32 %82,1 | 7 %17,9 | 37 %94,9 | 2 %5,1 | 39 |
| 1 | 14 %34,1 | 27 %65,9 | 13 %31,7 | 14 %34,1 | 14 %34,1 | 20 %48,8 | 21 %51,2 | 39 %95,1 | 2 %4,9 | 11 %34,4 | 17 %41,5 | 13 %31,7 | 33 %80,5 | 8 %19,5 | 37 %90,2 | 4 %9,8 | 41 |
| p | <0,05 | | >0,05 | | | =0,03 | | >0,05 | | >0,05 | | | >0,05 | | >0,05 | | |

(SHK: Skuamöz hücreli karsinom, non-SHK: Non-skuamöz hücreli karsinom)

Tablo 4.5. Tümörün klinikopatolojik evresi ile klinik parametreler arasındaki ilişki

| TNM evresi | Tedavi sonrası metastaz gelişimi | | Tedavi sonrası nüks gelişimi | | Toplam |
|------------|----------------------------------|------------|------------------------------|------------|--------|
| | 0 | 1 | 0 | 1 | |
| 1 | 31 %96,9 | 1 %3,1 | 29 %90,6 | 3 %9,4 | 32 |
| 2 | 24 %75 | 8 %25 | 32 %100 | 0 - | 32 |
| 3+4 | 10 62,5 | 6 %37,5 | 13 %81,3 | 3 %18,8 | 16 |
| p | <0,01 | | <0,05 | | |

sonrasında daha yüksek oranda nüks görüldüğü tespit edildi. Patolojik T evresi arttıkça lenf nodu metastazı varlığı, uzak organ metastazı varlığı ve tedavi sonrası metastaz gelişim oranı artmakta iken, bu bulgular arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.4'te görüldüğü üzere, hastalarda vasküler invazyon varlığı ile tümörün histolojik tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülürken ($p<0,05$), lenf nodu metastazı varlığı arasında da anlamlı ilişki bulundu ($p=0,03$). Buna göre SHK'lu olguların %34'ünde vasküler invazyon saptanırken, non-SHK'lu olguların ise %65,9'unda vasküler invazyon saptandı. Ancak vasküler invazyon izlenen hastalarda patolojik evre, uzak organ metastazı varlığı, TNM evresi, tedavi sonrası nüks veya metastaz gelişimi arasında da pozitif bir ilişki izlenmekle birlikte, bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.5'te de görülebildiği gibi, klinik evresi yüksek olan hastalarda daha sık oranda metastaz gelişimi ($p<0,01$) ve nüks gelişimi ($p<0,05$) saptanmış olup bu bulgular istatistiksel olarak da anlamlı bulundu.

4.2. Klinik Parametler ile Hastaların 3 Yıllık Yaşam Ömürleri Arasındaki İlişki

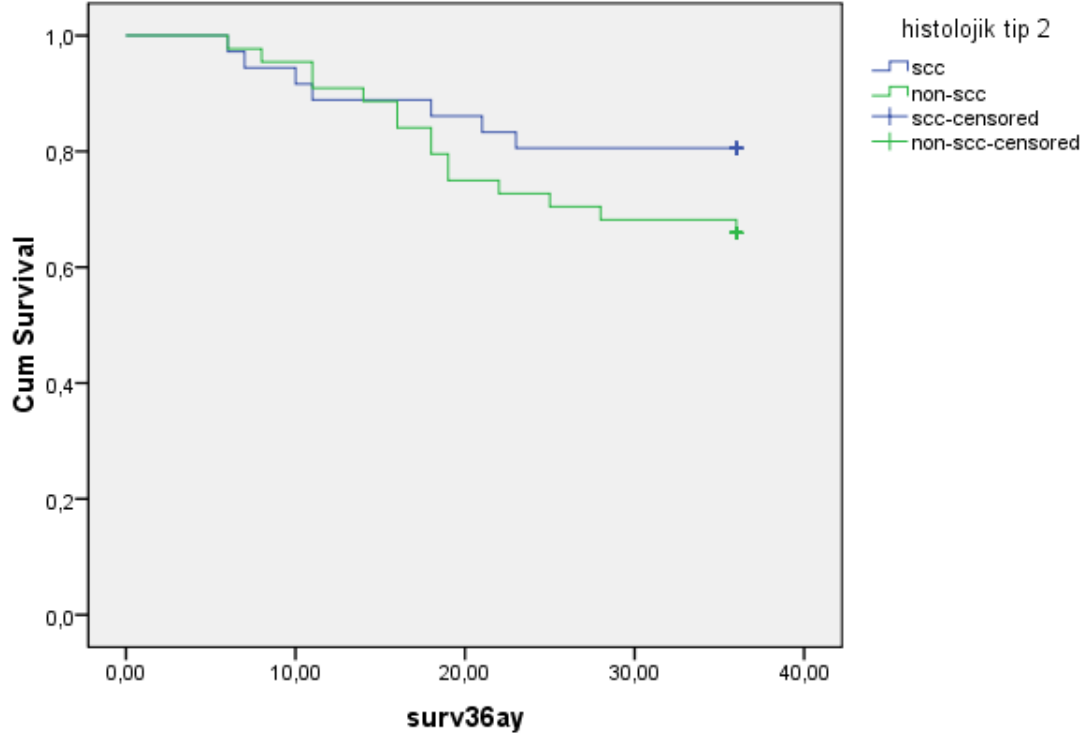
Skuamöz hücreli karsinomlu hastaların 3 yıllık yaşam ömrü %80 ve non-SHK'lu hastaların 3 yıllık yaşam ömrü ise %65 olarak bulunmuştur (Şekil 4.1). SHK'lu hastaların yaşam ömrü, non-SHK'lu hastalardan daha yüksek bulunmakla birlikte, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Patolojik evresi T1a+T1b olan hastaların 3 yıllık surveyi %80 iken, bu oran T2a hastalarda %75 ve T2b+T3 hastalarda ise %57 olarak bulunmuştur. Hastaların patolojik T evresi arttıkça 3 yıllık yaşam ömürleri azalmakla birlikte, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). Hastaların patolojik T evreleri ve 3 yıllık yaşam ömürleri arasındaki ilişki şekil 4.2'de gösterilmiştir.

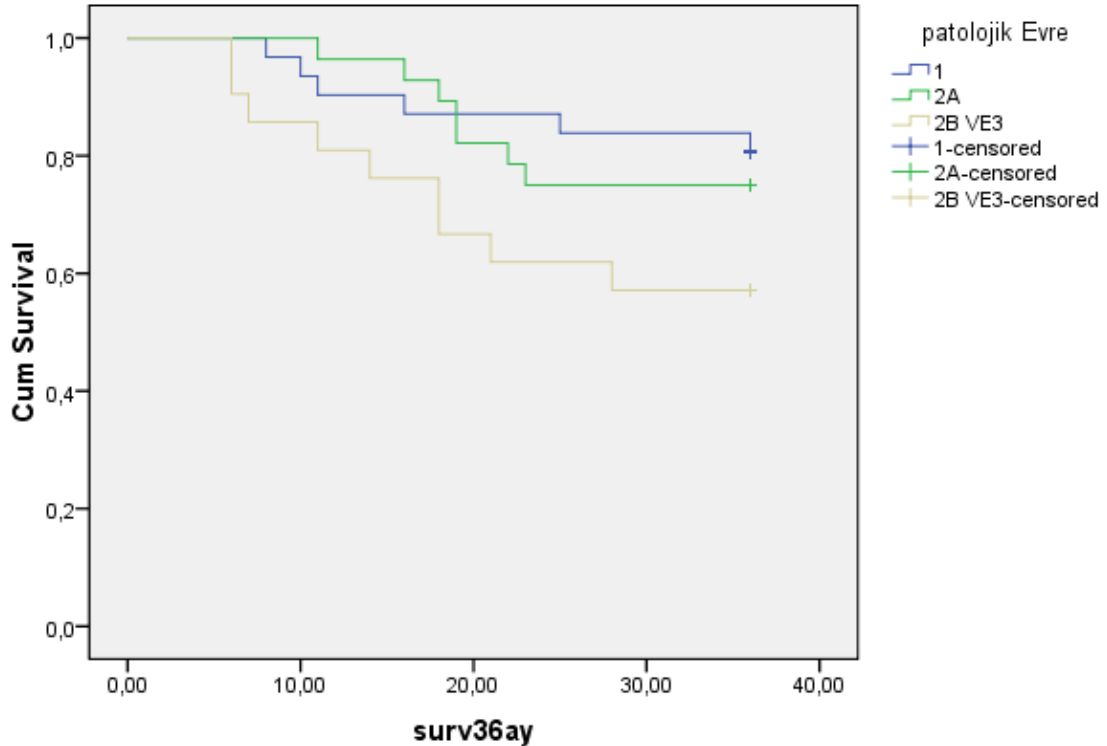
Vasküler invazyon görülen hastaların 3 yıllık survey oranı %65 bulunmuştur. Buna karşın vasküler invazyon izlenmeyen hastalarda ise 3 yıllık yaşam ömrü %70'tir (Şekil 4.3). Vasküler invazyon izlenen hastalarda, izlenmeyen hastalara göre 3 yıllık yaşam ömrü daha düşük olmakla birlikte, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Klinik evresi 1 olan hastaların 3 yıllık surveyi %81 iken, bu oran evre 2 hastalarda %81, evre 3+4 hastalarda ise %37 olarak bulunmuştur. Buna göre ileri evredeki hastaların

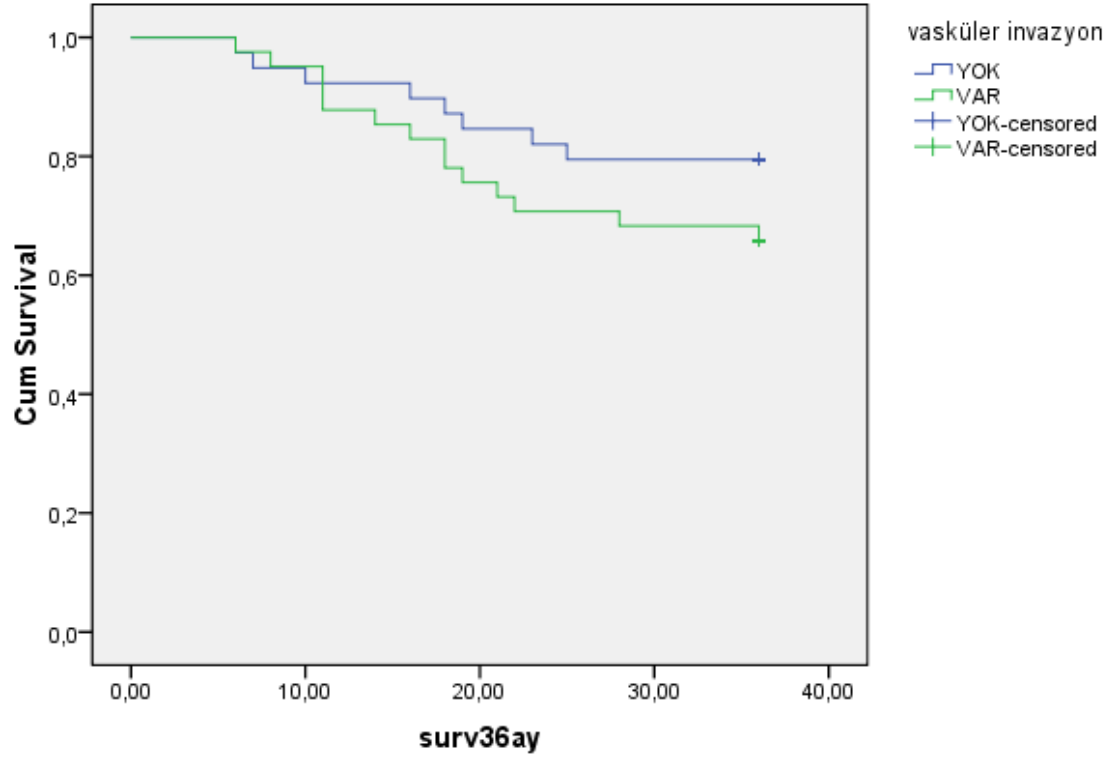
yaşam ömrünün, erken evredeki hastalar ile karşılaştırıldıklarında daha kısa olduğu görülmüş olup, bu fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Hastaların klinik evresi ve 3 yıllık yaşam ömürleri arasındaki ilişki şekil 4.4'te gösterilmiştir.



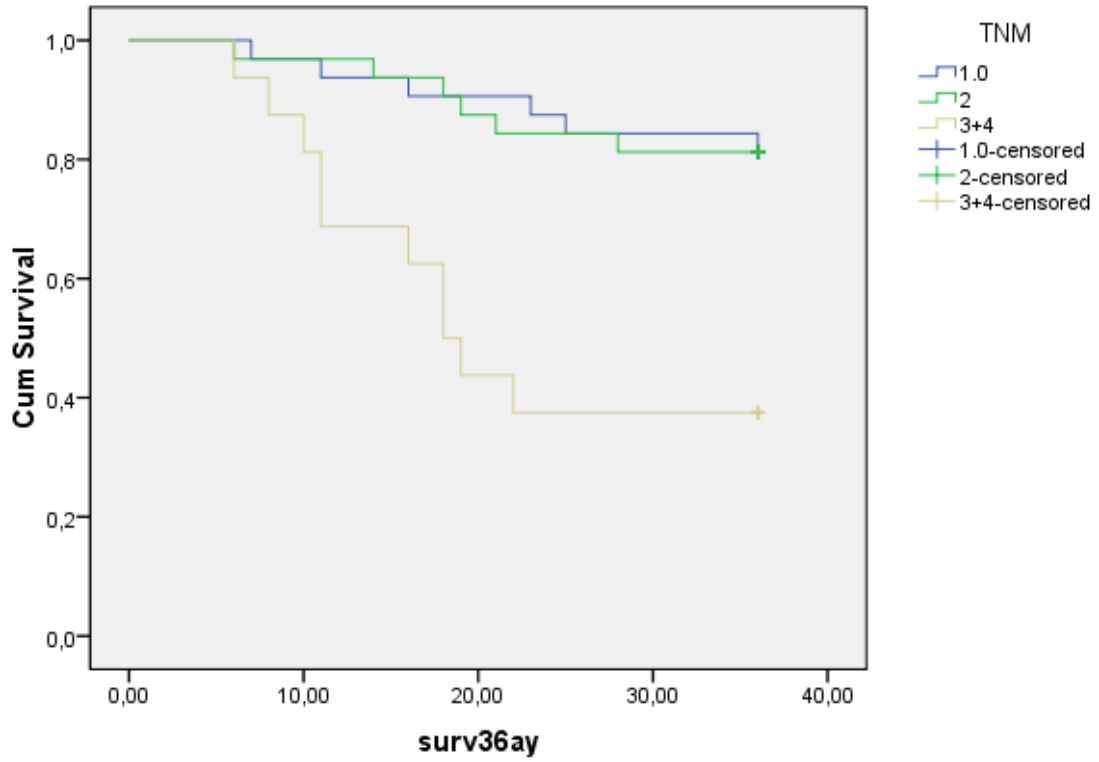
Şekil 4.1. Tümörün histolojik tipi ile hastaların 3 yıllık surveyleri arasındaki ilişki



Şekil 4.2. Tümörün patolojik evresi ile hastaların 3 yıllık surveyleri arasındaki ilişki



Şekil 4.3. Vasküler invazyon varlığı ile hastaların 3 yıllık surveyleri arasındaki ilişki



Şekil 4.4. Klinik evre ile hastaların 3 yıllık surveyleri arasındaki ilişki

4.2. Klinik Parametler ile Hastaların Sigara İçme Hikayesi ve Survey Arasındaki İlişki

Çalışmamızda değerlendirilen 80 KHDAK'lı hastaların sadece 6 tanesi hayatları boyunca hiç sigara içmemiştir. Geriye kalan 74 hasta ise ortalama $37,8 \pm 11$ yıl boyunca sigara içmiştir. Sigara içen 74 hastanın ise 37'si (%50) akciğer kanseri tanısı almadan önce sigarayı bırakmış olup, bu 37 hastanın sigarayı bıraktıktan sonra tümör tanısı almalarına kadar geçen süre ortalama $8,5 \pm 7,1$ aydır.

Hastaların klinikopatolojik bulguları ile sigara içme hikayeleri ve surveyleri arasındaki ilişki tablo 4.6'da gösterilmiştir. Buna göre; SHK'lu hastalar, non-SHK tanılı hastalar ile karşılaştırıldıklarında daha uzun süre ve daha çok miktarda sigara içmişlerdir ancak iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Ayrıca SHK'lu hastaların ortalama yaşam ömrü $37 \pm 18,8$ ay, non-SHK tanılı hastaların ortalama yaşam ömrü $32,3 \pm 17,8$ ay olarak bulunmuştur, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$).

Tablo 4.6'da görüldüğü gibi, olguların patolojik T evreleri incelendiğinde, erken ve ileri T evresindeki hastalar arasında sigara içme süre ve yoğunlukları arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$). Bununla birlikte, patolojik T evresi düşük olan hastaların ortalama yaşam ömrü $37,5 \pm 17,9$ ay iken, ileri T evresindeki hastaların ortalama yaşam ömrü ise $25,8 \pm 16,7$ ay olup, bu değerler istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($p = 0,016$).

Lenf nodu metastazı olan olgular ile lenf nodu metastazı olmayan olgular karşılaştırıldıklarında, her iki grup arasında sigara içme süresi ve miktarı, sigarayı bıraktıktan sonra geçen süre aralarında anlamlı fark izlenmedi ($p > 0,05$) (Tablo 4.6.). Ancak lenf nodu metastazı varlığı ile hastaların ortalama yaşam ömrü arasında istatistiksel olarak negatif anlamlı ilişki bulunmuştur ($p = 0,02$) Lenf nodu metastazı olan olguların ortalama yaşam ömrü $28,5 \pm 18,6$ ay iken, lenf nodu metastazı izlenmeyen olguların ise $38,7 \pm 16,9$ ay olarak bulunmuştur (Tablo 4.6).

Hastaların klinik evreleri incelendiğinde, erken TNM evresinde ve ileri TNM evresinde olan hastalar arasında sigara içme süresi ve miktarı, sigarayı bıraktıktan sonra geçen süre aralarında anlamlı fark izlenmedi ($p > 0,05$) (Tablo 4.6.). Evre 1 hastaların ortalama yaşam ömrünün $41,2 \pm 16,8$ ay, evre 2 hastaların ortalama yaşam ömrünün $36,1 \pm 16,9$ ay ve evre 3+4 hastaların ortalama yaşam ömrünün ise $19,8 \pm 15,2$ olduğu

görülmüş olup, hastaların klinik evresi ile ortalama yaşam ömürleri arasında negatif anlamlı korelasyon bulunmuştur ($p<0,001$).

Vasküler invazyon varlığı ile, hastanın sigara içme süresi ve miktarı arasında anlamlı fark bulunmamakla birlikte ($p>0,05$), vasküler invazyon olmayan hastaların daha uzun süre ve daha çok miktarda sigara içtikleri görülmüştür (Tablo 4.6). Ayrıca vasküler invazyonu olan hastaların yaşam ömrü $38,3\pm 18,5$ ay iken vasküler invazyon görülmeyen hastalarda ortalama yaşam ömrü $31,2\pm 17,6$ aydır. Vasküler invazyonu olan hastaların yaşam ömrünün daha kısa olduğu görülmüştür fakat bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.6. Hastaların klinikopatolojik bulguları ile sigara içme hikayeleri ve surveyleri arasındaki ilişki

| | | Ortalama sigara içme süresi (yıl)\pmSD | Paket/yıl \pm SD | Sigarayı bıraktıktan sonra geçen süre (ay)\pmSD | Survey (ay) \pmSD |
|---|---------|--|--------------------------------------|---|---------------------------------------|
| Histolojik Tip | SHK | 39,9 \pm 10,5 | 54,8 \pm 28,3 | 7,1 \pm 4,9 | 37 \pm 18,8 |
| | Non-SHK | 35,8 \pm 11,3 | 48,1 \pm 26,7 | 10,2 \pm 8,9 | 32,3 \pm 17,8 |
| | p | >0,05 | >0,05 | >0,05 | >0,05 |
| Patolojik T evresi | 1+2a | 38,1 \pm 11,1 | 51,9 \pm 28,8 | 7,7 \pm 6,6 | 37,5 \pm 17,9 |
| | 2b+3 | 36,9 \pm 11 | 50 \pm 24,4 | 12 \pm 8,7 | 25,8 \pm 16,7 |
| | p | >0,05 | >0,05 | >0,05 | =0,016 |
| Lenf nodu metastazı varlığı | 0 | 39,2 \pm 9,8 | 52,7 \pm 32,2 | 8,5 \pm 8,2 | 38,7 \pm 16,9 |
| | 1 | 35,8 \pm 12,4 | 49,5 \pm 32,2 | 8,6 \pm 4,8 | 28,5 \pm 18,6 |
| | p | >0,05 | >0,05 | >0,05 | =0,02 |
| TNM evresi | 1 | 39,6 \pm 8,1 | 52,6 \pm 22 | 7,6 \pm 7,3 | 41,2 \pm 16,8 |
| | 2 | 39,5 \pm 10,9 | 53 \pm 26,7 | 9,5 \pm 7,4 | 36,1 \pm 16,9 |
| | 3+4 | 30,3 \pm 13,7 | 45,3 \pm 38,5 | 10,3 \pm 4,5 | 19,8 \pm 15,2 |
| | p | >0,05 | >0,05 | >0,05 | <0,001 |
| Vasküler invazyon | 0 | 40 \pm 9,9 | 56,3 \pm 30,8 | 6,1 \pm 5,2 | 38,3 \pm 18,5 |
| | 1 | 35,7 \pm 12 | 46,7 \pm 23,4 | 10,8 \pm 8 | 31,2 \pm 17,6 |
| | p | >0,05 | >0,05 | >0,05 | >0,05 |
| Tedavi sonrası metastaz gelişimi | 0 | 38 \pm 10,5 | 50,8 \pm 24,6 | 8,2 \pm 6,2 | 36,6 \pm 18,4 |
| | 1 | 36,8 \pm 13,3 | 53,5 \pm 37,6 | 12,3 \pm 15,5 | 26 \pm 15,4 |
| | p | >0,05 | >0,05 | >0,05 | <0,05 |
| Tedavi sonrası nüks gelişimi | 0 | 38 \pm 10,9 | 51,5 \pm 27,5 | 8,6 \pm 7,2 | 34,7 \pm 18,1 |
| | 1 | 35,8 \pm 13,9 | 50,4 \pm 29,6 | 8 \pm 5,6 | 31 \pm 21,5 |
| | p | >0,05 | >0,05 | >0,05 | >0,05 |

(SHK: Skuamöz hücreli karsinom, non-SHK: Non-skuamöz hücreli karsinom)

Tedavi sonrası metastaz gelişen hastalar ile metastaz gelişmeyen hastalar arasında sigara içme süre ve miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Ancak tedavi sonrası metastaz gelişen hastaların anlamlı olarak daha kısa yaşam ömrüne sahip oldukları bulunmuştur ($p>0,05$) (Tablo 4.6).

