

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
TIBBİ ONKOLOJİ BİLİM DALI**

**İLERİ EVRE KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER  
KANSERLİ HASTALARDA SERUM VASKÜLER  
ENDOTELİYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ, ENDOTELİN-1  
VE ALFA KALSİTONİN GEN İLİŞKİLİ PEPTİD  
DÜZEYLERİNİN ANJİYOGENEZ VE PROGNOZ  
ÜZERİNE ETKİLERİ**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

**UZ. DR. SERKAN DEĞİRMENCİOĞLU**

**TEZ DANIŞMANI**

**DOÇ. DR. ARZU YAREN**

**DENİZLİ-2011**

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
TIBBİ ONKOLOJİ BİLİM DALI**

**İLERİ EVRE KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER  
KANSERLİ HASTALARDA SERUM VASKÜLER  
ENDOTELİYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ, ENDOTELİN-1  
VE ALFA KALSİTONİN GEN İLİŞKİLİ PEPTİD  
DÜZEYLERİNİN ANJİYOGENEZ VE PROGNOZ  
ÜZERİNE ETKİLERİ**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

**UZ. DR. SERKAN DEĞİRMENCİOĞLU**

**TEZ DANIŞMANI**

**DOÇ. DR. ARZU YAREN**

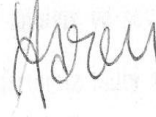
**DENİZLİ-2011**

Doç. Dr. Arzu Yaren danışmanlığında Uz. Dr. Serkan Değirmencioğlu tarafından yapılan "İleri Evre Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Hastalarda Serum vasküler endotelial büyüme faktörü, endotelin-1 ve alfa kalsitonin gen ilişkili peptid düzeylerinin anjiyogenez ve prognoz üzerine etkileri" başlıklı çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda TIPTA YAN DAL UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir

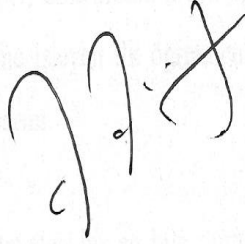
BAŞKAN Prof. Dr. Ali KESKİN



ÜYE Doç. Dr. Arzu YAREN



ÜYE Yrd. Doç. Dr. Gamze Gököz Doğu



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

28 / 06 / 2011

Prof. Dr. Mustafa KILIÇ  
T.C PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANI



## TEŐEKKÜR

Uzmanlık ve yan dal uzmanlık eğitiminin süresince üzerimde büyük emekleri olan, engin bilgi ve deneyimleriyle aydınlandığım, kendileriyle çalışmaktan kıvanç duyduğum ve daima kendime örnek aldığım saygıdeğer hocalarım; başta tez hocam Doç. Dr. Arzu Yaren'e ve İç Hastalıkları A.B.D. Başkanı Prof. Dr. Ali Keskin'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Her zor anımda yanımda olan, sonsuz anlayış ve sevgisiyle beni destekleyen eşim Uzm. Dr. Burcu Değirmencioğlu'na, tertemiz kalbi ve yaşından öte sabırla bana güç veren canım kızım Buse'me, doğduğumdan beri desteklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen, erdem ve azmi yorulmadan içime işleyen ilk öğretmenlerim canım anneme ve birtanecik babama teşekkürlerimi sunarım.

Onkoloji polikliniğinde takım ruhunu hiç kaybetmeden bir an bile durmadan yorulmadan çalışan tüm değerli asistan arkadaşlarıma teşekkürleri borç bilirim.

Uz. Dr. Serkan Değirmencioğlu

## İÇİNDEKİLER

Sayfa No

<b>GİRİŞ</b>	1
<b>GENEL BİLGİLER</b>	3
<b>KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİ</b>	3
Epidemiyoloji	3
Tarama ve korunma	6
Prognostik faktörler ve prediktif biyobelirteçler	7
EGFR mutasyonları, gen kopya sayısı ve ekspresyon seviyesi	8
ERCC1 ekspresyon seviyesi	10
K-ras mutasyonu	10
RRM1 ekspresyon seviyesi	11
CYP1A1 gen polimorfizmi	11
CYFRA 21-1	11
Nöron spesifik enolaz	12
Karsinoembriyonik antijen	12
Laktat dehidrogenaz	13
Evreleme	13
Tedavi yaklaşımları	14
<b>ANJİYOGENEZ</b>	15
<b>ENDOJEN ANTİANJİYOGENİK AJANLAR</b>	23
<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b>	24
<b>OLGULAR</b>	24
<b>BİYOKİMYASAL ANALİZLER</b>	24
<b>İSTATİSTİKSEL ANALİZ</b>	25
<b>BULGULAR</b>	27
<b>HASTA VE KONTROL GRUBUNUN ÖZELLİKLERİ</b>	27