Tedavi sonrası nüks gelişen kısıtlı sayıda hasta olup, bu hastalar ile, nüks gelişmeyen hastalar arasında sigara içme süre ve miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).Tedavi sonrası nüks gelişen hastaların yaşam ömrünün de, nüks gelişmeyen hastalardan daha kısa olduğu görülmekle birlikte, bu değerler istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$) (Tablo 4.6).

4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.3.1. SPAG9 Antikoru Sonuçları

SPAG9 ekspresyonu ve klinikopatolojik bulgular arasındaki ilişki

KHDAK tanısı alan hastaların tamamında tümör dokusunda SPAG9 ekspresyonu saptanmış olup bu hastaların 64'ünde (%80) düşük SPAG9 ekspresyon saptanırken, 16'sında (%20) yüksek SPAG9 ekspresyon saptandı.

SHK'lu hastaların tamamında düşük SPAG9 ekspresyonu saptanırken, adenokarsinomlu hastaların 23'ünde (%63,9) düşük ekspresyon, 13'ünde (%36,1) yüksek ekspresyon saptandı. Büyük hücreli karsinom tanısı alan 6 hastanın 4 tanesinde (%66,7) tümör dokusunda düşük SPAG9 ekspresyonu görülürken, 2 tanesinde (%33,3) yüksek SPAG9 ekspresyonu görüldü. Adenoskuamöz hücreli karsinom tanılı 2 hastanın ise 1'inde (%50) düşük SPAG9 ekspresyonu saptanırken, 1'inde (%50) yüksek SPAG9 ekspresyonu saptandı. Olguları SHK ve non-SHK tanıları şeklinde iki grup olarak inceledimizde ise SHK'lu olguların tamamında düşük SPAG9 ekspresyon yoğunluğu olduğu görülmüş olup, non-SHK tanılı hastaların ise %63,6'sında düşük SPAG9 ekspresyonu ve %36,4'ünde ise yüksek SPAG 9 ekspresyonu görülmüştür. Non-skuamöz hücreli karsinom olgularında istatistiksel olarak anlamlı yüksek SPAG9 ekspresyon varlığı bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo 4.7).

Tablo 4.7.'da görüldüğü gibi, patolojik evresi T2 ve T3 olan olgularda, T1 olgularına göre anlamlı olarak daha fazla oranda SPAG 9 yüksek ekspresyonu olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Lenf nodu pozitifliği olan 32 hastanın 13 tanesinde (%40,6) yüksek SPAG9 ekspresyonu izlenirken, lenf nodu pozitifliği olmayan 48 hastanın sadece 3 tanesinde (%6,3) yüksek SPAG9 ekspresyonu görüldü. Bu bulgular ile lenf nodu metastazı varlığı ile SPAG9 ekspresyonu arasında pozitif olarak anlamlı ilişki bulundu ($p<0,001$) (Tablo 4.7).

Klinikopatolojik evrelerine göre bakıldığında, evre 1 hastaların tamamı düşük SPAG9 boyanma skoruna sahipken, evre 2 olan 32 hastanın 30'ünde (%93,8) düşük SPAG9 boyanma skoru izlendi. Bununla birlikte evre 3+4 olan 16 hastanın 14'ünde (%85,7) yüksek SPAG9 boyanma skoru izlendi. Bu bulgular ile SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ve hastaların klinikopatolojik evreleri arasında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki bulundu ($p<0,001$) (Tablo 4.7).

Tablo 4.7.'da anlaşıldığı gibi, vasküler invazyon izlenmeyen olgularda, vasküler invazyon izlenen olgulardan anlamlı olarak düşük SPAG9 ekspresyonu izlenmiştir ($p=0,001$).

SPAG9 ekspresyon skoru yüksek olan hastaların tamamı operasyon sonrası post-op kemoterapi almış olup, SPAG9 ekspresyon skoru düşük olan hastaların %37,5'u operasyon sonrası post-op kemoterapi almıştır. Bu bulgular ile, SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile post-op KT alma oranı arasında pozitif anlamlı ilişki görülmüştür ($p<0,001$) (Tablo 4.7.).

SPAG9 ekspresyon skoru yüksek olan hastaların %31,25'i operasyon sonrası radyoterapi almış olup, SPAG9 ekspresyon skoru düşük olan hastaların saece %6,25'i operasyon sonrası RT almıştır. Bu bulgular ile, SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile post-op RT alma oranı arasında pozitif anlamlı ilişki görülmüştür ($p=0,014$)(Tablo 4.7.).

Tedavi sonrası metastaz gelişen olguların %40'ının primer tümöründe yüksek SPAG9 ekspresyon skoru saptanmış olup, bu oran metastaz gelişmeyen olgularda %15,4'tür. SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile tedavi sonrası metastaz gelişimi arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.7).

Tedavi sonrası nüks gelişen hastalar ile nüks gelişmeyen hastalar karşılaştırıldığında, SPAG9 ekspresyon yoğunluğu yüksek olan hastalarda daha fazla nüks tespit edilmiştir ancak bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Hastaların klinik parametreleri ve SPAG9 ekspresyonları arasındaki ilişki

| | | SPAG 9 | | Toplam n | p |
|----------------------------------|---------|-------------------|--------------------|----------|--------|
| | | Düşük Eksp. n (%) | Yüksek Eksp. n (%) | | |
| Histolojik tip 1 | SHK | 36 (%100) | 0 (-) | | <0,001 |
| | AK | 24 (%66,7) | 12 (%33,3) | | |
| | BHK | 4 (%66,7) | 2 (33,3) | | |
| | ASK | 1 (%50) | 1 (%50) | | |
| Histolojik tip 2 | SHK | 36 (%100) | 0 (-) | 36 | <0,001 |
| | Non-SHK | 28 (%63,6) | 16 (%36,4) | 44 | |
| Patolojik T evresi | T1 | 28 (%90,3) | 3 (%9,7) | 31 | <0,05 |
| | T2a | 23 (%82,1) | 5 (%17,9) | 28 | |
| | T2b, T3 | 13 (%61,9) | 8 (%38,1) | 21 | |
| Lenf nodu metastazı (N) | + | 19 (%59,4) | 13 (%40,6) | 32 | <0,001 |
| | - | 45 (%93,8) | 3 (%6,3) | 48 | |
| Uzak organ Metastazı (M) | Yok | 64 (%82,1) | 14 (%17,9) | 78 | <0,05 |
| | Var | 0 (-) | 2 (%100) | 2 | |
| Klinik evre | 1 | 32 (%100) | 0 (-) | 32 | <0,001 |
| | 2 | 30 (%93,8) | 2 (%6,3) | 32 | |
| | 3 | 2 (%12,5) | 14 (%87,5) | 16 | |
| Vasküler İnvazyon Varlığı | Yok | 37 (%94,9) | 2 (%5,1) | 39 | =0,001 |
| | Var | 27 (%65,9) | 14 (%34,1) | 41 | |
| Post-op KT hikayesi | Yok | 40 (%100) | 0 (-) | 40 | <0,001 |
| | Var | 24 (%60) | 16 (%40) | 40 | |
| Post-op RT hikayesi | Yok | 60 (%84,5) | 11 (%15,5) | 71 | =0,014 |
| | Var | 4 (%44,4) | 5 (%55,6) | 9 | |
| Tedavi sonrası Metastaz gelişimi | Yok | 55 (%84,6) | 10 (%15,4) | 65 | <0,05 |
| | Var | 9 (%60) | 6 (%40) | 15 | |
| Tedavi sonrası Nüks gelişimi | Yok | 61 (%82,4) | 13 (%17,6) | 74 | >0,05 |
| | Var | 3 (%50) | 3 (%50) | 6 | |

(SHK: Skuamöz hücreli karsinom, non-SHK: Non-skuamöz hücreli karsinom, BHK: Büyük hücreli karsinom, ASK: Adenoskuamöz karsinom)

SPAG9 ekspresyonu ve hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki

Hastaların SPAG9 ekspresyon şiddetleri ile sigara içme süre ve miktarları, sigarayı bıraktıktan sonra geçen süre ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki tablo 4.8'de verilmiştir. Tabloda görüldüğü üzere, SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile sigara içme süre ve miktarı arasında negatif anlamlı ilişki bulunmuştur ($p<0,001$ ve $p=0,02$). Buna göre

daha uzun süre ve daha çok miktarda sigara tüketmiş kişilerde, daha düşük SPAG9 ekspresyonu izlendi.

Tablo 4.8. SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki

| SPAG 9 ekspresyonu | Ortalama sigara içme süresi (yıl)±SD | Paket/yıl ± SD | Sigarayı bıraktıktan sonra geçen süre (ay)±SD | Survey (ay) ±SD |
|--------------------|--------------------------------------|----------------|---|-----------------|
| Düşük | 40,1±9,5 | 54,8±27,3 | 7,7±6,3 | 37,6±17,5 |
| Yüksek | 27,9±12,1 | 36,7±24,1 | 15,2±10,5 | 23,5±16,9 |
| p | <0,001 | =0,02 | <0,05 | <0,01 |

Ayrıca sigarayı bırakmış hastalarda, daha uzun süredir sigara içmeyen kişilerde, daha kısa zaman önce sigarayı bırakmış hastalar ile karşılaştırıldıklarında yüksek SPAG9 ekspresyon oranı fazla bulunmuştur ($p<0,05$).

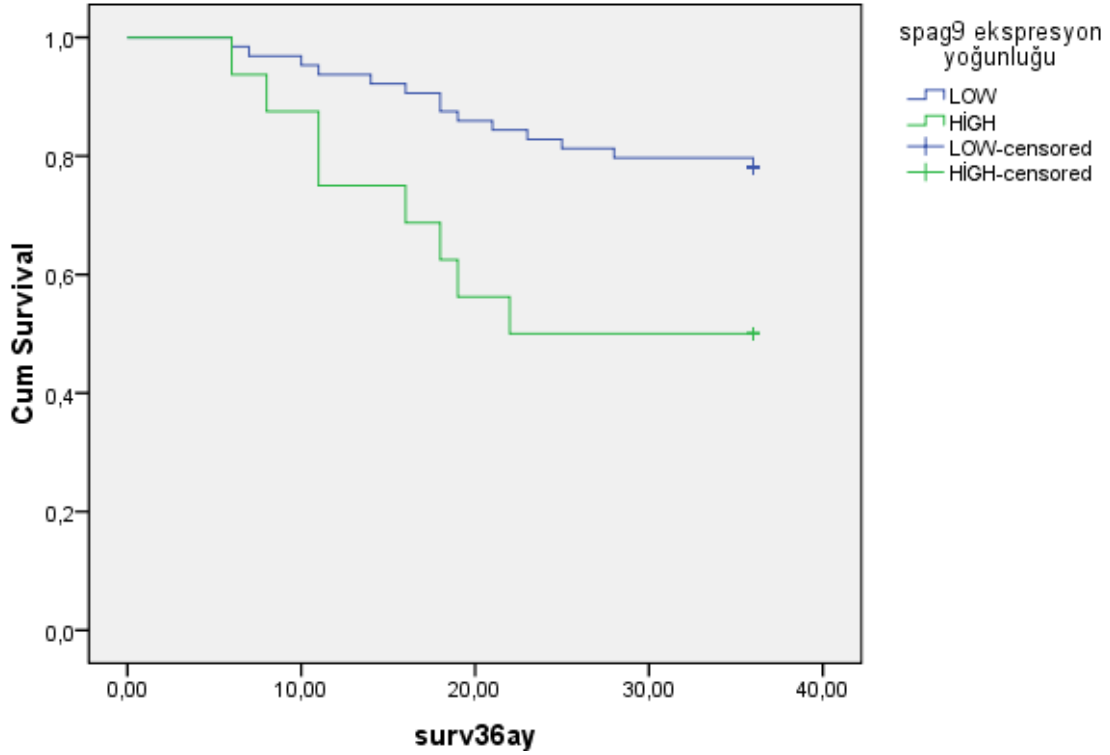
Tablo 4.8’de görüldüğü üzere, SPAG8 ekspresyon skoru düşük hastaların ortalama yaşam ömrü 37,6±17,5 ay iken, SPAG9 ekspresyon skoru yüksek olan hastalarda bu süre 23,5±16,9 aydır. Sonuç olarak SPAG9 ekspresyon skoru yüksek olan hastaların ortalama yaşam ömrü, düşük hastalardan anlamlı olarak kısa bulunmuştur ($p<0,01$).

SPAG9 ekspresyonu ve hastaların 3 yıllık survey değerleri

SPAG9 ekspresyonu düşük olan hastaların 3 yıllık surveyi %78 iken, yüksek SPAG9 ekspresyonu görülen olgularda bu oran %50 olarak bulunmuştur (Şekil 4.5). SPAG9 ekspresyon şiddeti ile hastaların 3 yıllık yaşam ömürleri arasında negatif fakat anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,01$).

SPAG9 ekspresyonu ile VEGF antikor ekspresyonu arasındaki ilişki

SPAG9 ekspresyonu düşük olan olgularda %20 oranında VEGF ekspresyonu pozitif saptanırken, bu oran SPAG9 ekspresyonu yüksek hastalarda %93,8’dir (Tablo 4.9.). Bu bulgular ile SPAG9 ekspresyon şiddetli ile VEGF ekspresyonu arasında pozitif anlamlı ilişki bulunmuştur ($r=0,504$, $p<0,001$)



Şekil 4.5. SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile hastaların 3 yıllık survey ilişkisi

SPAG9 ekspresyonu ile TAM yoğunluğu arasındaki ilişki

SPAG9 ekspresyonu yüksek olan hastalarda, düşük hastalar ile karşılaştırıldığında, tümörü infiltre eden tümör ilişkili makrofaj sayısı anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur ($r=0,006$, $p=0,006$) (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. SPAG9 antikoruna ile diğer immünohistokimyasal bulgular arasındaki ilişki

| SPAG9 ekspresyonu | VEGF | | TAM yoğunluğu | | | CD4+ T lenfosit yoğunluğu | | CD8+ T lenfosit yoğunluğu | | Toplam |
|-------------------|-------------|-------------|---------------|-------------|-------------|---------------------------|------------|---------------------------|-------------|--------|
| | 0 | 1 | 1+ | 2+ | 3+ | ≤%5 | 5< | ≤%5 | 5< | |
| Düşük | 44 %68,8 | 20 %31,3 | 26 %40,6 | 18 %25,7 | 20 %31,3 | 48 %75 | 16 %25 | 30 %46,9 | 34 %53,1 | 64 |
| Yüksek | 1 %6,3 | 15 %93,8 | 2 %12,5 | 3 %18,8 | 11 %68,8 | 9 %56,3 | 7 %43,8 | 6 %37,5 | 10 %62,5 | 16 |
| r | =0,504 | | =0,306 | | | =0,33 | | =0,34 | | |
| p | <0,001 | | =0,006 | | | >0,05 | | >0,05 | | |

SPAG9 ekspresyonu ile CD4+ ve CD8+ T lenfosit yoğunluğu arasındaki ilişki

SPAG9 ekspresyon şiddeti arttıkça, tümörü infiltre eden CD4+ ve CD8+ T lenfosit

yoğunluğunda da artış görülmekle birlikte, bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.9.)

4.3.2. VEGF Antikoru Sonuçları

VEGF ekspresyonu ve klinikopatolojik bulgular arasındaki ilişki

KHDAK tanısı almış 80 hastanın 35 tanesinde (%43,8) VEGF ekspresyonu izlenirken, 45 tanesinde (%56,3) VEGF ekspresyonu izlenmedi. Hastalarda izlenen VEGF ekspresyonu ve klinik bulgular arasındaki ilişki tablo 4.10.'da gösterilmiştir. Buna göre;

SHK tanısı almış 36 hastanın 9'unda (%25), adenokarsinom tanılı 36 hastanın 20'sinde (%55,6), büyük hücreli karsinom tanılı 6 hastanın 4'ünde (%66,7) ve adenoskuamöz karsinom tanılı 2 hastanın tümünde (%100) pozitif VEGF ekspresyonu görüldü. SHK olgularında VEGF ekspresyonu görülme oranı, adenokarsinom, büyük hücreli karsinom ve adenoskuamöz karsinomlu olgularda VEGF ekspresyonu görülme oranından düşük olup, histolojik tipler arasında görülen bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p<0,01$).

Patolojik tümör evresi T1 olan 31 hastanın 3 tanesinde (%9,7) VEGF ekspresyonu görülürken, T2a olan 28 hastanın 5'inde (%17,9) ve T2b+T3 olan 21 hastanın 8'inde (%38,1) VEGF ekspresyonu görüldü. Tümörün patolojik evresi arttıkça VEGF ekspresyon sıklığında artış olmakla birlikte; primer tümör evresi ve VEGF ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ($p>0,05$).

Lenf nodu metastazı saptanan 32 hastanın 19'unda (%40,6) pozitif VEGF ekspresyonu izlenirken, lenf nodu metastazı görülmeyen 48 hastanın 16'sında (%33,3) pozitif VEGF ekspresyonu izlendi. Bu bulgular ile VEGF ekspresyonu ile lenf nodu metastazı varlığı arasında pozitif anlamlı ilişki bulundu ($p=0,019$).

Tanı anında uzak organ metastazı görülen 2 olguda VEGF ekspresyonu pozitif saptanırken (%100), uzak organ metastazı olmayan olguların %42,3'ünde pozitif VEGF ekspresyonu görülmüştür. VEGF ekspresyonu pozitifliği ile uzak organ metastazı arasında pozitif yönde bir ilişki görülmüştür ancak bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

Bununla birlikte klinikopatolojik evrelerine göre bakıldığında ise, evre 1 olan 32 hastanın 9 tanesinde (%28,1), evre 2 olan 32 hastanın 12 tanesinde (%37,5) ve evre 3+4 olan 16 hastanın 14 tanesinde (%87,5) VEGF ekspresyonu görüldü. Hastaların klinik

evresi arttıkça, VEGF ekspresyon oranları da doğru orantılı olarak artmakta olup bu değerler istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ($p<0,01$).

Tablo 4.10. Hastaların klinik parametreleri ve VEGF ekspresyonları arasındaki ilişki

| | | VEGF ekspresyonu | | Toplam n | p |
|----------------------------------|---------|------------------|------------|----------|--------|
| | | (-) n (%) | (+) n (%) | | |
| Histolojik Tip 1 | SHK | 27 (%75) | 9 (%25) | 36 | =0,001 |
| | AK | 16 (%44,4) | 20 (%55,6) | 36 | |
| | BHK | 2 (%33,3) | 4 (%66,7) | 6 | |
| | ASK | 0 (-) | 2 (%100) | 2 | |
| Histolojik Tip 2 | SHK | 27 (%75) | 9 (%25) | 36 | <0,01 |
| | Non-SHK | 18 (%40,9) | 26 (%59,1) | 44 | |
| Patolojik T evresi | T1 | 21 (%67,7) | 10 (%32,3) | 31 | >0,05 |
| | T2a | 14 (%50) | 14 (%50) | 28 | |
| | T2b, T3 | 10 (%47,6) | 11 (%52,4) | 21 | |
| Lenf nodu Metastazı (N) | Yok | 32 (%66,7) | 16 (%33,3) | 48 | =0,019 |
| | Var | 13 (%59,4) | 19 (%40,6) | 32 | |
| Uzak organ Metastazı (M) | Yok | 45 (%57,7) | 33 (%42,3) | 78 | >0,05 |
| | Var | 0 (-) | 2 (%100) | 2 | |
| Klinik evre (TNM) | 1 | 23 (%71,9) | 9 (%28,1) | 32 | <0,01 |
| | 2 | 20 (%62,5) | 12 (%37,5) | 32 | |
| | 3+4 | 2 (%12,5) | 14 (%87,5) | 14 | |
| Vasküler invazyon varlığı | Yok | 33 (%84,6) | 6 (%15,4) | 39 | 0,0001 |
| | Var | 12 (%70,7) | 29 (%29,3) | 41 | |
| Post-op KT tedavisi | Yok | 28 (%70) | 12 (%30) | 40 | =0,02 |
| | Var | 17 (%42,5) | 23 (%57,5) | 40 | |
| Post-op RT tedavisi | Yok | 42 (%59,2) | 29 (%40,8) | 71 | >0,05 |
| | Var | 3 (%33,3) | 6 (%66,7) | 9 | |
| Tedavi sonrası Metastaz gelişimi | Yok | 37 (%56,9) | 28 (43,1) | 65 | >0,05 |
| | Var | 8 (%53,3) | 7 (%46,7) | 15 | |
| Tedavi sonrası Nüks gelişimi | Yok | 42 (%56,8) | 32 (%43,2) | 74 | >0,05 |
| | Var | 3 (%50) | 3 (%50) | 6 | |

(SHK: Skuamöz hücreli karsinom, non-SHK: Non-skuamöz hücreli karsinom, BHK: Büyük hücreli karsinom, ASK: Adenoskuamöz karsinom)

Vasküler invazyon görülmeyen olguların %15,4'ünde pozitif VEGF ekspresyonu görülürken, bu oran vasküler invazyon olan hastalarda %70,7 olarak bulundu. Bu bulgular ile, vasküler invazyon varlığı ile VEGF ekspresyonu arasında pozitif anlamlı ilişki olduğu görüldü ($p<0,001$). Primer tümörlerinde VEGF ekspresyonu görülen 35 hastanın %65,8'i operasyon sonrası KT tedavisi almışken bu oran VEGF ekspresyonu negatif hastalarda %37,8 olarak bulunmuştur. Bu bulgular ile, VEGF ekspresyonu pozitifliği ile hastaların post-op KT tedavisi almaları arasında anlamlı pozitif ilişki olduğu bulunmuştur ($p=0,02$).

Tablo 4.10’da görüldüğü gibi, primer tümörlerinde VEGF ekspresyonu pozitif olan hastalarda, negatif hastalara oranla RT tedavisi alma oranları daha yüksek bulunmakla birlikte, bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır ($p>0,05$).

Tedavi sonrası metastaz veya nüks gelişen hastalarda, gelişmeyen hastalar ile karşılaştırıldıklarında daha sıklıkla VEGF ekspresyonu görülmüştür ancak bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.10).

VEGF ekspresyonu ile hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki

Hastaların VEGF ekspresyonları ile sigara içme süre ve miktarları, sigarayı bıraktıktan sonra geçen süre arasındaki ilişki, ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki tablo 4.11’de verilmiştir. Tabloda görüldüğü üzere, VEGF ekspresyon pozitifliği ile ortalama sigara içme süre ve miktarı arasında negatif anlamlı ilişki bulunmuştur ($p<0,01$ ve $p<0,05$). Buna göre daha uzun süre ve daha çok miktarda sigara tüketmiş kişilerde, daha düşük oranda VEGF pozitif ekspresyonu görüldü. Ayrıca sigarayı bırakmış hastalarda, daha uzun süredir sigara içmeyen kişilerde, daha kısa zaman önce sigarayı bırakmış hastalar ile karşılaştırıldıklarında pozitif VEGF ekspresyon oranı fazla bulunmuştur ($p=0,05$).

Tablo 4.11. VEGF ekspresyonu ile hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki

| VEGF ekspresyonu | Ortalama sigara içme süresi (yıl)±SD | Paket/yıl ± SD | Sigarayı bıraktıktan sonra geçen süre (ay)±SD | Survey (ay) ±SD |
|-------------------------|---|-----------------------|--|------------------------|
| 0 | 40,9±9,2 | 57,1±28 | 6,5±1,7 | 38,5±18,8 |
| 1 | 33,7±12 | 43,8±25,3 | 11±8,7 | 29,4±16,5 |
| p | <0,01 | <0,05 | =0,05 | <0,05 |

Tablo 4.11’de görüldüğü üzere, VEGF ekspresyon pozitif olan hastaların ortalama yaşam ömrü 29,4±16,5 ay iken, VEGF ekspresyonu negatif olan hastalarda bu süre 38,5±18,8 aydır. Sonuç olarak VEGF ekspresyonu pozitif olan hastaların ortalama yaşam ömrü, VEGF negatif hastalardan anlamlı olarak kısa bulunmuştur ($p<0,05$).

VEGF ekspresyonu ve hastaların 3 yıllık survey değerleri

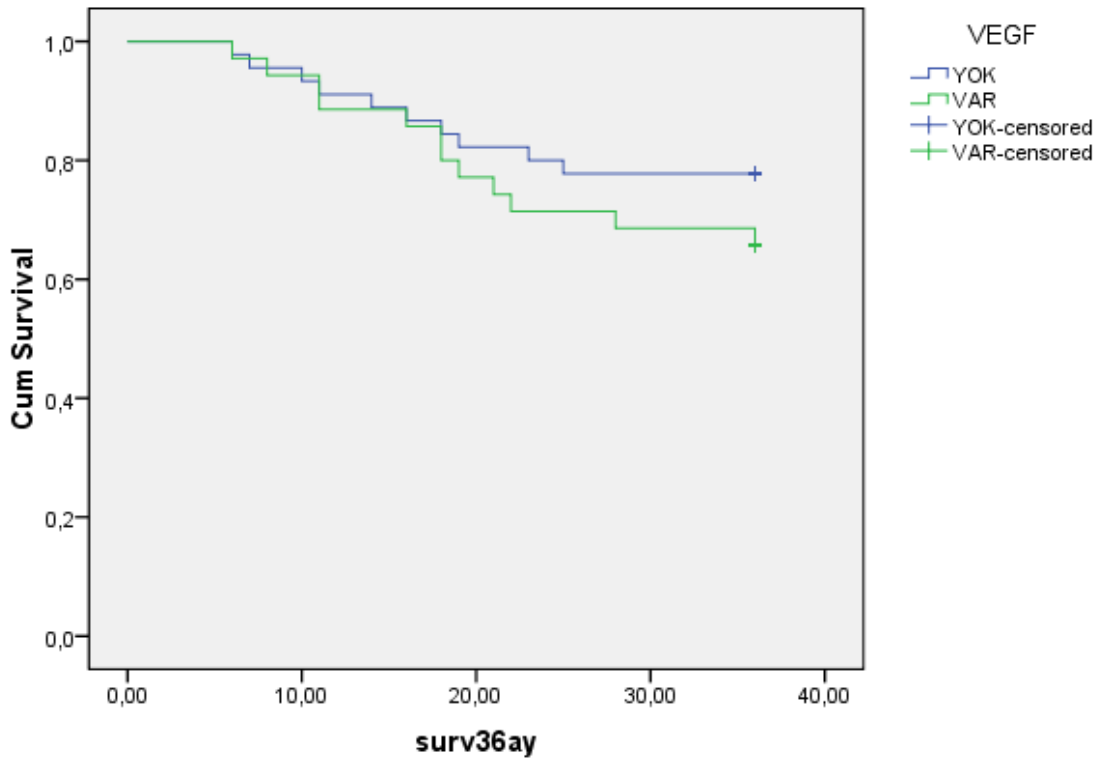
VEGF ekspresyonu olan hastaların 3 yıllık surveyi %65 iken, bu oran VEGF ekspresyonu olmayan hastalarda %77 olarak bulunmuştur. VEGF ekspresyonu izlenen hastalarda 3 yıllık survey, ekspresyon izlenmeyen hastalardan daha düşük olmakla birlikte, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.6).

VEGF ekspresyonu ile TAM yoğunluğu arasındaki ilişki

VEGF ekspresyonu pozitif olan hastalarda, negatif olan hastalar ile karşılaştırıldığında, tümörü infiltre eden tümör ilişkili makrofaj sayısı anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur ($r=0,226$, $p<0,05$) (Tablo 4.12.).

VEGF ekspresyonu ile CD4+ ve CD8+ T lenfosit yoğunluğu arasındaki ilişki

VEGF ekspresyon pozitifliği ile tümörü infiltre eden CD4+ ve CD8+ T lenfosit yoğunluğu arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 4.12.)



Şekil 4.6. VEGF ekspresyonu ile hastaların 3 yıllık survey ilişkisi

Tablo 4.12. VEGF antikoru ile diğer immünohistokimyasal bulgular arasındaki ilişki

| VEGF Ekspresyonu | TAM yoğunluğu | | | CD4+ T lenfosit yoğunluğu | | CD8+ T lenfosit yoğunluğu | | Toplam |
|------------------|---------------|-------------|-------------|---------------------------|-------------|---------------------------|-------------|--------|
| | 1+ | 2+ | 3+ | ≤%5 | 5< | ≤%5 | 5< | |
| 0 | 20 %44,4 | 11 %24,4 | 14 %31,1 | 32 %71,1 | 13 %28,9 | 25 %55,6 | 20 %45,5 | 45 |
| 1 | 8 %22,9 | 10 %28,6 | 17 %48,6 | 25 %71,4 | 10 %28,6 | 11 %31,4 | 24 %54,5 | 35 |
| r | =0,226 | | | =0,088 | | =0,214 | | |
| p | <0,05 | | | >0,05 | | <0,05 | | |

4.3.3. Yüksek SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ve buna eşlik eden VEGF antikoru pozitifliği görülen hastaların sonuçları

Tablo 4.13’de görüldüğü üzere, SPAG9 ekspresyonu yüksek olan ve buna eşlik eden VEGF antikoru pozitifliği görülen hastalarda lenf nodu metastazı varlığı (p=0,001), uzak organ metastazı varlığı (p<0,05), ileri klinik evre (p<0,01), vasküler invazyon varlığı (p<0,05), post-op KT alma oranı (p<0,001), post-op RT alma oranı (p=0,01) ve tedavi sonrası metastaz gelişimi (p<0,05) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki bulunmuştur. Ayrıca SHK’lu olgular ile karşılaştırıldığında, non-SHK’lu olgularda daha yüksek oranda ve anlamlı olarak SPAG9 yüksek ekspresyonu+VEGF pozitif ekspresyonu görülmüştür (p<0,001). Ancak hastaların patolojik T evresi arttıkça daha yüksek oranda SPAG9 yüksek ekspresyonu+VEGF pozitif ekspresyonu görülmekle birlikte bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,05) (Tablo 4.13).

Yüksek SPAG9 ekspresyonu+VEGF pozitif ekspresyonu birlikteliği ile hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki

Yüksek SPAG9 ekspresyonu ve VEGF pozitif ekspresyonunu birlikte gösteren olgular, birliktelik göstermeyen olgulara göre daha az süre ve miktarda sigara içmiş olup, bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,01) (Tablo 4.14). Ayrıca hastalarda yüksek SPAG9 ekspresyonu ve VEGF pozitif ekspresyon birlikteliği görülme oranı arttıkça, hastaların ortalama yaşam ömrünün anlamlı şekilde daha kısaldığı bulunmuştur (p=0,01) (Tablo 4.14).

Tablo 4.13. SPAG9 yüksek ekspresyonu+VEGF pozitif ekspresyon varlığı ile hastaların klinikopatolojik bulguları arasındaki ilişki

| | | Yüksek SPAG 9+ VEGF(+) | | Toplam n | p |
|----------------------------------|---------|------------------------|------------|----------|--------|
| | | Var n (%) | Yok n (%) | | |
| Histolojik tip 1 | SHK | 36 (%100) | 0 (-) | 36 | <0,001 |
| | AK | 24 (%66,7) | 12 (%33,3) | 36 | |
| | BHK | 4 (%66,7) | 2 (%33,3) | 6 | |
| | ASK | 1 (%50) | 1 (%50) | 2 | |
| Histolojik tip 2 | SHK | 36 (%100) | 0 (-) | 36 | <0,001 |
| | Non-SHK | 29 (%65,9) | 15 (%34,1) | 44 | |
| Patolojik T evresi | T1 | 28 (%90,3) | 3 (%9,7) | 31 | >0,05 |
| | T2a | 25 (%84,1) | 5 (%17,9) | 28 | |
| | T2b, T3 | 14 (%66,7) | 7 (%33,3) | 21 | |
| Lenf nodu metastazı (N) | Yok | 45 (%93,8) | 3 (%6,3) | 48 | =0,001 |
| | Var | 20 (%62,5) | 12 (%37,5) | 32 | |
| Uzak organ Metastazı (M) | Yok | 65 (%83,3) | 13 (%16,7) | 78 | <0,05 |
| | Var | 0 (-) | 2 (%100) | 2 | |
| Klinik evre | 1 | 32 (%100) | 0 (-) | 32 | <0,01 |
| | 2 | 30 (%93,8) | 2 (%6,3) | 32 | |
| | 3+4 | 3 (%18,8) | 13 (%81,3) | 14 | |
| Vasküler İnvazyon Varlığı | Yok | 38 (%97,4) | 1 (%2,6) | 39 | <0,05 |
| | Var | 27 (%65,9) | 14 (%34,1) | 41 | |
| Post-op KT hikayesi | Yok | 40 (%100) | 0 (-) | 40 | <0,001 |
| | Var | 25 (%62,5) | 15 (%37,5) | 40 | |
| Post-op RT hikayesi | Yok | 61 (%85,9) | 16 (%14,1) | 71 | =0,01 |
| | Var | 4 (%44,4) | 5 (%55,6) | 9 | |
| Tedavi sonrası Metastaz gelişimi | Yok | 56 (%86,2) | 9 (%13,8) | 65 | <0,05 |
| | Var | 9 (%60) | 6 (%40) | 15 | |
| Tedavi sonrası Nüks gelişimi | Yok | 61 (%82,4) | 13 (%17,6) | 74 | >0,05 |
| | Var | 4 (%66,7) | 2 (%33,3) | 6 | |

(SHK: Skuamöz hücreli karsinom, non-SHK: Non-skuamöz hücreli karsinom, BHK: Büyük hücreli karsinom, ASK: Adenoskuamöz karsinom)

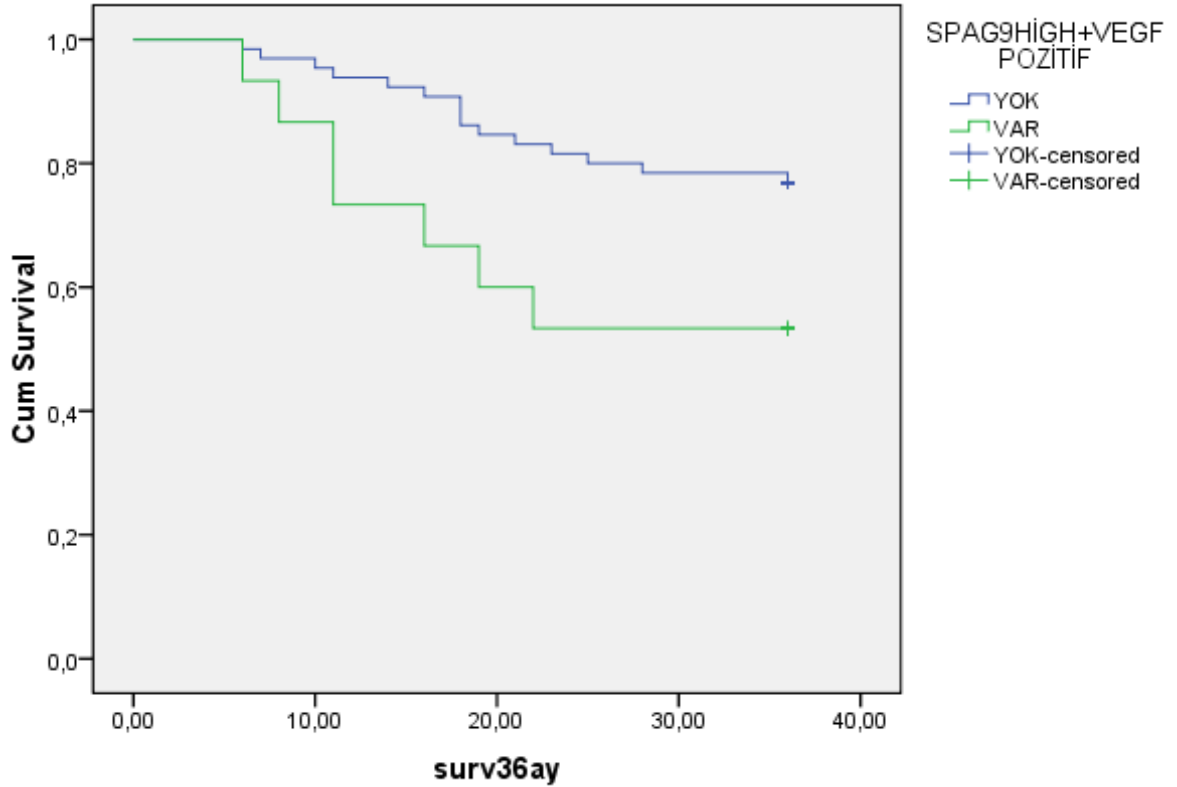
Yüksek SPAG9 ekspresyonu+VEGF pozitif ekspresyonu birlikteliği ve hastaların 3 yıllık survey değerleri

Yüksek SPAG9 ekspresyonu ile birlikte VEGF ekspresyon pozitifliği görülen hastalarda 3 yıllık survey %53 iken, görülmeyen hastalarda %77 olarak bulunmuştur. Buna göre yüksek SPAG9 ekspresyonu+VEGF pozitif ekspresyonu görülmesi ile 3 yıllık survey arasında anlamlı negatif ilişki saptanmıştır ($p<0,05$) (Şekil 4.7).

Tablo 4.14. SPAG9 yüksek ekspresyonu+VEGF pozitif ekspresyonu birlikteliği ile

hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki

| ↑SPAG9 + VEGF (+) birlikteliği | Ortalama sigara içme süresi (yıl)±SD | Paket/yıl ± SD | Sigarayı bıraktıktan sonra geçen süre (ay)±SD | Survey (ay) ±SD |
|--------------------------------|--------------------------------------|----------------|---|-----------------|
| Yok | 40,2±9,4 | 55,4±27,4 | 7,7±6,3 | 37,2±17,5 |
| Var | 26,6±11,6 | 32,6±19,4 | 15,2±10,5 | 23,8±17,4 |
| p | <0,001 | <0,01 | <0,05 | =0,01 |



Şekil 4.7. SPAG9 yüksek ekspresyonu+VEGF ekspresyonu birlikteliği ile hastaların

3 yıllık survey ilişkisi

4.3.4. CD68 antikoruna Sonuçları

Tümörü infiltrate eden TAM yoğunluğu ve klinikopatolojik bulgular arasındaki ilişki

KHDAK tanısı almış 80 hastanın 28'inin(%35) tümör dokusunda 1+, 21'inin (%26,3) tümör dokusunda 2+ ve 31'inin (%38,8) tümör dokusunda ise 3+ TAM yoğunluğu izlenmiştir.

Tablo 4.15. Hastaların klinik parametreleri ve tümördeki TAM yoğunluğu arasındaki ilişki

| | | TAM yoğunluğu | | | Toplam | p |
|----------------------------------|---------|---------------|--------------|--------------|--------|--------|
| | | 1+ (n, %) | 2+ (n, %) | 3+ (n, %) | | |
| Histolojik tip 1 | SHK | 14 (%38,9) | 8 (%22,2) | 14 (%38,9) | 36 | >0,05 |
| | AK | 13 (%36,1) | 11 (%30,6) | 12 (%33,3) | 36 | |
| | BHK | 1 (%16,7) | 1 (%16,7) | 4 (%66,7) | 6 | |
| | ASK | 0 (-) | 1 (%50) | 1 (%50) | 2 | |
| Histolojik tip 2 | SHK | 14 (%38,9) | 8 (%22,2) | 14 (%38,9) | 36 | >0,05 |
| | Non-SHK | 14 (%31,8) | 13 (%29,6) | 17 (%38,6) | 44 | |
| Patolojik T evresi | T1 | 15 (%48,4) | 10 (%32,3) | 6 (%19,4) | 31 | <0,05 |
| | T2 | 10 (%27) | 7 (%18,9) | 20 (%54,1) | 37 | |
| | T3 | 3 (%35) | 4 (%26,3) | 5 (%38,8) | 12 | |
| Lenf nodu metastazı (N) | Yok | 2 (%6,3) | 7 (%21,9) | 23 (%71,9) | 32 | <0,001 |
| | Var | 26 (%54,2) | 14 (%29,2) | 8 (%16,7) | 48 | |
| Klinik evre (TNM) | 1 | 20 (%62,5) | 11 (%34,4) | 1 (%3,1) | 32 | <0,001 |
| | 2 | 7 (%21,9) | 8 (%25) | 17 (%53,1) | 32 | |
| | 3 | 0 (-) | 2 (%14,3) | 12 (%85,7) | 14 | |
| | 4 | 1 (%50) | 0 (-) | 1 (%50) | 2 | |
| Vasküler invazyon varlığı | Yok | 16 (%41) | 11 (%28,2) | 12 (%30,8) | 29 | >0,05 |
| | Var | 12 (%29,3) | 10 (%24,4) | 19 (%46,3) | 41 | |
| Post-op KT hikayesi | Yok | 19 (%47,5) | 13 (%32,5) | 8 (%20) | 40 | =0,001 |
| | Var | 9 (%22,5) | 8 (%20) | 13 (%57,5) | 40 | |
| Post-op RT hikayesi | Yok | 27 (%38) | 20 (%28,2) | 24 (%33,8) | 71 | =0,02 |
| | Var | 1 (%11,1) | 1 (%11,1) | 7 (%77,8) | 9 | |
| Tedavi sonrası Metastaz gelişimi | Yok | 24 (%36,9) | 19 (%29,2) | 22 (%33,8) | 65 | >0,05 |
| | Var | 4 (%26,7) | 2 (%13,3) | 9 (%60) | 15 | |
| Tedavi sonrası Nüks gelişimi | Yok | 28 (%37,8) | 17 (%23) | 29 (%39,2) | 74 | >0,05 |
| | Var | 0 (-) | 4 (%66,7) | 2 (%33,3) | 6 | |

(SHK: Skuamöz hücreli karsinom, non-SHK: Non-skuamöz hücreli karsinom, BHK: Büyük hücreli karsinom, ASK: Adenoskuamöz karsinom)

Hastaların TAM yoğunluğu ile klinikopatolojik parametreleri arasındaki ilişki tablo 4.15'de gösterilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi, SHK'lu olguların %38'inde düşük TAM yoğunluğu görülürken, %38,9'unda ise yüksek TAM yoğunluğu görülmüştür. Non-SHK'lu

olguların ise %31,8'inde düşük TAM yoğunluğu ve %38,6'sında yüksek TAM yoğunluğu saptanmıştır. Bu bulgular ile tümörün histolojik tipi ile tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Patolojik tümör evresi T1 olan 31 hastanın 15 tanesinde (%48,4) 1+, 10 tanesinde (%32,3) 2+ ve 6 tanesinde (%19,4) 3+ TAM yoğunluğu görüldü. İleri tümör evresi olan 21 hastanın ise (T2b+T3) 4 tanesinde (%19) 1+, 4 tanesinde (%19) 2+ ve 13 tanesinde (%61,9) 3+ TAM yoğunluğu saptandı. Hastanın patolojik T evresi arttıkça, TAM yoğunluğunda da istatikselsel olarak anlamlı artış olduğu görüldü ($p<0,05$) (Tablo 4.15).

Lenf nodu pozitifliği olan 32 hastanın 23 tanesinde (%71,9) yüksek TAM yoğunluğu (3+) izlenirken, lenf nodu pozitifliği olmayan 48 hastanın sadece 8 tanesinde (%16,7) yüksek TAM yoğunluğu (3+) görüldü. Bu bulgular ile lenf nodu metastazı varlığı ile tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu arasında pozitif olarak anlamlı ilişki bulundu ($p<0,001$) (Tablo 4.15).

Klinikopatolojik evrelerine göre bakıldığında, evre 1 hastaların 1 tanesi (%3,1) 3+ TAM yoğunluğuna sahipken, evre 2 olan 32 hastanın 17'sinde (%53,1) ve evre 3+4 olan 16 hastanın ise 13'ünde (%81,3) 3+ TAM yoğunluğu izlendi. Hastanın klinikopatolojik evresi ilerledikçe, primer tümörü infiltre eden TAM yoğunluğunda da artış izlenmiş olup TAM yoğunluğu ve hastaların klinikopatolojik evreleri arasında istatikselsel olarak pozitif anlamlı ilişki bulundu ($p<0,001$) (Tablo 4.15).

Tablo 4.15'de anlaşıldığı gibi, vasküler invazyon izlenmeyen olgularda, vasküler invazyon izlenen olgular ile karşılaştırıldıklarında daha düşük TAM yoğunluğu izlenmiştir ancak bu bulgular istatikselsel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

TAM yoğunluğu yüksek olan (3+) hastaların %61,9'u operasyon sonrası post-op kemoterapi almış olup, TAM yoğunluğu düşük olan hastaların ise %38,1'i operasyon sonrası post-op kemoterapi almıştır. Bu bulgular ile, TAM yoğunluğu ile post-op KT alma oranı arasında pozitif anlamlı ilişki görülmüştür ($p=0,001$) (Tablo 4.15).

Post-op RT tedavisi almış olan hastaların %77,8'inin primer tümörlerinde 3+ TAM yoğunluğu görülmüştür. Ancak post-op RT tedavisi almayan olguların ise %33,8'inde 3+ TAM yoğunluğu saptanmıştır. Bu bulgular ile, tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu ile post-op RT alma oranı arasında pozitif anlamlı ilişki görülmüştür ($p=0,02$) (Tablo 4.15).

Tedavi sonrası metastaz gelişen olguların %60'ının primer tümöründe 3+ TAM yoğunluğu saptanmış olup, bu oran metastaz gelişmeyen olgularda %33,8'dir. Tedavi sonrası metastaz gelişen olgularda daha yüksek TAM yoğunluğu görülmekle birlikte bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.15).

Tablo 4.15'de görüldüğü şekilde, tedavi sonrası nüks gelişen hastalar ile nüks gelişmeyen hastaların primer tümörlerindeki TAM yoğunluğu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

TAM yoğunluğu ile hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki

Hastalardaki tümörü infiltre eden TAM yoğunlukları ile sigara içme süre ve miktarları, sigarayı geçen süre bıraktıktan sonra arasındaki ilişki, ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki tablo 4.16'da verilmiştir. Tabloda görüldüğü üzere, TAM yoğunluğu ile ortalama sigara içme süre ve miktarları, sigarayı bıraktıktan sonra geçen süre arasında anlamlı farklılıklar görülmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.16'da görüldüğü üzere, TAM yoğunluğu yüksek (3+) olan hastaların ortalama yaşam ömrü $27,3\pm 18,4$ ay iken, TAM yoğunluğu düşük (1+) olan hastalarda bu süre $39,7\pm 17,4$ aydır. Sonuç olarak tümördeki TAM yoğunluğu arttıkça, ortalama yaşam ömrünün anlamlı şekilde kısaldığı bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 4.16. TAM yoğunluğu ile hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki

| TAM yoğunluğu | Ortalama sigara içme süresi (yıl)\pmSD | Paket/yıl \pm SD | Sigarayı bıraktıktan sonra geçen süre (ay)\pmSD | Survey (ay) \pmSD |
|----------------------|--|--------------------------------------|---|---------------------------------------|
| 1+ | 40 \pm 9,7 | 55,6 \pm 22 | 9,3 \pm 8,5 | 39,7 \pm 17,4 |
| 2+ | 38,5 \pm 11,4 | 42,8 \pm 18,3 | 9 \pm 8,2 | 36,6 \pm 17,1 |
| 3+ | 35,6 \pm 11,7 | 53,7 \pm 35,1 | 7,3 \pm 3,9 | 27,3 \pm 18,4 |
| p | >0,05 | >0,05 | >0,05 | <0,05 |

TAM yoğunluğu ve hastaların 3 yıllık survey değerleri

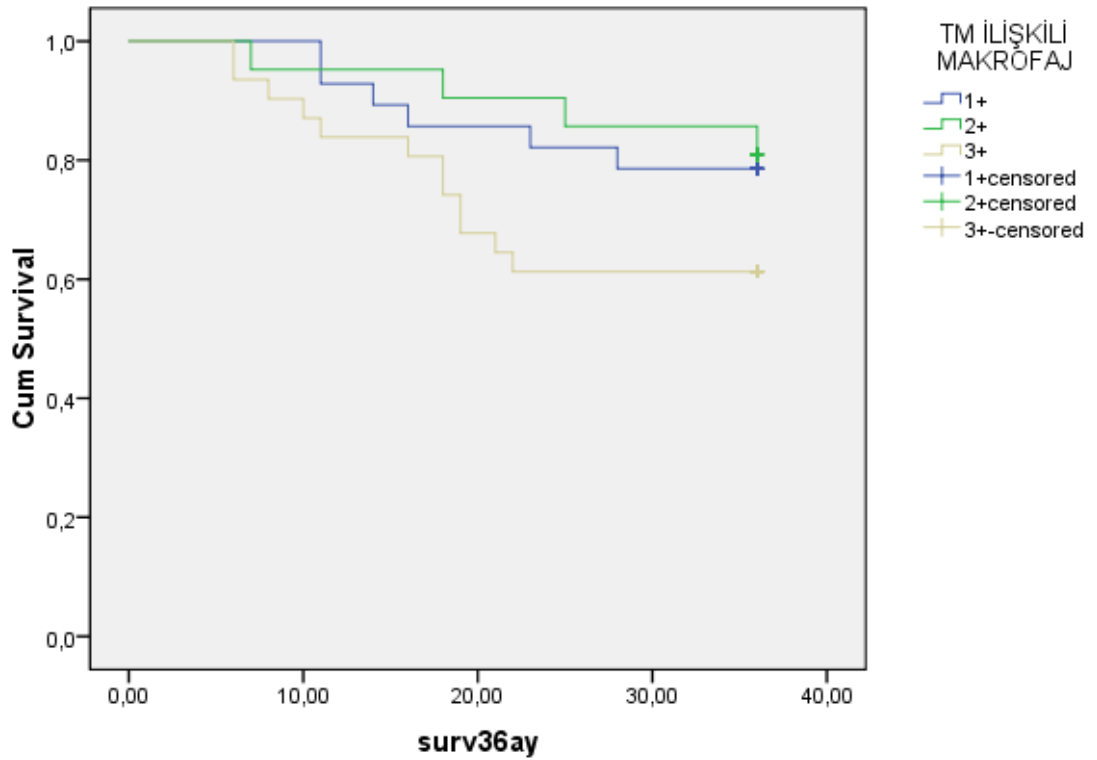
Tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu 1+ olan hastaların 3 yıllık surveyi %78, 2+ olan hastaların %81 ve 3+ olan hastaların ise %61 bulunmuştur. Bu bulgular ile TAM

yoğunluğu yüksek olan hastaların 3 yıllık surveyi, TAM yoğunluğu düşük olan hastalardan kısa olmakla birlikte, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.8).

TAM yoğunluğu ile CD4+ ve CD8+ T lenfosit yoğunluğu arasındaki ilişki

Tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu arttıkça, tümörü infiltre eden CD8+ T lenfosit sayısının da anlamlı olarak arttığı görüldü ($r=0,285$, $p=0,01$) (Tablo 4.17).

Ancak TAM yoğunluğu ile tümörü infiltre eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($r=0,15$, $p>0,05$) (Tablo 4.17)



Şekil 4.8. Tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu ile hastaların 3 yıllık survey ilişkisi

Tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu ile SPAG9 yüksekliği+VEGF pozitifliği birlikte görülmesi arasındaki ilişki

Tablo 4.17’de izlendiği gibi, TAM yoğunluğu daha yüksek olan hastalarda, düşük olan hastalar ile karşılaştırıldığında SPAG9 ekspresyon yüksekliği ve VEGF pozitifliğinin birlikte görülme oranı anlamlı olarak artmaktadır ($r=0,315$, $p<0,01$).

Tablo 4.17. TAM yoğunluğu ile diğer immünohistokimyasal bulgular arasındaki ilişki

| TAM yoğunluğu | CD4+ T lenfosit yoğunluğu | | CD8+ T lenfosit yoğunluğu | | ↑SPAG9 ekspresyonu+ VEGF + ekspresyon birlikteliği | | Toplam |
|---------------|---------------------------|-------------|---------------------------|-------------|--|-------------|--------|
| | ≤%5 | 5< | ≤%5 | 5< | 0 | 1 | |
| 1+ | 21 %75 | 7 %25 | 19 %67,9 | 9 %32,1 | 26 %92,9 | 2 %7,1 | 28 |
| 2+ | 18 %85,7 | 3 %14,3 | 10 %47,6 | 11 %52,4 | 19 %90,5 | 2 %9,5 | 21 |
| 3+ | 18 %58,1 | 13 %41,9 | 7 %22,6 | 24 %77,4 | 20 %64,5 | 11 %35,5 | 31 |
| r | =0,150 | | =0,285 | | =0,315 | | |
| p | >0,05 | | =0,01 | | <0,01 | | |

4.3.5. CD4 Antikoru Sonuçları

Tümörü infiltre eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu ve klinikopatolojik bulgular arasındaki ilişki

Hastaların tümör dokularındaki CD4+ T lenfosit yoğunluğu ile klinik parametreler arasındaki ilişki tablo 4.18’de verilmiştir. Buna göre, tümörün histolojik alt tipi, patolojik tümör evresi, lenf nodu ve uzak organ metastazı varlığı, hastanın klinikopatolojik evresi, vasküler invazyon varlığı, tedavi sonrası KT ve RT alması, tedavi sonrası nüks ve metastaz gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

Tümörü infiltre eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu ile hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki

Hastalardaki tümörü infiltre eden CD4+ T lenfosit yoğunlukları ile sigara içme süre ve miktarları, sigarayı bıraktıktan sonra geçen süre ve hastaların ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki tablo 4.19’da verilmiştir. Tabloda görüldüğü üzere, CD4+ T lenfosit yoğunluğu ile ortalama sigara içme süre ve miktarları, sigarayı bıraktıktan sonra geçen süre arasında anlamlı farklılıklar görülmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.19’da görüldüğü üzere, CD4+ T lenfosit yoğunluğu düşük ($\leq\%5$) olan hastaların ortalama yaşam ömrü $35,8\pm 17,7$ ay iken, CD4+ T lenfosit yoğunluğu yüksek ($>\%5$) olan hastalarda bu süre $30,4\pm 19,6$ aydır. Bu bulgular ile, tümörü infiltre eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu ile hastaların ortalama yaşam ömrü arasında anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.18. Hastaların klinik parametreleri ve tümördeki CD4+ T lenfosit yoğunluğu arasındaki ilişki

| | | CD4+ T lenfosit yoğunluğu | | Toplam | p |
|----------------------------------|---------|---------------------------|-------------|--------|-------|
| | | ≤5 n (%) | >5 n (%) | | |
| Histolojik Tip 1 | SHK | 26 (%72,2) | 10 (%27,8) | 36 | >0,05 |
| | AK | 25 (%69,4) | 11 (%30,6) | 36 | |
| | BHK | 4 (%66,7) | 2 (%33,3) | 6 | |
| | ASK | 2 (%100) | 0 (-) | 2 | |
| Histolojik Tip 2 | SKH | 26 (%72,2) | 10 (%43,5) | 36 | >0,05 |
| | Non-SKH | 31 (%70,5) | 13 (%29,5) | 44 | |
| Patolojik T evresi | T1 | 25 (%80,6) | 6 (%19,4) | 31 | >0,05 |
| | T2a | 19 (%67,9) | 9 (%32,1) | 28 | |
| | T2b+T3 | 13 (%61,9) | 8 (38,1) | 21 | |
| Lenf nodu metastazı (N) | Yok | 35 (%72,9) | 13 (%27,1) | 48 | >0,05 |
| | Var | 22 (%68,8) | 10 (%31,3) | 32 | |
| Uzak organ metastazı (M) | Yok | 55 (%70,5) | 23 (%29,5) | 78 | >0,05 |
| | Var | 2 (%100) | 0 (-) | 2 | |
| Klinik evre (TNM) | 1 | 24 (%75) | 8 (%25) | 32 | >0,05 |
| | 2 | 24 (%75) | 8 (%25) | 32 | |
| | 3+4 | 9 (%56,3) | 7 (%43,8) | 14 | |
| Vasküler invazyon | Yok | 30 (%76,9) | 9 (%23,1) | 39 | >0,05 |
| | Var | 27 (%65,9) | 14 (%34,1) | 41 | |
| Post-op KT hikayesi | Yok | 31 (%77,5) | 9 (%22,5) | 40 | >0,05 |
| | Var | 26 (%65) | 14 (%35) | 40 | |
| Post-op KT hikayesi | Yok | 50 (%70,4) | 21 (%29,6) | 71 | >0,05 |
| | Var | 7 (%77,8) | 2 (%22,2) | 9 | |
| Tedavi sonrası metastaz gelişimi | Yok | 46 (%70,8) | 19 (%29,2) | 65 | >0,05 |
| | Var | 11 (%73,3) | 4 (%26,7) | 15 | |
| Tedavi sonrası nüks gelişimi | Yok | 52 (%70,3) | 22 (%29,7) | 78 | >0,05 |
| | Var | 5 (%83,3) | 1 (%16,7) | 6 | |

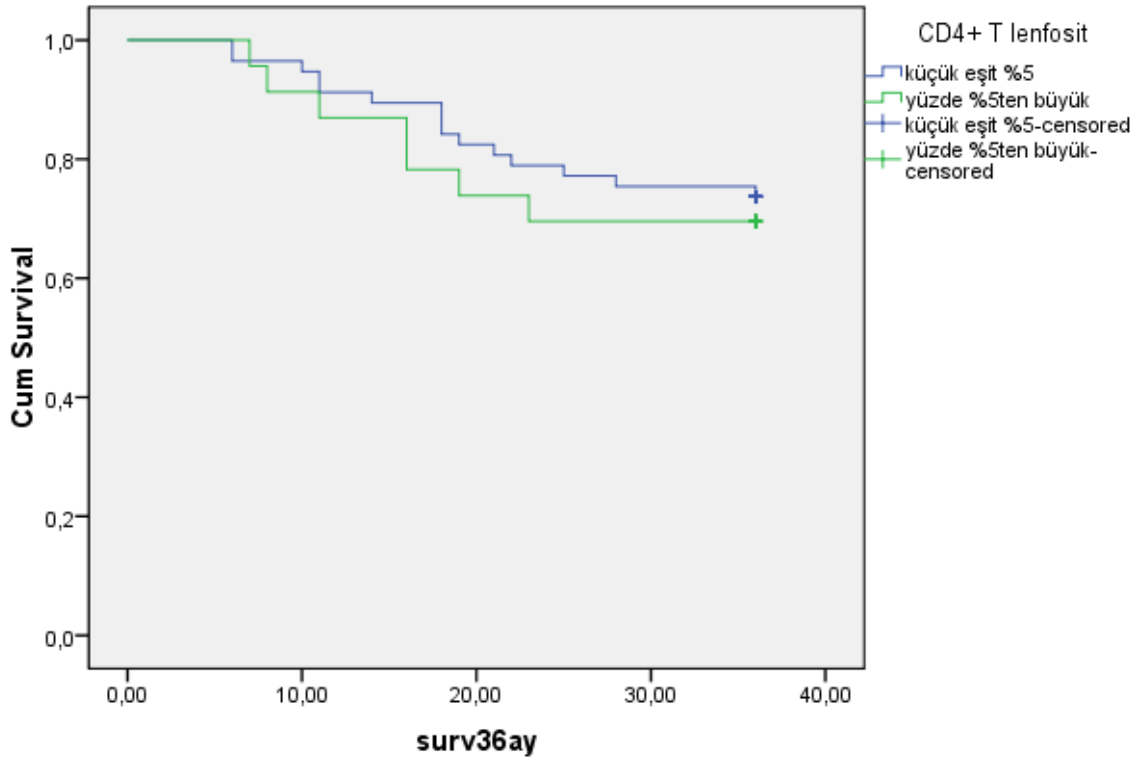
(SHK: Skuamöz hücreli karsinom, non-SHK: Non-skuamöz hücreli karsinom, BHK: Büyük hücreli karsinom, ASK: Adenoskuamöz karsinom)

Tablo 4.19. Tümörü infiltre eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu ile hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki

| CD4+ T lenfosit yoğunluğu | Ortalama sigara içme süresi (yıl)±SD | Paket/yıl ± SD | Sigarayı bıraktıktan sonra geçen süre (ay)±SD | Survey (ay) ±SD |
|---------------------------|--------------------------------------|----------------|---|-----------------|
| ≤%5 | 38,2±10,9 | 53,7±29,5 | 9,6±7,7 | 35,8±17,7 |
| %5< | 36,7±11,6 | 45,9±21,7 | 6±4,6 | 30,4±19,6 |
| p | >0,05 | >0,05 | >0,05 | >0,05 |

Tümörü infiltre eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu ve hastaların 3 yıllık survey değerleri

Tümörü infiltre eden CD4 T lenfosit yoğunluğu düşük olan hastalardaki 3 yıllık survey %73 iken, bu oran CD4 T lenfosit yoğunluğu yüksek olan hastalarda %69 olarak bulunmuştur. Tümörü infiltre eden CD4 T lenfosit yoğunluğu ile 3 yıllık survey arasında negatif bir ilişki görülmekle birlikte, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.9)



Şekil 4.9. Tümörü infiltre eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu ile hastaların 3 yıllık survey ilişkisi

Tümörü infiltre eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu ile CD8+ T lenfosit yoğunluğu arasındaki ilişki

Tümörü infiltre eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu düşük olan hastaların %47,3'ünde düşük CD8+ T lenfosit sayısı görülürken, %52,6'sında ise yüksek CD8+ T lenfosit izlenmiştir. Bununla birlikte CD4+ T lenfosit yoğunluğu yüksek olan hastaların ise %39,1'inde düşük, %60,9'unda yüksek CD8+ T lenfosit yoğunluğu izlenmiştir. Bu bulgular ile, tümörü infiltre eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu ve CD8+ T lenfosit yoğunluğu arasında pozitif anlamlı ilişki saptanmıştır ($r=0,248$, $p<0,05$) (Tablo 4.20).

Tümörü infiltrate eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu ile SPAG9 yüksekliği+VEGF pozitifliği birlikte görülmesi arasındaki ilişki

Tablo 4.20’de görüldüğü gibi, tümörü infiltrate eden CD4+ T lenfosit sayısı yüksek olan hastalarda, düşük hastalar ile karşılaştırıldığında, yüksek SPAG9 ekspresyonu ve VEGF pozitif ekspresyonunun birlikteliğinin daha yüksek oranda görülmektedir. Ancak bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($r=0,12$, $p>0,05$).

Tablo 4.20. Tümörü infiltrate eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu ile diğer

immünohistokimyasal bulgular arasındaki ilişki

| CD4+ T lenfosit yoğunluğu | CD8+ T lenfosit yoğunluğu | | ↑SPAG9 ekspresyonu+ VEGF + ekspresyon birlikteliği | | Toplam |
|---------------------------|---------------------------|-------------|--|------------|--------|
| | ≤%5 | 5< | 0 | 1 | |
| ≤%5 | 27 %47,3 | 30 %52,6 | 49 %86 | 8 %14 | 57 |
| ≤%5 | 9 %39,1 | 14 %60,9 | 16 %69,6 | 7 %30,4 | 23 |
| r | =0,248 | | =0,12 | | |
| p | <0,05 | | >0,05 | | |

4.3.6. CD8 Antikoru Sonuçları

Tümörü infiltrate eden CD8+ T lenfosit yoğunluğu ve klinikopatolojik bulgular arasındaki ilişki

Hastaların tümör dokularındaki CD8+ T lenfosit yoğunluğu ile klinik parametreler arasındaki ilişki tablo 4.21’de verilmiştir. Buna göre tümörün histolojik alt tipi, patolojik tümör evresi, lenf nodu ve uzak organ metastazı varlığı, hastanın klinikopatolojik evresi, vasküler invazyon varlığı, tedavi sonrası KT ve RT alması, tedavi sonrası nüks ve metastaz gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

Tümörü infiltrate eden CD8+ T lenfosit yoğunluğu ile hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki

Hastalardaki tümörü infiltrate eden CD8+ T lenfosit yoğunlukları ile sigara içme süre ve miktarları, sigarayı bıraktıktan sonra geçen süre ve hastaların ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki tablo 4.22’de verilmiştir. Tabloda görüldüğü üzere, CD8+ T lenfosit

yoğunluğu ile ortalama sigara içme süre ve miktarları, sigarayı bıraktıktan sonra geçen süre arasında anlamlı farklılıklar görülmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.22’de görüldüğü üzere, CD8+ T lenfosit yoğunluğu düşük (≤ 5) olan hastaların ortalama yaşam ömrü $36,2\pm 19,2$ ay iken, CD8+ T lenfosit yoğunluğu yüksek (>5) olan hastalarda bu süre $32,8\pm 17,6$ aydır. Bu bulgular ile, tümörü infiltre eden CD8+ T lenfosit yoğunluğu ile hastaların ortalama yaşam ömrü arasında anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.21. Hastaların klinik parametreleri ve tümördeki CD8+ T lenfosit yoğunluğu arasındaki ilişki

| | | CD8+ T lenfosit yoğunluğu | | Toplam | p |
|----------------------------------|----------|---------------------------|---------------|--------|---------|
| | | ≤ 5 n (%) | >5 n (%) | | |
| Histolojik Tip 1 | SHK | 18 (%50) | 18 (%50) | 36 | $>0,05$ |
| | AK | 17 (%47,2) | 19 (%52,8) | 36 | |
| | BHK | 1 (%16,7) | 5 (%33,3) | 6 | |
| | ASK | 0 (-) | 2 (%100) | 2 | |
| Histolojik Tip 2 | SKH | 18 (%50) | 18 (%50) | 36 | $>0,05$ |
| | Non-SKH | 18 (%40,9) | 26 (%59,1) | 44 | |
| Patolojik T evresi | T1a, T1b | 15 (%48,4) | 16 (%51,6) | 31 | $>0,05$ |
| | T2a | 13 (%46,4) | 15 (%53,6) | 37 | |
| | T2b+T3 | 8 (%38,1) | 13 (%61,9) | 12 | |
| Lenf nodu metastazı (N) | Yok | 23 (%47,9) | 25 (%52,1) | 48 | $>0,05$ |
| | Var | 13 (%40,6) | 19 (%59,4) | 32 | |
| Uzak organ metastazı (M) | Yok | 35 (%44,9) | 43 (%55,1) | 78 | $>0,05$ |
| | Var | 1 (%50) | 1 (%50) | 2 | |
| Klinik evre (TNM) | 1 | 15 (%46,9) | 17 (%53,1) | 32 | $>0,05$ |
| | 2 | 16 (%50) | 16 (%50) | 32 | |
| | 3+4 | 5 (%31,3) | 11 (%68,8) | 16 | |
| Vasküler invazyon varlığı | Yok | 19 (%48,7) | 20 (%51,3) | 39 | $>0,05$ |
| | Var | 17 (%41,5) | 24 (%58,5) | 41 | |
| Post-op kemoterapi hikayesi | Yok | 16 (%40) | 24 (%60) | 40 | $>0,05$ |
| | Var | 20 (%50) | 20 (%50) | 40 | |
| Post-op radyoterapi hikayesi | Yok | 34 (%47,9) | 37 (%52,1) | 71 | $>0,05$ |
| | Var | 2 (%22,2) | 7 (%77,8) | 9 | |
| Tedavi sonrası metastaz gelişimi | Yok | 29 (%44,6) | 36 (%55,4) | 65 | $>0,05$ |
| | Var | 7 (%46,7) | 8 (%53,3) | 15 | |
| Tedavi sonrası nüks gelişimi | Yok | 33 (%44,6) | 41 (%65,4) | 74 | $>0,05$ |
| | Var | 3 (%50) | 3 (%50) | 6 | |

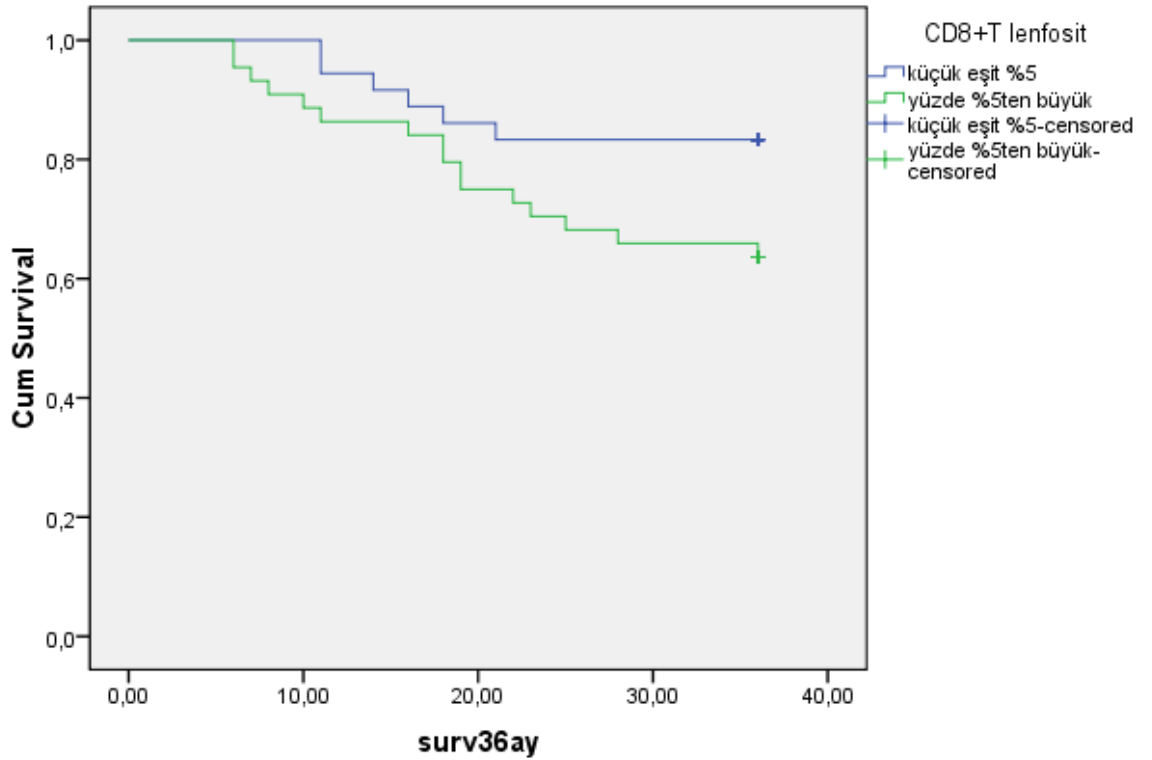
(SHK: Skuamöz hücreli karsinom, non-SHK: Non-skuamöz hücreli karsinom, BHK: Büyük hücreli karsinom, ASK: Adenoskuamöz karsinom)

Tablo 4.22. Tümörü infiltrate eden CD8+ T lenfosit yoğunluğu ile hastaların sigara maruziyeti ve ortalama yaşam ömürleri arasındaki ilişki

| CD8+ T lenfosit yoğunluğu | Ortalama sigara içme süresi (yıl)±SD | Paket/yıl ± SD | Sigarayı bıraktıktan sonra geçen süre (ay)±SD | Survey (ay) ±SD |
|---------------------------|--------------------------------------|----------------|---|-----------------|
| ≤%5 | 38±11,2 | 49,1±23,2 | 9,4±7,4 | 36,2±19,2 |
| %5< | 37,6±11 | 53±30,3 | 7,8±6,9 | 32,8±17,6 |
| p | >0,05 | >0,05 | >0,05 | >0,05 |

Tümörü infiltrate eden CD8+ T lenfosit yoğunluğu ve hastaların 3 yıllık survey değerleri

Tümörü infiltrate eden CD8+ T lenfosit sayısı yüksek olan hastalarda 3 yıllık survey %63 iken bu oran CD8+ T lenfosit sayısı düşük hastalarda %83'tür. CD8+ T lenfosit yoğunluğu arttıkça, hastaların 3 yıllık surveyinde belirgin bir azalma görülmüş olup bu bulgu istatistiksel olarak anlama yakın bulunmuştur (p=0,05) (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Tümörü infiltrate eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu ile hastaların 3 yıllık survey ilişkisi

Tümörü infiltrate eden CD8+ T lenfosit yoğunluğu ile SPAG9 yüksekliği+VEGF pozitifliği birlikte görülmesi arasındaki ilişki

Tümörü infiltrate eden CD8+ T lenfosit yoğunluğu arttıkça, yüksek SPAG9 ekspresyon yoğunluğu+VEGF pozitif ekspresyon birlikteliği de daha yüksek oranda görülmekle birlikte, bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($r=0,059$, $p>0,05$) (Tablo 4.23).

Tablo 4.23. Tümörü infiltrate eden CD8+ T lenfosit yoğunluğu ile diğer

immünohistokimyasal bulgular arasındaki ilişki

| CD8+ T lenfosit yoğunluğu | ↑SPAG9 ekspresyonu+ VEGF + ekspresyon birlikteliği | | Toplam |
|---------------------------|--|-------------|--------|
| | 0 | 1 | |
| ≤%5 | 31 %86,1 | 5 %13,9 | 36 |
| 5< | 34 %77,3 | 10 %22,7 | 44 |
| r | =0,059 | | |
| p | >0,05 | | |

5. TARTIŞMA

SPAG9 antikoru, kanser testis antijen (KTA) ailesinin bir üyesi olup birçok kanser tipinde yüksek miktarda eksprese olduğu gösterilmiştir (119, 137-140), ayrıca yapılan çalışmalar SPAG9 ekspresyonunun proliferasyon ve invazyona katkıda bulunduğunu göstermektedir (141-143).

Kanser testis antijenleri testiste immün reaksiyona sebep olmazken, testis dışı kanserli dokularda eksprese edildikleri zaman spesifik immün yanıtı indükleyebildikleri ve (144) ayrıca hümmoral yanıtta da neden olarak kanser progresyonunda önemli bir rol oynadıkları bildirilmiştir. (145).

Yapılan çalışmalarda SPAG9 ekspresyonu renal hücreli karsinom, meme, tiroid, serviks ve kolon karsinomlarında artmış olarak bulunmuştur (138-140, 146, 147).

Chen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, prostat kanserli hastalardaki SPAG9 ekspresyonu araştırılmış ve bu dokularda SPAG9 ekspresyonu belirgin olarak artmış bulunmuştur (117). Yine aynı çalışmada SPAG9 boyanma yoğunluğunun tümör derecesi ve TNM evresi ile anlamlı olarak korele olduğu bulunmuş olup, siRNA kullanılarak SPAG9'un baskılanması sonucunda ise VEGF down-regülasyonu ile anjiyogenez yeteneğinin azaldığı görülmüştür (117). Sonuç olarak bu çalışmada SPAG9'un prostat kanseri dokularında yüksek miktarda eksprese edildiği ve bunun da prostat kanseri progresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca SPAG9'un baskılanması ile VEGF ekspresyonunun azalmasının, SPAG9'un VEGF aktivitesi üzerinden kan damarı oluşumunu regüle ettiğini gösterdiği belirtilmiştir (117).

Sinha ve arkadaşları da meme kanserli dokularda SPAG9 ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğunu göstermiş olup, siRNA kullanılarak SPAG9'un baskılanması sonucunda ise tümörün koloni oluşturma yeteneğinin, tümör hücre migrasyonunun ve invazyon yeteneğinin anlamlı olarak azaldığını göstermişlerdir (121).

Tiroid kanserli hastalardaki SPAG9 ekspresyonunu gösteren çalışmada Garg ve arkadaşları, non-kanseröz neoplazilerde SPAG9 ekspresyonu gözlenmezken, tiroid kanserli dokuların %78'inde pozitif SPAG9 ekspresyonu saptamışlardır. Aynı çalışmada SPAG9'un baskılanması ile tümör hücrelerinin büyümelerinin ve koloni oluşturma yeteneklerinin de azaldığı gösterilmiştir (140).

Ren ve arkadaşları KHDAK'li hastalara ait dokulardaki SPAG9 ekspresyonunu araştırmış ve tümörlü dokuların %90'ında SPAG9 ekspresyonu görülürken, tümöre komşu non-kanseröz dokularda ekspresyon izlenmemiştir (8).

Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise KHDAK'li olguların %52, 5' inde pozitif SPAG9 ekspresyonu görülürken, normal akciğer dokularında boyanma izlenmemiştir. Bu çalışmada SHK'lu olguların SPAG9 ekspresyonu, adenokarsinomlu olguların SPAG9 ekspresyon oranından daha düşük bulunmakla birlikte, iki grup arasında anlamlı fark görülmemiştir. Ayrıca bu çalışmada yüksek SPAG9 ekspresyonunun kötü tümör diferansiyasyonu, ileri p-TNM evresi, lenf nodu metastazı ve kötü survey ile anlamlı ilişkisi bulunmuştur (148).

Bizim çalışmamızda incelenen 80 KHDAK tanılı olguların tümünde SPAG9 ekspresyonu saptanırken, SPAG9 ekspresyon yoğunluğunun, tümörün patolojik T evresi, lenf nodu ve uzak organ metastazı varlığı, hastanın klinik TNM evresi, vasküler invazyon varlığı ve tedavi sonrası metastaz gelişmesi ile pozitif olarak korele olduğu görüldü. Bunların sonucunda SPAG9 ekspresyonunun yüksek olmasının kötü prognozla ilişkili olduğu saptandı. Ayrıca literatürden farklı olarak (148) SHK'lu olgular ile non-SHK'lu olgular arasında SPAG9 ekspresyonu açısından anlamlı fark bulundu; SHK'lu olguların tümünde düşük SPAG9 ekspresyonu izlenirken, non-SHK'lu olguların %63,6'sında düşük ve %36,4'ünde ise yüksek SPAG9 ekspresyonu olduğu görüldü. Hastaların surveylerine baktığımızda da SHK'lu olguların ortalama yaşam ömrünün, non-SHK'lu olgulardan daha yüksek olduğu görmemiz de SPAG9 ekspresyonu olan olguların daha kötü prognoz ve daha kısa yaşam ömrüyle ilişkili olduğunu göstermektedir. Daha önce yapılan çalışmalar ile benzer şekilde, SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile VEGF ekspresyonu arasında pozitif korelasyon olduğu görüldü, bu bulgu daha önceki çalışmalar ile birlikte değerlendirildiğinde, SPAG9'un VEGF ekspresyonu üzerinden vasküler invazyonu arttırdığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu arasında da anlamlı pozitif ilişki saptadık. Ancak benzer bir çalışmaya literatürde rastlamamakla birlikte, TAM yoğunluğunun patolojik T evresi ile korele olması ve bununla orantılı olarak daha yüksek T evresine sahip tümörlerin yüksek SPAG9 ekspresyonu gösteriyor olmasının buna sebep olabileceğini düşünmekteyiz.

Daha önceki literatürlerde rastlamadığımız bir bulgu olan SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ve hastaların sigara maruziyetleri arasında da anlamlı ilişkiler olduğunu gördük. Daha uzun süre ve miktar sigara içmiş kişilerde, daha az içmiş olan kişilere göre, SPAG9 ekspresyonunun anlamlı olarak düşük olduğunu saptadık.

Bulgularımızı, literatürde yapılan tüm bu çalışma sonuçlarıyla birlikte değerlendirildiğimizde SPAG9 ekspresyonunun ileri tümör evresi ve kötü prognoz ile ilişkili olduğunu ve SPAG9'un kanser ilerlemesine neden olduğunu söyleyebiliriz.

Tümör ilişkili makrofajlar, kanda dolaşan monositlerden köken alırlar ve differansiye olurlar. Yapılan çalışmalarda tümörde çok sayıda TAM bulunmasının kötü prognoz ve metastaz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Diğer yandan yapılan hayvan deneylerinde, tümörde az sayıda TAM bulunmasının tümör büyümesi ve metastazın inhibisyonu ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (111). Literatürde yapılan çalışmalarda kolon kanserinde TAM sayısının artmasıyla tümörün evre ve histolojik derecesinin arttığı gösterilmiş olup hepatik metastaz riskinin de yüksek olduğu bildirilmiştir (149, 150). Ayrıca epitelyal over karsinomlarında da TAM yoğunluğunun histolojik derece ile ilişkili olduğu bulunmuştur (151). Özofagus skuamöz hücreli karsinomda (152), mesane kanserinde (153), malign melanomda (154) TAM yoğunluğunun yüksek olduğu olgularda tümör invazyonunun da fazla olduğu rapor edilmiştir. Ancak Zhang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yüksek TAM sayısının mide, ürogenital, baş-boyun karsinomlarında kötü prognoz ve yaşam ömrü ile ilişkili olduğu bulunurken, kolorektal kanserli hastalarda ise iyi prognoz ile ilişkili bulunmuştur (155).

KHDAK'lu hastalarda yapılan birçok çalışmada ise TAM yoğunluğunun kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilirken (156), bunun tersini söyleyen literatürler de vardır.

Arenberg ve arkadaşlarının KHDAK'lu olgularda yaptığı çalışmada, ex olan hastalardaki TAM sayısı, ex olmayan hastalar ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulundu (157). Benzer şekilde Chen ve arkadaşları da yüksek TAM sayısı olan hastalarda, ortalama yaşam ömrünün, düşük TAM sayısı olan hastalardan anlamlı olarak kısa olduğunu göstermişlerdir (158). Ancak bu bulguların aksine Costa Souza ve arkadaşlarının ise opere olmuş KHDAK'lu olgulara ait dokular ile yaptıkları çalışmada, hastalardaki 5 yıllık yaşam ömrünün yüksek makrofaj yoğunluğu ile pozitif olarak korele olduğunu göstermişlerdir (159).

Kim ve arkadaşları da retrospektif olarak yaptıkları ve 144 KHDAK'lu olguyu inceledikleri çalışmalarında tümördeki yüksek TAM sayısı olan hastaların, düşük TAM sayısına sahip hastalardan anlamlı olarak daha uzun yaşadıklarını bulmuşlardır (160). Toomey ve arkadaşları ise retrospektif kohort kullanarak yaptıkları çalışmada, hastaların 3 yıllık sağkalımı ile yüksek CD68 pozitif hücre sayısı arasında anlamlı bir ilişki saptamadılar (161). Benzer şekilde Al-Shibli ve arkadaşları da KHDAK'li olgularda TAM sayısı ile hastaliksız sağkalım arasında anlamlı bir ilişki bulmadılar (162).

TAM sayısının prognoza etkisinin incelendiği olgularda farklı sonuç ilişkileri görülmesinin muhtemel sebepleri TAM lokalizasyonu (tümör adası ve tümör stroması), M1 ve M2 makrofaj fenotiplerinin ayrı ayrı sayılmıyor olmaları olabilir.

Bizim çalışmamızda ise patolojik T evresi ve TNM evresi yüksek olan tümörlerde daha yüksek TAM sayısı bulduk ve bu bulgular istatistiksel olarak da anlamlı ilişki göstermektedir. Ayrıca lenf nodu metastazı görülen olgularda anlamlı olarak daha yüksek TAM sayısı olduğunu gördük. Bununla birlikte düşük TAM sayısı olan hastaların ortalama sağkalım süresi, yüksek TAM sayısı olan hastaların sağkalım süresinden uzun bulunmuş olup, bu iki grup arasında istatistiksel olarak da anlamlı fark bulundu. Tedavi sonrası nüks veya metastaz gelişimi ile tümörü infiltre eden TAM sayısı arasında anlamlı bir ilişki saptamadık. Yüksek TAM sayısı olan olguların, düşük TAM sayılı olgulara göre anlamlı şekilde daha yüksek oranda postoperatif kemoterapi ve radyoterapi tedavileri aldıklarını saptadık. Tüm bu bulguları literature eşliğinde değerlendirdiğimizde tümörü infiltre eden TAM sayısının kötü prognoz ve düşük yaşam ömrü ile ilişkili olduğunu söyleyebiliriz.

Müller ve arkadaşlarının KHDAK'li olgularda primer tümörler ile metastatik lezyonların karşılaştırılmasıyla yaptıkları çalışmada, metastatik lezyonlarda düşük CD8/CD68 oranı raporlamışlar ve bunun sebebinin metastatik depozitlerin tümör immünitesi açısından daha tolerojenik alanlar göstermesinden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir (187). Biz ise çalışmamızda tümörü infiltre eden CD8+ T hücre yoğunluğu ile CD68 pozitif TAM yoğunluğu arasında pozitif yönde anlamlı bir ilişki saptadık. TAM'lar genellikle lokal immün baskılanma ile ilişkilidir (188, 189). CD8+ T hücreleri ise kanser hücresinin yüzeyindeki MHC class I moleküllerinin sunduğu özelleşmiş tümör ilişkili antijenleri tanıyan, tümöre karşı yanıtta esas hücrelerdir ve böylece kanser hücrelerini direk olarak hasarlandırabilirler (190). Daha önce de bahsettiğimiz gibi tümörü infiltre eden TAM sayısı, yüksek tümör evresi ile pozitif ilişki göstermekte ve bu

tümörlerde tümör hücresi yoğunluğuna bağlı olarak, bunlara karşı savunma amaçlı olan CD8+ T hücre sayısında artış görülebilir. Bu da çalışmamızda görülen tümörü infiltre eden CD68+ TAM hücre sayısı ve CD8+ T hücre sayısı arasında anlamlı pozitif korelasyonun sebebi olarak gösterilebilir. Hipoksi tüm solid tümörlerin ortak özelliğidir ve anjiyogenezin de en önemli tetikleyicisidir. Tümörlerde TAM'ların birçoğu olasılıkla VEGF gibi hipoksinin tetiklediği kemoatraktanlar yolu ile hipoksik ve/veya nekrotik alana göç ederler (163). Aynı zamanda TAM'lar, hipoksik durumlarda anjiyogenezis inhibitörlerini baskılayarak da anjiyogenezise yol açarlar (164). Birçok çalışmada da VEGF ekspresyonu ile tümörü infiltre eden TAM sayısının pozitif olarak korele olduğu ve bu iki antitenin de kanser hastalarında kötü prognoz ile ilişkisi gösterilmiştir (165-167). Chen ve arkadaşları KHDAK'li olgularda TAM yoğunluğunun intratümöral mikrodamar sayısı ve VEGF ekspresyonu ile pozitif ve anlamlı korelasyonunu, hasta surveyi için de negatif anlamlı korelasyonunu göstermişlerdir (158). Baş-boyun skuamöz hücreli karsinomlarında Liss ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TAM kökenli anjiyogenetik faktörlerden olan VEGF sekresyonunun, TAM sayısı ile doğru orantılı arttığı ve bunun da anjiyogenezisi arttırdığı gösterilmiştir (168)

Bizim çalışmamızda da benzer şekilde yüksek TAM sayısı olan olgularda, daha yüksek oranda pozitif VEGF ekspresyonu ve vasküler invazyon görülmekle birlikte, bu bulguların birbirleri ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Daha yüksek evredeki tümörlerde tümör hücresi yoğunluğuna bağlı olarak TAM sayısının arttığını, TAM kökenli anjiyogenetik faktörlerden de TAM yoğunluğu ile doğru orantılı olarak VEGF ekspresyonunun arttığını söyleyebiliriz.

Anjiyogenezis malignitelerin patogenezinde önemli bir süreçtir ve çeşitli büyüme faktörleri ile kontrol edilir; ancak esas rol VEGF'nindir (163). VEGF gen ekspresyonu vaskülarizasyonun derecesi, tümörün büyümesi, metastatik süreç ve tümörün prognozu ile yakından ilişkilidir ayrıca VEGF ekspresyonunun inhibisyonu tümör büyümesinde baskılanma ile sonuçlanır (164, 165).

Klinik çalışmalarda KHDAK'leri de dahil birçok kanser tipinde, tümördeki VEGF ekspresyonu, hastalığın evresi ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (166-169). Ayrıca birçok çalışmada VEGF sinyal iletimi inhibe edildiği takdirde tümör anjiyogenezis ve tümör büyümesinin baskılandığı görülmüştür (170, 171).

Devery ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, akciğer adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinomlu dokularda pozitif VEGF ekspresyonu izlerken, normal akciğer dokusunda VEGF ekspresyonu saptamamışlardır (172). Awata ve arkadaşları ise KHDAK'li olgularda, VEGF ekspresyonunun yüksek olmasını, rekürren hastalık gelişimi ve daha kısa yaşam ömrü ile ilişkili bulmuşlardır (173). Niklińska ve arkadaşlarının 89 KHDAK'lu hasta ile yaptıkları çalışmada, olguların tamamında VEGF ekspresyonu saptamışlardır. Adenokarsinomlu hastalarda yüksek seviyelerde VEGF ekspresyonu görülürken, skuamöz hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinomlu hastalarda anlamlı olarak daha düşük VEGF ekspresyonu saptamışlardır. Aynı çalışmada, survey analizinde de düşük VEGF ekspresyonu olan hastaların, orta ve yüksek ekspresyon olan hastalardan anlamlı şekilde iyi prognoz gösterdikleri bildirilmiştir (174). Benzer şekilde, O'Byrne ve arkadaşları da KHDAK'li olguların yaklaşık %30-40'ında yüksek VEGF ekspresyonu tespit etmiş olup, bu hastaların ileri evre olduklarını raporlamışlardır (175). Imoto ve arkadaşlarının 91 KHDAK'lu olgu ile yaptıkları çalışmada, adenokarsinomlu hastalarda VEGF pozitiflik oranı, SHK'lu hastalara göre belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca lenf nodu metastazı olan hastalarda da VEGF pozitif ekspresyon oranının, lenf nodu metastazı olmayan hastalara göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada düşük primer T evresine sahip tümörlerde, yüksek T evreli tümörlere göre daha düşük VEGF pozitif ekspresyon oranı saptanmıştır. Survival analizlerinde ise VEGF ekspresyonu pozitif olan hastaların prognozunun, VEGF ekspresyonu negatif olan hastalara göre anlamlı olarak daha kötü olduğu raporlanmıştır. Ancak VEGF ekspresyonu ile hastanın cinsiyeti, T evresi, lenf nodu metastazının varlığı ve patolojik evre arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (176).

Yaptığımız çalışmada da, literatürler ile benzer şekilde, adenokarsinomlu hastalarda VEGF pozitif ekspresyonu görülme oranı, SHK, büyük hücreli karsinom ve adenoskuamöz karsinomlu hastalardan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Devery ve arkadaşları da VEGF ekspresyonu yüksek olan KHDAK'larında, anjiyogenezisin daha yüksek olduğunu saptamışlardır (172). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde VEGF ekspresyonu saptanan hastalarda, vasküler invazyon görülme olasılığı, VEGF ekspresyonu olmayan hastalara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Yapılan önceki çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da lenf nodu pozitifliğine hastalığın evresi ile VEGF ekspresyonu arasında anlamlı pozitif ilişki saptadık. Ayrıca survey analizinde baktığımızda VEGF ekspresyonu saptanan hastalarda, VEGF

ekspresyonu saptanmayan hastalara göre daha düşük yaşam ömrü olmakla birlikte, bu ilişki istatistiksel olarak da anlamlı bulundu

Literatürde yapılan tüm bu çalışma sonuçları ile birlikte değerlendirdiğimizde, akciğer adenokarsinomlarının, akciğer SHK'ları ile karşılaştırıldığında daha yüksek anjiyogenik potansiyeli olduğunu kabul edebiliriz. Ayrıca VEGF ekspresyonu olan KHDAK'lu hastalarda, VEGF ekspresyonu olmayan hastalara göre daha yüksek oranda vasküler invazyon, lenf nodu pozitifliği, daha yüksek tümör evresi ve daha kötü prognoz görülmekte, bu da kötü klinik gidiş ile ilişkili olmaktadır.

Sigara içen ve içmeyen hastalar arasında da VEGF ekspresyonu açısından anlamlı farklar olduğunu saptadık. Daha uzun süre ve miktar sigara içmiş kişilerde, daha az içenler ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha düşük VEGF ekspresyonu olduğunu gördük. Literatürde yapılan çalışmalarda da görülen benzer bulgularla birlikte (191), sigaranın VEGF reseptörlerini azaltması sonucu, sigaraya maruziyet ile VEGF ekspresyonu arasında negatif anlamlı ilişki olduğunu düşünmekteyiz.

Yüksek SPAG9 ekspresyonu ve VEGF ekspresyonu pozitif olan olguları değerlendirdiğimizde, adenokarsinomlu olguların, SHK'lu olgular ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yüksek birliktelik gösterdiklerini saptadık. Literatürde bu iki antikor arasındaki ilişkiyi birlikte değerlendiren bir çalışmaya rastlamamakla birlikte, adenokarsinomun önceki bulgular ile birlikte değerlendirildiğinde, daha anjiyogenik bir tümör olması ve prognozunun SHK'a göre daha kötü olması sebebiyle, daha yüksek oranda SPAG9 ekspresyon yüksekliği ve VEGF ekspresyonu gösterdiğini düşünmekteyiz. Ayrıca, lenf nodu ve uzak organ metastazı varlığı, klinik evre ve vasküler invazyon varlığı ile SPAG9 ekspresyon yoğunluğu+VEGF ekspresyonu birlikteliği arasında da anlamlı pozitif ilişki bulmamızın sebebinin bu parametrelere de kötü prognoz ve yaşam ömrü ile ilişkili olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Yine benzer şekilde bu hastaların operasyon sonrası daha yüksek oranda KT ve RT almalarının sebebinin de kötü gidişat ile ilişkili olduğunu söyleyebiliriz.

KHDAK'lerinde tümörü infiltre eden CD4+ ve CD8+ T hücreleri kanser hücrelerine immün yanıtta önemli bir rol oynamaktadırlar (177). CD8+ T hücreleri kazanılmış immün yanıtta perforin ve granzimler salgılayarak belirgin sitotoksik kapasite göstererek tümör hücre ölümünü indüklerler (178), bu yüzden antitümöral immünitede kritik rol oynarlar (179). Bununla birlikte KHDAK'lerinde CD8+ T hücrelerinin varlığı,

pozitif, nötr veya negatif prognostik belirteç olarak tanımlanmıştır (180-182). KHDAK'lerinde klinik gidişatı etkileyen diğer önemli faktör ise tümörü infiltrate eden CD4+ T hücreleridir. Bu hücreler IFN- γ ve TNF gibi immünregülatuar sitokinler üretirler, bu sitokinler de akciğer kanserinde sitolitik CD8+ T hücre yanıtını indüklerler (179-184).

Geng ve arkadaşlarının yaptığı ve 8600 hastanın değerlendirildiği bir meta-analiz çalışmasında, tümördeki CD4+ ve CD8+ T hücre yoğunluğunun yüksek olmasının iyi prognoz ve overall survey ile ilişkili olduğu saptanmıştır (185). Ancak Jackute ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada, KHDAK'lerinde tümörü infiltrate eden CD4+ ve CD8+ T hücre yoğunluğunun ne overall survey, ne de hastaliksız sağkalım ile bir ilişkisi olmadığı bulunmuştur (177). Biz de çalışmamızda tümörü infiltrate eden CD4+ ve CD8+ T hücre yoğunlukları ile tümörün evresi, lenf nodu metastazı durumu ve sağkalım arasında anlamlı bir ilişki saptamadık.

Jackute ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise, sigara içen KHDAK'li hastaların intratümöral CD4+ ve CD8+ T hücre yoğunluğu, sigara içmeyen KHDAK'li olgulardan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (186). Ancak bizim çalışmamızda sigara içen ve içmeyen grup arasında, tümörü infiltrate eden CD4+ ve CD8+ T hücre yoğunlukları arasında anlamlı bir fark izlenmedi. Bu farklı sonucun, çalışmamızdaki sigara içmeyen olgu sayısının çok az olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR

SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile tümörün histolojik tipleri arasında anlamlı fark görüldü.

SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile tümörün patolojik T evresi arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile lenf nodu metastazı varlığı arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile uzak organ metastazı varlığı arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile klinik evre arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile vasküler invazyon varlığı arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile hastanın post-operatif kemoterapi veya radyoterapi hikayesi arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile tedavi sonrası metastaz gelişimi arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile sigara tüketimi arasında anlamlı negatif korelasyon saptandı.

SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile VEGF ekspresyonu arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

SPAG9 ekspresyon yoğunluğu ile tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu arasında anlamlı pozitif ilişki görüldü.

VEGF ekspresyonu ile tümörün histolojik tipi arasında anlamlı fark saptandı.

VEGF ekspresyonu ile lenf nodu metastazı varlığı arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

VEGF ekspresyonu ile klinik evre arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

VEGF ekspresyonu ile vasküler invazyon varlığı arasında anlamlı pozitif korelasyon izlendi.

VEGF ekspresyonu ile tümörün patolojik T evresi arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

VEGF ekspresyonu ile uzak organ metastazı varlığı arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

VEGF ekspresyonu ile postoperatif KT veya RT hikayesi arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

VEGF ekspresyonu ile tedavi sonrası nüks veya metastaz gelişimi arasında ise anlamlı ilişki saptanmadı.

Sigara maruziyeti ile VEGF ekspresyonu arasında anlamlı negatif ilişki saptandı.

VEGF ekspresyonu ile tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu arasında anlamlı pozitif korelasyon olduğu görüldü.

Tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu ile tümörün patolojik T evresi arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

Tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu ile klinik evre arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

Tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu ile hastanın post-operatif KT veya RT alması arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

Tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu ile tümörün histolojik tipi arasında anlamlı fark saptanmadı.

Tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu ile vasküler invazyon varlığı arasında anlamlı fark saptanmadı.

Tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu ile tedavi sonrası nüks veya metastaz gelişimi arasında anlamlı fark saptanmadı.

Tümörü infiltre eden TAM yoğunluğu ve sigara maruziyeti arasında anlamlı fark saptanmadı.

TAM yoğunluğu ile tümörü infiltre eden CD8+ T lenfosit yoğunluğu arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

Tümörü infiltre eden CD4+ ve CD8+ T lenfosit yoğunlukları ile klinik parametreler arasında anlamlı fark saptanmadı.

Tümörü infiltre eden CD4+ ve CD8+ T lenfosit yoğunlukları ile sigara maruziyeti arasında anlamlı fark saptanmadı.

Tümörü infiltre eden CD4+ T lenfosit yoğunluğu ile CD8+ T lenfosit yoğunlukları arasında pozitif anlamlı korelasyon saptandı.

7. KAYNAKLAR

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics; 2015. *CA Cancer J Clin.* 65: 5-29, 2015.
2. Rothschild SI. Targeted therapies in non-small cell lung cancer—beyond EGFR and ALK. *Cancers*, 7(2): 930-949, 2015.
3. Lee CY, Shim HS, Lee S, Lee JG, Kim DJ, Chung KY. Prognostic effect of matrix metalloproteinase-9 in patients with resected non small cell lung cancer. *J Cardiothorac Surg.* 10: 44, 2015.
4. Mantovani A, Sica A. Macrophages innate immunity and cancer: balance, tolerance, and diversity. *Curr Opin Immunol.* 22(2): 231-237, 2010.
5. Galdiero, MR, Bonavita E, Barajon I, Garlanda C, Mantovani A, Jaillon S. Tumor associated macrophages and neutrophils in cancer. *Immunobiology* 218(11): 1402-1410, 2013.
6. Jagadish N, Rana N, Mishra D, Kumar M, Suri A. Sperm associated antigen 9 (SPAG 9): a new member of c- Jun NH2-terminal kinase (JNK) interacting protein exclusively expressed in testis. *Keio J Med* 54(2): 66-71, 2005.
7. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature* 454(7203): 436-444, 2008.
8. Ren B, Wei X, Zou G, He J, Xu G, Xu F, Huang Y, Zhu H, Li Y, Ma G, Yu P. Cancer testis antigen SPAG9 is a promising marker for the diagnosis and treatment of lung cancer. *Oncology reports*, 35(5): 2599-2605, 2016.
9. Sadler TW. *Langman's Medical Embryology*. Seventh edition, Maryland, Williams & Wilkins, 1995
10. Pansky B. *Review of Medical Embryology*. First edition, Alameda, Embryome Sciences, 1982.
11. Gövsa Gökmen F. *Solunum Sistemi. Sistematik Anatomi* (Gövsa Gökmen F, ed). 1'nci baskı. İzmir, İzmir Güven Kitabevi. 429-454, 2003.
12. Junquerira LC, Jose C. *Basic Histology*. Tenth Edition. McGraw-Hill Companies, 2003. United States of America
13. Leslie KO, Yousem SA, Colby TV. *Thorax and Serous Membranes, Lungs. Histology for Pathologist* (Stacey EM, ed). Fourth edition. Philadelphia, Lippincott Williams&Wilkins. 505-540, 2012.

14. Mulholland KM. Cardiothoracic Specimens and Vessels. *Histopathology Specimens: Clinical, Pathological and Laboratory Aspects*. (Allen D.C, Cameron R.I, Eds). First Edition. London, Springer Verlag. 393-405, 2004.
15. Rosai J. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. Tenth edition, Vol. 2. China, Elsevier; 2011.
16. Cancer Facts&Figures 2016. Erişim:
(www.cancer.org/acs/groups/content/@research/documents/document/acspc-047079.pdf).
17. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Waldron W, Altekruse SF, Kosary CL, Ruhl J. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2013. Erişim:
(http://seer.cancer.gov/csr/1975_2013/browse_csr.php?sectionSEL=15&pageSEL=sect_15_table.10.html).
18. Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer. *N Engl J Med* 359(13): 1367–1380, 2008
19. Cruz CSD, Tanoue LT, Matthay RA. Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention. *Clin Chest Med* 32 (4):605-644, 2011
20. Parkin DM, Pisani P, Lopez AD. At least one in seven cases of cancer is caused by smoking. Global estimates for 1985. *Int J Cancer* 59 (4): 494-504, 1994.
21. Guindon, GE, Boisclair, D. Past, current and future trend in tobacco. Washington, DC: International Bank for Reconstruction and Development. The World Bank: 13-16, 2009
22. World Health Organization GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. Erişim:
(globocan.iarc.fr/Pages/facts_sheets_cancer.aspx).
23. Doll R, Hill AB. Smoking and carcinoma of the lung; preliminary report. *Br Med J*. 2(4682): 739–748, 1950.
24. Wynder EL, Graham EA. Etiologic factors in bronchiogenic carcinoma with special reference to industrial exposures; report of eight hundred fifty-seven proved cases. *Am J Arch Ind Hyg Occup Med*. 4(3):221–235, 1951.
25. Mattson ME, Pollack ES, Cullen JW. What are the odds that smoking will kill you? *Am J Public Health*. 77(4):425–431, 1987.

26. Harris JE, Thun MJ, Mondul AM, Calle. Cigarette tar yields in relation to mortality from lung cancer in the cancer prevention study II prospective cohort, 1982-8. *BMJ* 328(7431): 72, 2004
27. Loeb LA, Ernster VL, Warner KE, Abbotts J, Laszlo J. Smoking and lung cancer: an overview. *Cancer Res* 44(12 Pt 1):5940–5958, 1984.
28. Pisani P, Bray F, Parkin DM. Estimates of the world-wide prevalence of cancer for 25 sites in the adult population. *Int J Cancer*. 97(1):72–81, 2002.
29. Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx A, Nicholson AG. WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. Fourth edition. Lyon, International Agency for Research on Cancer, 2015.
30. Boffetta P, Pershagen G, Jockel KH, Forastiere F, Gaborieau V, Heinrich J, Jahn I, Kreuzer M, Merletti F, Nyberg F, Rosch F, Simonato L. Cigar and pipe smoking and lung cancer risk: a multicenter study from Europe. *J Natl Cancer Inst* 91: 697-701, 1999.
31. Hoffmann D, Hoffmann I. The changing cigarette, 1950–1995. *J Toxicol Environ Health*. 50(4): 307–364, 1997.
32. Akopyan G, Bonavida B. Understanding tobacco smoke carcinogen NNK and lung tumorigenesis. *Int J Oncol*.29(4): 745–752, 2006.
33. Hoffmann D, Djordjevic MV, Rivenson A, Zang E, Desai D, Amin S. A study of tobacco carcinogenesis. LI. Relative potencies of tobacco-specific N-nitrosamines as inducers of lung tumours in A/J mice. *Cancer Lett* 71(1–3): 25–30, 1993.
34. Rodenhuis S, Slebos RJ. Clinical significance of ras oncogene activation in human lung cancer. *Cancer Res* 52: 2665–2669, 1992.
35. Wynder EL, Hoffmann D. Smoking and lung cancer: scientific challenges and opportunities. *Cancer Res*.54(20): 5284–5295, 1994.
36. Denissenko MF, Pao A, Tang M, Pfeifer GP. Preferential formation of benzo[a]pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in p53. *Science* 274(5286): 430–432,1996.
37. Hackshaw AK, Law MR, Wald NJ. The accumulated evidence on lung cancer and environmental tobacco smoke. *BMJ* 315(7114): 980–988, 1997.
38. Whitrow MJ, Smith BJ, Pilotto LS, Pisaniello D, Nitschke M. Environmental exposure to carcinogens causing lung cancer: epidemiological evidence from the medical literature. *Respirology* 8(4): 513–521, 2003.

39. Cook MB, McGlynn KA, Devesa SS, Freedman ND, Anderson WF. Sex disparities in cancer mortality and survival. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 20(8): 1629–1637, 2011.
40. Brownson RC, Chang JC, Davis JR. Gender and histologic type variations in smoking-related risk of lung cancer. *Epidemiology* 3(1):61–64, 1992.
41. McDuffie HH, Klaassen DJ, Dosman JA. Female-male differences in patients with primary lung cancer. *Cancer* 59(10): 1825–1830, 1987.
42. Risch HA, Howe GR, Jain M, Burch JD, Holowaty EJ, Miller AB. Are female smokers at higher risk for lung cancer than male smokers? A case-control analysis by histologic type. *Am J Epidemiol* 138(5): 281–293, 1993.
43. Zang EA, Wynder EL. Differences in lung cancer risk between men and women: examination of the evidence. *J Natl Cancer Inst* 88(3–4): 183–192, 1996.
44. Ryberg D, Hewer A, Phillips DH, Haugen A. Different susceptibility to smoking-induced DNA damage among male and female lung cancer patients. *Cancer Res* 54(22): 5801–5803, 1994.
45. Hwang SJ, Cheng LS, Lozano G, Amos CI, Gu X, Strong LC. Lung cancer risk in germline p53 mutation carriers: association between an inherited cancer predisposition, cigarette smoking, and cancer risk. *Hum Genet* 113(3): 238–243, 2003.
46. Li X, Hemminki K. Inherited predisposition to early onset lung cancer according to histological type. *Int J Cancer* 112(3): 451–457, 2004.
47. Thorgeirsson TE, Geller F, Sulem P, Rafnar T, Wiste A, Magnusson KP, Manolescu A, Thorleifsson G, Stefansson H, Ingason A, Stacey SN, Bergthorsson JT, Thorlacius S, Gudmundsson J, Jonsson T, Jakobsdottir M, Saemundsdottir J, Olafsdottir O, Gudmundsson LJ, Bjornsdottir G, Kristjansson K, Skuladottir H, Isaksson HJ, Gudbjartsson T, Jones GT, Mueller T, Gottsäter A, Flex A, Aben KK, de Vegt F, Mulders PF, Isla D, Vidal MJ, Asin L, Saez B, Murillo L, Blondal T, Kolbeinsson H, Stefansson JG, Hansdottir I, Runarsdottir V, Pola R, Lindblad B, van Rij AM, Dieplinger B, Haltmayer M, Mayordomo JI, Kiemeny LA, Matthiasson SE, Oskarsson H, Tyrfingsson T, Gudbjartsson DF, Gulcher JR, Jonsson S, Thorsteinsdottir U, Kong A, Stefansson K. A variant associated with nicotine dependence, lung cancer and peripheral arterial disease. *Nature* 452(7187): 638–642, 2008.

48. Hung RJ, McKay JD, Gaborieau V, Boffetta P, Hashibe M, Zaridze D, Mukeria A, Szeszenia-Dabrowska N, Lissowska J, Rudnai P, Fabianova E, Mates D, Bencko V, Foretova L, Janout V, Chen C, Goodman G, Field JK, Liloglou T, Xinarianos G, Cassidy A, McLaughlin J, Liu G, Narod S, Krokan HE, Skorpen F, Elvestad MB, Hveem K, Vatten L, Linseisen J, Clavel-Chapelon F, Vineis P, Bueno-de-Mesquita HB, Lund E, Martinez C, Bingham S, Rasmuson T, Hainaut P, Riboli E, Ahrens W, Benhamou S, Lagiou P, Trichopoulos D, Holcátová I, Merletti F, Kjaerheim K, Agudo A, Macfarlane G, Talamini R, Simonato L, Lowry R, Conway DI, Znaor A, Healy C, Zelenika D, Boland A, Delepine M, Foglio M, Lechner D, Matsuda F, Blanche H, Gut I, Heath S, Lathrop M, Brennan P. A susceptibility locus for lung cancer maps to nicotinic acetylcholine receptor subunit genes on 15q25. *Nature* 452(7187): 633–637, 2008.
49. Willett WC, Trichopoulos D. Nutrition and cancer: a summary of the evidence. *Cancer Causes Control* 7(1): 178–180, 1996.
50. Ruano-Ravina A, Figueiras A, Barros-Dios JM. Diet and lung cancer: a new approach. *Eur J Cancer Prev* 9(6): 395–400, 2000.
51. Boone CW, Kelloff GJ, Malone WE. Identification of candidate cancer chemopreventive agents and their evaluation in animal models and human clinical trials: a review. *Cancer Res* 50(1): 2–9, 1990.
52. Woodson K, Tangrea JA, Barrett MJ, Virtamo J, Taylor PR, Albanes D. Serum alpha-tocopherol and subsequent risk of lung cancer among male smokers. *J Natl Cancer Inst* 91(20): 1738–1743, 1999.
53. Buring JE, Hennekens CH. Beta-carotene and cancer chemoprevention. *J Cell Biochem Suppl* 22: 226–230, 1995.
54. Alavanja MC, Brownson RC, Benichou J. Estimating the effect of dietary fat on the risk of lung cancer in nonsmoking women. *Lung Cancer* 14: 63–74, 1996.
55. Freudenheim JL, Ritz J, Smith-Warner SA, Albanes D, Bandera EV, van den Brandt PA, Colditz G, Feskanich D, Goldbohm RA, Harnack L, Miller AB, Rimm E, Rohan TE, Sellers TA, Virtamo J, Willett WC, Hunter DJ, Freudenheim JL, Ritz J, Smith-Warner SA. Alcohol consumption and risk of lung cancer: a pooled analysis of cohort studies. *Am J Clin Nutr* 82(3): 657–667, 2005.
56. Darby S, Hill D, Auvinen A, Barros-Dios JM, Baysson H, Bochicchio F, Deo H, Falk R, Forastiere F, Hakama M, Heid I, Kreienbrock L, Kreuzer M, Lagarde F, Mäkeläinen I, Muirhead C, Oberaigner W, Pershagen G, Ruano-Ravina

- A, Ruosteenoja E, Rosario AS, Tirmarche M, Tomásek L, Whitley E, Wichmann HE, Doll R. Radon in homes and risk of lung cancer: collaborative analysis of individual data from 13 European case control studies. *BMJ* 330 (7485): 223, 2005.
57. Field RW, Krewski D, Lubin JH, Zielinski JM, Alavanja M, Catalan VS, Klotz JB, Létourneau EG, Lynch CF, Lyon JL, Sandler DP, Schoenberg JB, Steck DJ, Stolwijk JA, Weinberg C, Wilcox HB. An overview of the North American residential radon and lung cancer case control studies. *J Toxicol Environ Health A* 69 (7): 599-631, 2006.
58. Lee IM. Physical activity and cancer prevention-data from epidemiologic studies. *Med Sci Sports Exerc* 35(11): 1823-1827, 2003.
59. Kunzli N, Tager IB. Air pollution: from lung to heart. *Swiss Med Wkly* 135(47-48): 697-702, 2005.
60. Boffetta P. Human cancer from environmental pollutants: the epidemiological evidence. *Mutat Res* 608(2): 157-162, 2006.
61. Nyberg F, Gustavsson P, Järup L, Bellander T, Berglind N, Jakobsson R, Pershagen G. Urban air pollution and lung cancer in Stockholm. *Epidemiology* 11(5): 487-495, 2000.
62. Boffetta P. Epidemiology of environmental and occupational cancer. *Oncogene* 22(38): 6392-6403, 2004.
63. Cheng L, Alexander RE, MacLennan GT, Cummings OW, Montironi R, Lopez-Beltran A, Cramer HM, Davidson DD, Zhang S. Molecular pathology of lung cancer: key to personalized medicine. *Modern Pathology* 25: 347-369, 2012.
64. Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. Epidermal growth factor mutations in lung cancer. *Nat Rev Cancer*;7:169-81, 2007.
65. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, Shaw AT, Solomon B, Maki RG, Ou SH, Dezube BJ, Jänne PA, Costa DB, Varella-Garcia M, Kim WH, Lynch TJ, Fidias P, Stubbs H, Engelman JA, Sequist LV, Tan W, Gandhi L, Mino-Kenudson M, Wei GC, Shreeve SM, Ratain MJ, Settleman J, Christensen JG, Haber DA, Wilner K, Salgia R, Shapiro GI, Clark JW, Iafrate AJ. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in NSCL. *N Engl J Med*; 363: 1693-703, 2010.
66. Kerr KM, Bubendorf L, Edelman MJ, Marchetti A, Mok T, Novello S, O'Byrne K, Stahel R, Peters S, Felip E. Second ESMO consensus conference on lung cancer: pathology and molecular biomarkers for non-small-cell lung cancer. *Annals of Oncology*, 25(9): 1681-1690, 2014.

67. Aisner DL, Marshall CB. Molecular pathology of non-small cell lung cancer. *Am J Clin Pathol* 138: 332-346, 2012.
68. Brooks AN, Kilgour E, Smith PD. Molecular pathways: fibroblastic growth factor signaling: a new therapeutic opportunity in cancer. *Clin Cancer Res* 18: 1855- 62, 2012.
69. Hammerman PS, Sos ML, Ramos AH, Xu C, Dutt A, Zhou W, Brace LE, Woods BA, Lin W, Zhang J, Deng X, Lim SM, Heynck S, Peifer M, Simard JR, Lawrence MS, Onofrio RC, Salvesen HB, Seidel D, Zander T, Heuckmann JM, Soltermann A, Moch H, Koker M, Leenders F, Gabler F, Querings S, Ansén S, Brambilla E, Brambilla C, Lorimier P, Brustugun OT, Helland A, Petersen I, Clement JH, Groen H, Timens W, Sietsma H, Stoelben E, Wolf J, Beer DG, Tsao MS, Hanna M, Hatton C, Eck MJ, Janne PA, Johnson BE, Winckler W, Greulich H, Bass AJ, Cho J, Rauh D, Gray NS, Wong KK, Haura EB, Thomas RK, Meyerson M. Mutations in the DDR2 kinase gene identify a novel therapeutic target in squamous cell lung cancer. *Cancer Discov* 1: 78-89, 2011.
70. Naidoo J, Drilon A. Molecular diagnostic testing in non-small cell lung cancer. *American Journal of Hematology/Oncology* 10: 4-11, 2014.
71. Akman C, Bakan S. Akciğer kanserlerinde evreleme: Yenilikler. *Trd Sem*, 2: 340-353, 2014.
72. Yaman M. Akciğer kanserinde tedavi yaklaşımı: Türkiye’de sık karşılaşılan hastalıklar II. *Sempozyum Dizisi* 58: 157-168, 2007.
73. Pignon JP, Tribodet H, Scagliotti GV, Douillard JY, Shepherd FA, Stephens RJ, Dunant A, Torri V, Rosell R, Seymour L, Spiro SG, Rolland E, Fossati R, Aubert D, Ding K, Waller D, Le Chevalier T, Douillard JY, His P, Le Chevalier T, Pignon JP, Scagliotti GV, Seymour L, Shepherd FA, Spiro SG, Stephens RJ, Torri V, Tribodet H, Bergman B, Crino L, De Lena M, Ding K, Douillard JY, Dunant A, Fossati R, Gower N, Aubert D, Le Chevalier T, Pignon JP, Rosell R, Scagliotti GV, Seymour L, Shepherd FA, Spiro SG, Stephens RJ, Torri V, Valter D, Winton T. Lung adjuvant cisplatin evaluation: a pooled analysis by the LACE collaborative group. *J Clin Oncol* 26: 3552-3559, 2008.
74. Molina JR, Yang P, Cassivi SD, Schild SE, Adjei AA. Non–small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship. *Mayo Clin Proc* 83(5): 584–594, 2008.

75. Jazieh AR, Hussain M, Howington JA, Spencer HJ, Husain M, Grismer JT, Read RC. Prognostic factors in patients with surgically resected stages I and II non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 70(4): 1168-1171, 2000.
76. Kara M, Dikmen E, Kılıç D, Sak SD, Orhan D, Köse SK, Kavukçu Ş. Prognostic implications of microscopic proximal bronchial extension in non-small cell lung cancer. *The Annals of thoracic surgery*, 74(2): 348-354, 2002.
77. Fu XL, Zhu X Z, Shi DR, Xiu LZ, Wang LJ, Zhao S, Qian H, Lu HF, Xiang YB, Jiang GL. Study of prognostic predictors for non-small cell lung cancer. *Lung cancer*, 23(2): 143-152, 1999.
78. Fernandes OJ, Almgren SO, Thaning L, Filbey D, Helsing M, Karlsson M, Magnusson A, Souza D. Prognostic factors for the survival of surgically treated patients for non-small cell lung cancer. *Acta Oncologica* 42(4): 338-341, 2003.
79. Martini N, Bains MS, Burt ME, Zakowski MF, McCormack P, Rusch V W, Ginsberg RJ. Incidence of local recurrence and second primary tumors in resected stage I lung cancer. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 109(1): 120-129, 1995.
80. Suzuki K, Nagai K, Yoshida J, Nishimura M, Takahashi K, Yokose T, Nishiwaki Y. Conventional clinicopathologic prognostic factors in surgically resected nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* 86(10): 1976-1984, 1999.
81. Martini N, Burt ME, Bains MS, McCormack PM, Rusch VW, Ginsberg RJ. Survival after resection of stage II non-small cell lung cancer. *The Annals of thoracic surgery* 54(3): 460-466, 1992.
82. Sayar A, Turna A, Kiliçgün A, Solak O, Urerürer N, Gürses A. Prognostic significance of surgical-pathologic multiple-station N1 disease in non-small cell carcinoma of the lung. *European journal of cardio-thoracic surgery* 25(3): 434-438, 2004.
83. Prenzel KL, Mönig SP, Sinning JM, Baldus SE, Gutschow CA, Grass G, Schneider PM, Hölscher AH. Role of skip metastasis to mediastinal lymph nodes in non-small cell lung cancer. *Journal of surgical oncology* 82(4): 256-260, 2003.
84. Liptay MJ, Grondin SC, Fry WA, Pozdol C, Carson D, Knop C, Masters GA, Perlman RM, Watkin W. Intraoperative sentinel lymph node mapping in non-small-cell lung cancer improves detection of micrometastases. *Journal of clinical oncology* 20(8): 1984-1988, 2002.

85. Lee JH, Machtay M, Kaiser LR, Friedberg JS, Hahn SM, McKenna MG, McKenna WG. Non-Small Cell Lung Cancer: Prognostic Factors in Patients Treated with Surgery and Postoperative Radiation Therapy 1. *Radiology* 213(3): 845-852, 1999.
86. Mountain CF. Revisions in the international system for staging lung cancer. *Chest* 111 (6): 1710-1717, 1997.
87. Sun Z, Aubry MC, Deschamps C, Marks RS, Okuno SH, Williams BA, Sugimura H, Pankratz VZ, Yang P. Histologic grade is an independent prognostic factor for survival in non-small cell lung cancer: An analysis of 5018 hospital-and 712 population-based cases. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 131(5): 1014-1020, 2006.
88. Padilla J, Calvo V, Penalver JC, Zarza AG, Pastor J, Blasco E, París F. Survival and risk model for stage IB non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 36(1): 43-48, 2002.
89. Firat S, Bousamra M, Gore E, Byhardt RW. Comorbidity and KPS are independent prognostic factors in stage I non-small-cell lung cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 52 (4): 1047-57, 2002.
90. Mountain CF, Lukeman JM, Hammar SP, Chamberlain DW, Coulson WF, Page DL, Victor TA, Weiland LH. Lung cancer classification: the relationship of disease extent and cell type to survival in a clinical trials population. *Journal of surgical oncology* 35(3): 147-156, 1987.
91. Maki E, Feld R. Prognostic factors in patients with non-small cell lung cancer. A critique of the World literature. *Lung Cancer*, 7:27-34, 1991.
92. Fontanini G, Laurentiis MD, Vignati S, Chiné S, Lucchi M, Silvestri V, Mussi A, Placido SD, Tortora G, Bianco AR, Gullick W, Angeletti CA, Bevilacqua G, Ciardiello F. Evaluation of epidermal growth factor-related growth factors and receptors and of neoangiogenesis in completely resected stage I-IIIa non-small cell lung cancer: amphinegulin and microvessel count are independent prognostic indicator or survival. *Clin Cancer Res* 4: 241-9, 1998.
93. Meert AP, Paesmans M, Martin B, Delmotte P, Berghmans T, Verdebout JM, Lafitte JJ, Mascaux C, Sculier JP. The role of microvessel density on the survival of patients with lung cancer: a systematic review of the literature with metaanalysis. *Br J Cancer* 87: 694-701, 2002.
94. Iizasa, T, Suzuki M, Yasufuku K, Iyoda A, Otsuji M, Yoshida S, Sekine Y, Shibuya K, Saitoh Y, Hiroshima K, Fujisawa, T. Preoperative pulmonary function as a

- prognostic factor for stage I non-small cell lung carcinoma. *Ann Thorac Surg* 77 (6): 1896-902, 2004.
95. Alexiou C, Onyeaka CV, Beggs D, Akar R, Beggs L, Salama FD, Duffy JP, Morgan WE. Do women live longer following lung resection for carcinoma? *Eur J Cardiothorac Surg* 21 (2): 319-25, 2002.
 96. Toh CK, Wong EH, Lim WT, Leong SS, Fong KW, Wee J, Tan EH. The impact of smoking status on the behavior and survival outcome of patients with advanced non-small cell lung cancer: A retrospective analysis. *Chest* 126:1750-6, 2004.
 97. Dresler CM. Is it more important to quit smoking than which chemotherapy used? *Lung Cancer* 39: 119-24, 2003.
 98. Tsurutani J, Castillo SS, Brognard J, Granville CA, Zhang C, Gills JJ, Sayyah J, Dennis PA. Tobacco components stimulate Akt-dependent proliferation and NFκB-dependent survival in lung cancer cells. *Carcinogenesis* 26(7): 1182-1195, 2005.
 99. Goto I, Yoneda S, Yamamoto M, Kawajiri K. Prognostic significance of germ line polymorphisms of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer research* 56(16): 3725-3730, 1996.
 100. Duque JL, Ramos G, Castrodeza J, Cerezal J, Castanedo M, Yuste MG, Heras F. Early complications in surgical treatment of lung cancer: a prospective, multicenter study. *The Annals of thoracic surgery* 63(4): 944-950, 1997.
 101. Myrdal G, Gustafsson G, Lambe M, Hörte LG, Ståhle E. Outcome after lung cancer surgery. Factors predicting early mortality and major morbidity. *European Journal of cardio-thoracic surgery* 20(4): 694-699, 2001.
 102. van Meerbeeck J, Damhuis R, De Wael MV. High postoperative risk after pneumonectomy in elderly patients with right-sided lung cancer. *Eur Respir J* 19: 141-145, 2002.
 103. Licker M, De Perrot M, Hühn L, Tschopp JM, Robert J, Frey JG, Schweizer A, Spiliopoulos, A. Perioperative mortality and major cardio-pulmonary complications after lung surgery for non-small cell carcinoma. *European journal of cardio-thoracic surgery* 15(3): 314-319, 1999.
 104. Ploeg AJ, Kappetein AP, van Tongeren RB, Pahlplatz PV, Kastelein GW, Breslau PJ. Factors associated with perioperative complications and long-term results after pulmonary resection for primary carcinoma of the lung. *European journal of cardio-thoracic surgery* 23(1): 26-29, 2003.

105. Ginsberg RJ, Rubinstein LV. Randomized trial of lobectomy versus limited resection for T1 N0 non-small cell lung cancer. *The Annals of Thoracic Surgery* 60(3): 615-623, 1995.
106. Yaren A, Öztop İ. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde prognostik faktörler. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 27: 72-78, 2007.
107. Stanley K. Prognostic factors for survival in patients with inoperable non-small cell lung cancer. *Radiother and Oncol* 44: 9-15, 1997.
108. Buccheri G, Ferrigno D. Importance of weight loss definition in the prognostic evaluation of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 34: 433-440, 2001.
109. Weber CE, Kuo PC. The tumor microenvironment: *Surg Oncol* 21 (3): 172-177, 2012.
110. Deepak P, Kumar S, Acharya A. Interleukin-13-induced type II polarization of inflammatory macrophages is mediated through suppression of nuclear factor- κ B and preservation of I κ B α in a T cell lymphoma. *Clin Exp Immunol* 149, 378-386, 2007.
111. Solinas G, Germano G, Mantovani A, Allavena P. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. *J Leukocyte Biology* 86: 1065-1073, 2009.
112. Coffelt SB, Hughes R, Lewis CE. Tumor-associated macrophages; Effectors of angiogenesis and tumor progression. *Biochimica et Biophysica Acta* 1796; 11-18, 2009.
113. Siveen KS, Kuttan G. Role of Macrophages in tumour progression. *Immunol Lett* 123(2): 97-102, 2009.
114. Noy R, Pollard JW. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy. *Immunity* 41 (5): 866, 2014.
115. Becker M, Müller CB, De Bastiani MA, Klannt F. The prognostic impact of tumor-associated macrophages and intra-tumoral apoptosis in non-small cell lung cancer. *Histol Histopathol* 29(1): 21-31, 2014.
116. Regh JE, Bush D, Ward JM. The utility of immunohistochemistry for the identification of hematopoietic and lymphoid cells in normal tissues and interpretation of proliferative and inflammatory lesions of mice and rats. *Toxicol Pathol* 40(2): 345-74, 2012.
117. Chen F, Lu Z, Deng J, Han X, Bai J, Liu Q, Xi Y, Zheng J. SPAG9 expression is increased in human prostate cancer and promotes cell motility, invasion and angiogenesis in vitro. *Oncol Rep* 32(6): 2533-40, 2014.

118. Kanojia D, Garg M, Saini S, Agarwal S, Parashar D, Jagadish N, Seth A, Bhatnagar A, Gupta A, Kumar R, Lohiya NK, Suri A. Sperm associated antigen 9 plays an important role in bladder transitional cell carcinoma. *PLoS One* 8(12): e81348, 2013.
119. Garg M, Kanojia D, Khosla A, Dudha N, Sati S, Chaurasiya D, Jagadish N, Seth A, Kumar R, Gupta S, Gupta A, Lohiya NK, Suri A. Sperm-associated antigen 9 is associated with tumor growth, migration, and invasion in renal cell carcinoma. *Cancer Res* 68(20): 8240-8248, 2008.
120. Dhanasekaran DN, Reddy EP. JNK Signaling in apoptosis. *Oncogene* 27 (48): 6245-6251, 2008.
121. Sinha A, Agarwal S, Parashar D, Verma A, Saini S, Jagadish N, Ansari AS, Lohiya NK, Suri A. Down regulation of SPAG9 reduces growth and invasive potential of triple-negative breast cancer cells: possible implications in targeted therapy. *J Exp Clin Cancer Res* 32: 69, 2013.
122. Köktürk N, Kırıçoğlu CE, Öztürk C. Akciğer kanseri moleküler biyolojisi. *Solunum* 5: 127-138, 2003.
123. Angiogenesis in non-small cell lung cancer: the prognostic impact of neoangiogenesis and the cytokines VEGF and bFGF in tumours and blood. *Lung Cancer* 51: 143-158, 2006.
124. Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature* 339:58-61, 1989.
125. Bicknell R, Harris AL. Novel growth regulatory factors and tumor angiogenesis. *Eur J Cancer* 27: 781-784, 1991.
126. Montesano R, Vassalli JD, Baird A, Guillemin R, Orci L. Basic fibroblast growth factor induces angiogenesis in vitro. *Proc Natl Acad Sci* 83: 7297-7301, 1986.
127. Nakamura T, Nawa K, Ichihara A. Partial purification and characterization of hepatocyte growth factor from serum of hepatomized rats. *Biochem Biophys Res Commun* 122: 1450-1459, 1984.
128. Ishikawa F, Miyazono K, Hellman U, Drexler H, Wernstedt C, Hagiwara K, Usuki K, Takaku F, Risau W, Heldin CH. Identification of angiogenic activity and the cloning and expression of platelet derived endothelial growth factor. *Nature* 338: 557-562, 1989.
129. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 246: 1306-1309, 1989.

130. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 9: 669-676, 2003.
131. Tolentino MJ, Miller JW, Gragoudas ES, Chatzistefanou K, Ferrara N, Adamis AP. Vascular endothelial growth factor is sufficient to produce iris neovascularization and neovascular glaucoma in a nonhuman primate. *Arch Ophthalmol* 114: 964-970, 1996.
132. Rosenstein JM, Mani N, Silverman WF, Krum JM. Patterns of brain angiogenesis after vascular endothelial growth factor administration in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci* 95: 7086-7091, 1998.
133. Pepper MS, Ferrara N, Orci L, Montesano R. Potent synergism between vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 189: 824-831, 1992.
134. Abu-Jawdeh JG, Faix JD, Niloff J, Tognazzi K, Manseau E, Dvorak HF, Brown LF. Strong expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in ovarian borderline and malignant neoplasms. *Lab Invest* 74: 1105-1115, 1996.
135. Claffey KP, Brown LF, del Aguila AL, Tognazzi K, Yeo KT, Manseau EJ, Dvorak HF. Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor by melanoma cells increases tumor growth, angiogenesis, and experimental metastasis. *Cancer Res* 56: 172-181, 1996.
136. Maeda K, Chung YS, Ogawa Y, Takatsuka S, Kang SM, Ogawa M, Sawada T, Sowa M. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma. *Cancer* 77: 858-863, 1996.
137. Garg M, Chaurasiya D, Rana R, Jagadish N, Kanojia D, Dudha N, Kamran N, Salhan S, Bhatnagar A, Suri S. Sperm-associated antigen 9, a novel cancer testis antigen, is a potential target for immunotherapy in epithelial ovarian cancer. *Clin Cancer Res.* 13: 1421-1428, 2007.
138. Kanojia D, Garg M, Gupta S, Gupta A, Suri A. Sperm-associated antigen 9, a novel biomarker for early detection of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 18: 630-639, 2009.
139. Garg M, Kanojia D, Salhan S, Suri S, Gupta A, Lohiya NK, Suri A. Sperm-associated antigen 9 is a biomarker for early cervical carcinoma. *Cancer* 115:2671-2683, 2009.

140. Garg M, Kanojia D, Suri S, Gupta S, Gupta A, Suri A. Sperm-associated antigen 9: A novel diagnostic marker for thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 94: 4613–4618, 2009.
141. Li H, Peng Y, Niu H, Wu B, Zhang Y, Zhang Y, Bai X, He P. SPAG9 is overexpressed in human prostate cancer and promotes cancer cell proliferation. *Tumour Biol* 35: 6949–6954, 2014.
142. Yi F, Ni W, Liu W, Pan X, Han X, Yang L, Kong X, Ma R, Chang R. SPAG9 is overexpressed in human astrocytoma and promotes cell proliferation and invasion. *Tumour Biol* 34: 2849–2855, 2013.
143. Xie C, Fu L, Liu N, Li Q. Overexpression of SPAG9 correlates with poor prognosis and tumor progression in hepatocellular carcinoma. *Tumour Biol* 35: 7685–7691, 2014.
144. Caballero OL, Chen YT. Cancer/testis (CT) antigens: Potential targets for immunotherapy. *Cancer Sci* 100: 2014–2021, 2009.
145. Chen F, Lu Z, Deng J, Han X, Bai J, Liu Q, Xi Y, Zheng J. SPAG9 expression is increased in human prostate cancer and promotes cell motility, invasion and angiogenesis in vitro. *Oncol Rep* 32: 2533–2540, 2014.
146. Garg M, Kanojia D, Suri S, Suri A. Small interfering RNA-mediated down-regulation of SPAG9 inhibits cervical tumor growth. *Cancer* 115: 5688–99, 2009.
147. Kanojia D, Garg M, Gupta S, Gupta A, Suri A. Sperm-associated antigen 9 is a novel biomarker for colorectal cancer and is involved in tumor growth and tumorigenicity. *Am J Pathol* 178: 1009–20, 2011.
148. Wang Y, Dong Q, Miao Y, Fu L, Lin X, Wang E. Clinical significance and biological roles of SPAG9 overexpression in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 81(2): 266-72, 2013.
149. Forssell J, Oberg A, Henriksson ML, Stenling R, Jun A, Palmqvist R. High macrophage infiltration along the tumor front correlates with improved survival in colon cancer. *Clin Cancer Res* 13(5): 1472-1479, 2007.
150. Zhou Q, Peng RQ, Wu XJ, Xia Q, Hou JH, Ding Y, Zhou QM, Zhang X, Pang ZZ, Wan DS, Zen YX, Zhang XS. The density of macrophages in the invasive front is inversely correlated to liver metastasis in colon cancer. *J Transl Med* 8: 12, 2010.
151. Wan T, Liu JH, Zheng LM, Cai MY, Ding T. Prognostic significance of tumor-associated macrophage infiltration in advanced epithelial ovarian carcinoma. *Chinese Journal of Cancer* 28(3): 323-327, 2009.

152. Liu J, Li Z, Cui J, Xu G, Cui G. Cellular changes in the tumor microenvironment of human esophageal squamous cell carcinomas. *Tumour Biol* 33(2): 495- 505.
153. Hanada T, Nakagawa M, Emoto A, Nomura T, Nasu N, Nomura Y. Prognostic value of tumor-associated macrophage count in human bladder cancer. *Int J Urol* 7(7): 263-9, 2000.
154. Torisu H, Ono M, Kiryu H, Furue M, Ohmoto Y, Nakayama J, Nishioka Y, Sone S, Kuwano M. Macrophage infiltration correlates with tumor stage and angiogenesis in human malignant melanoma: possible involvement of TNFalpha and IL-1alpha. *Int J Cancer* 85(2):182-188, 2000.
155. Zhang QW, Liu L, Gong CY, Shi HS, Zeng YH, Wang XZ, Zhao YW, Wei YQ. Prognostic significance of tumor-associated macrophages in solid tumor: A meta-analysis of the literature. *PloS one* 7.12: e50946, 2012.
156. Zhang B, Yao G, Zhang Y, Gao J, Yang B, Rao Z, Gao J. M2-Polarized tumor-associated macrophages are associated with poor prognoses resulting from accelerated lymphangiogenesis in lung adenocarcinoma. *Clinics* 66: 1879-1886, 2011.
157. Arenberg DA, Keane MP, DiGiovine B, Kunkel SL, Strom SRB, Burdick M.D, Iannettoni MD, Strieter RM. Macrophage infiltration in human non-small-cell lung cancer: the role of CC chemokines. *Cancer Immunol Immunother* 49: 63-70, 2000.
158. Chen JJ, Yao PL, Yuan A, Hong TM, Shun CT, Kuo ML, Lee YC, Yang PC. Up-Regulation of tumor interleukin-8 expression by infiltrating macrophages its correlation with tumor angiogenesis and patient survival in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 9: 729-737, 2003.
159. da Costa Souza P, Parra ER, Atanazio MJ, da Silva OB, Noleto GS, Ab'Saber AM, de Moraes Fernezlian S, Takagaki T, Capelozzi VL. Different morphology, stage and treatment affect immune cell infiltration and long-term outcome in patients with non-small-cell lung carcinoma. *Histopathology* 61: 487-596, 2012.
160. Kim D, Min H, Lee K, Kim Y, Oh D, Jeon Y, Lee S, Im S, Chung D, Kim Y. High tumour islet macrophage infiltration correlates with improved patient survival but not with EGFR mutations, gene copy number or protein expression in resected non-small cell lung cancer. *Br. J. Cancer* 98: 1118-1124, 2008.
161. Toomey D, Smyth G, Condrón C, Kelly J, Byrne AM, Kay E, Conroy RM, Broe P, Bouchier-Hayes D. Infiltrating immune cells, but not tumour cells, express FasL in

- non-small cell lung cancer: No association with prognosis identified in 3-year follow-up. *Int. J. Cancer* 103: 408-412, 2002.
162. Al-Shibli K, Al-Saad S, Donnem T, Persson M, Bremnes RM, Busund LT. The prognostic value of intraepithelial and stromal innate immune system cells in non-small cell lung carcinoma. *Histopathology* 55(3): 301-312, 2009.
 163. Krupnova EV, Shapetska MN, Mikhalenko EP, Chebotaryova NV, Shchayuk AN, Pissarchik SN, Prokhorov AV. Role of vascular endothelial growth factor in non-small cell lung cancer pathogenesis. *Experimental oncology* 37(3): 213-217, 2015.
 164. Ferrara N. Vascular endothelial growth factors as a target for anticancer therapy. *Oncologist* 9: 2–10, 2004.
 165. Ferrara N. VEGF and the quest for tumour angiogenesis factors. *Nat Rev Cancer* 2: 795–803, 2002.
 166. Jin Q, Hemminki K, Enquist K, Lenner P, Grzybowska E, Klaes R, Henriksson R, Chen B, Pamula J, Pekala W, Zientek H, Rogozinska-Szczepka J, Utracka-Hutka B, Hallmans G, Försti A. Vascular endothelial growth factor polymorphisms in relation to breast cancer development and prognosis. *Clin Cancer Res* 11: 3647–3653, 2005.
 167. Koukourakis MI, Papazoglou D, Giatromanolaki A, Bougioukas G, Maltezos E, Sivridis E. VEGF gene sequence variation defines VEGF gene expression status and angiogenic activity in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 46: 29329–8, 2004.
 168. Liss C, Fekete MJ, Hasina R, Lam CD, Lingen MW. Paracrine angiogenic loop between head-and-neck squamous-cell carcinomas and macrophages. *Int. J. Cancer* 93: 781–785, 2001.
 169. Yamamori M, Sakaeda T, Nakamura T, Okamura N, Tamura T, Aoyama N, Kamigaki T, Ohno M, Shirakawa T, Gotoh A, Kuroda Y, Matsuo M, Kasuga M, Okumura K. Association of VEGF genotype with mRNA level in colorectal adenocarcinomas. *Biochem Biophys Res Commun* 325: 144–150, 2004.
 170. Kim KJ, Li B, Winer J, Armanini M, Gillett N, Phillips HS, Ferrara N. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature* 362: 841-844, 1993.
 171. Millauer B, Longhi MP, Plate KH, Shawver LK, Risau W, Ullrich A, Strawn LM. Dominant-negative inhibition of Flk-1 suppresses the growth of many tumor types in vivo. *Cancer Res* 56:1615-1620, 1996.

172. Devery AM, Wadekar R, Bokobza SM, Weber AM, Jiang Y, Ryan AJ. Vascular endothelial growth factor directly stimulates tumour cell proliferation in non-small cell lung cancer. *International journal of oncology* 47(3): 849-856, 2015.
173. Awata T, Inoue K, Kurihara S, Ohkubo T, Watanabe M, Inukai K, Inoue I, Katayama S. A common polymorphism in the 50-untranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Diabetes* 51: 1635–1639, 2002.
174. Niklińska W, Burzykowski T, Chyczewski L, & Nikliński J. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in non-small cell lung cancer (NSCLC): association with p53 gene mutation and prognosis. *Lung cancer* 34: 59-64, 2001.
175. O’Byrne KJ, Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Cox G, Turley H, Steward WP, Gatter K, Harris AL. Vascular endothelial growth factor, platelet-derived endothelial cell growth factor and angiogenesis in non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 82: 1427-1432, 2000.
176. 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. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 115(5): 1007-1014, 1998.
177. Jackute J, Zemaitis M, Pranys D, Sitkauskiene B, Miliauskas S, Bajoriunas V, Lavinskiene S, Sakalauskas R. The prognostic influence of tumor infiltrating Foxp3+ CD4+, CD4+ and CD8+ T cells in resected non-small cell lung cancer. *Journal of Inflammation* 12(1): 63, 2015.
178. Arens R, Schoenberger SP. Plasticity in programming of effector and memory CD8 T-cell formation. *Immunol Rev* 235(1): 190–205, 2010.
179. Zhang Y, Huang Y, Qin M. Tumour-infiltrating FoxP3+ and IL-17-producing T cells affect the progression and prognosis of gallbladder carcinoma after surgery. *Scand J Immunol* 78(6): 516–22, 2013.
180. Kawai O, Ishii G, Kubota K, Murata Y, Naito Y, Mizuno T, et al. Predominant infiltration of macrophages and CD8(+) T Cells in cancer nests is a significant predictor of survival in stage IV nonsmall cell lung cancer. *Cancer*. 113(6): 1387–95, 2008.
181. Ito N, Suzuki Y, Taniguchi Y, Ishiguro K, Nakamura H, Ohgi S. Prognostic significance of T helper 1 and 2 and T cytotoxic 1 and 2 cells in patients with non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 25(3B): 2027–2031, 2005.

182. Liu H, Zhang T, Ye J, Li H, Huang J, Li X, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes predict response to chemotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Cancer Immunol Immunother* 61(10): 1849–1856, 2012.
183. Tormanen-Napankangas U, Soini Y, Paakko P. High number of tumour-infiltrating lymphocytes is associated with apoptosis in non-small cell lung carcinoma. *APMIS* 109(7–8): 525–532, 2001.
184. Neurath MF, Finotto S. The emerging role of T cell cytokines in non-small cell lung cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 23(6): 315–22, 2012.
185. Geng Y, Shao Y, He W, Hu W, Xu Y, Chen J, Wu C, Jiang J. Prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes in lung cancer: a meta-analysis. *Cellular Physiology and Biochemistry* 37(4):1560-1571, 2015.
186. Jackutė J, Žemaitis M, Pranys D, Šitkauskienė B, Miliauskas S, Bajoriūnas V, Sakalauskas R. Distribution of CD4+ and CD8+ T cells in tumor islets and stroma from patients with non-small cell lung cancer in association with COPD and smoking. *Medicina* 51(5): 263-271, 2015.
187. Müller P, Rothschild SI, Arnold W, Hirschmann P, Horvath L, Bubendorf L, Savic S, Zippelius A. Metastatic spread in patients with non-small cell lung cancer is associated with a reduced density of tumor-infiltrating T cells. *Cancer Immunology, Immunotherapy* 65(1): 1-11, 2016.
188. Quatromoni JG, Eruslanov E. Tumor-associated macrophages: function, phenotype, and link to prognosis in human lung cancer. *Am J Transl Res* 4: 376–389, 2012.
189. Franklin RA, Liao W, Sarkar A, Kim MV, Bivona MR, Liu K, Pamer EG, Li MO. The cellular and molecular origin of tumor-associated macrophages. *Science* 344: 921–925, 2014.
190. Müller P, Martin K, Theurich S, Schreiner J, Savic S, Terszowski G, Lardinois D, Heinzlmann-Schwarz VA, Schlaak M, Kvasnicka HM, Spagnoli G, Dirnhöfer S, Speiser DE, von Bergwelt-Baildon M, Zippelius A. Microtubule-depolymerizing agents used in antibody-drug conjugates induce antitumor immunity by stimulation of dendritic cells. *Cancer Immunol Res* 2: 741–755, 2014.
191. Suzuki M, Betsuyaku T, Nagai K, Fuke S, Nasuhara Y, Kaga K, Kondo S, Hamamura I, Hata J, Takahashi H, Nishimura M. Decreased airway expression of vascular endothelial growth factor in cigarette smoke-induced emphysema in mice and COPD patients. *Inhal Toxicol* 20(3): 349-359, 2008.