<b>HASTA VE KONTROL GRUBUNUN KARŞILAŞTIRILMASI</b>	<b>28</b>
<b>HASTALARDA VEGF, CGRP VE ET – 1 DÜZEYLERİNİN</b>	<b>29</b>
<b>KLİNİKOPATOLOJİK ÖZELLİKLER İLE</b>	
<b>KARŞILAŞTIRILMASI</b>	
<b>SAĞKALIM ANALİZLERİ</b>	<b>34</b>
<b>PROGRESYONU VE SAĞKALIMI ETKİLEYEN</b>	<b>41</b>
<b>FAKTÖRLERİN ÇOK DEĞİŞKENLİ ANALİZLE</b>	
<b>DEĞERLENDİRİLMESİ</b>	
<b>TARTIŞMA</b>	<b>42</b>
<b>SONUÇLAR</b>	<b>60</b>
<b>ÖZET</b>	<b>63</b>
<b>YABANCI DİL ÖZETİ</b>	<b>65</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>67</b>

## TABLolar ÇİZELGESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo-1</b> VEGF ailesi ve fonksiyonları	16
<b>Tablo -2</b> Anjiyogenik ve anti-anjiyogenik endojen faktörler	23
<b>Tablo -3</b> Hasta ve kontrol grubunun demografik ve klinik özellikleri	27
<b>Tablo -4</b> Hasta ve kontrol grubunun laboratuvar değerleri	28
<b>Tablo -5</b> Hasta ve kontrol grubunda serum endotelin-1, VEGF ve CGRP dağılımları	29
<b>Tablo -6</b> Hasta grubunda serum VEGF seviyeleri ile klinik özelliklerin ilişkisi	31
<b>Tablo -7</b> Hasta grubunda serum CGRP seviyeleri ile klinik özelliklerin ilişkisi	32
<b>Tablo -8</b> Hasta grubunda serum ET-1 seviyeleri ile klinik özelliklerin ilişkisi	33

## ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

		<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil-1</b>	VEGF ailesi üyeleri ve bağlandıkları VEGF reseptörleri	17
<b>Şekil-2</b>	VEGF düzeyine göre progresyonsuz sağkalım eğrisi	34
<b>Şekil-3</b>	CGRP düzeyine göre progresyonsuz sağkalım eğrisi	35
<b>Şekil-4</b>	ET-1 düzeyine göre progresyonsuz sağkalım eğrisi	35
<b>Şekil-5</b>	VEGF düzeyine göre tüm sağkalım eğrisi	36
<b>Şekil-6</b>	CGRP düzeyine göre tüm sağkalım eğrisi	37
<b>Şekil-7</b>	ET-1 düzeyine göre tüm sağkalım eğrisi	37
<b>Şekil-8</b>	Albumin düzeyine göre tüm sağkalım eğrisi	38
<b>Şekil-9</b>	TSH düzeyine göre tüm sağkalım eğrisi	39
<b>Şekil-10</b>	CRP düzeyine göre tüm sağkalım eğrisi	39
<b>Şekil-11</b>	LDH düzeyine göre tüm sağkalım eğrisi	40



## KISALTMALAR

<b>ABD</b>	Amerika Birleşik Devletleri
<b>AFR</b>	Akut faz reaksiyonu
<b>AFP</b>	Akut faz proteinleri
<b>ALT</b>	Alanin aminotransferaz
<b>Ang</b>	Anjiopietin
<b>APUD</b>	Amin öncülleri tutulumu ve dekarboksilasyonu
<b>AST</b>	Aspartat amino transferaz
<b>ATP</b>	Adenozin trifosfat
<b>BAK</b>	Bronkoalveoler karsinom
<b>b FGF</b>	Temel fibroblast büyüme faktörü
<b>BQ123</b>	Selektif ET-AR antagonisti
<b>BQ788</b>	Selektif ET-BR antagonisti
<b>BT</b>	Bilgisayarlı tomografi
<b>CA 19-9</b>	Kanser antijen 19-9
<b>CA 125</b>	Kanser antijen 125
<b>cAMP</b>	siklik adenozin monofosfat
<b>CEA</b>	Karsinoembriyonik antijen
<b>CLP</b>	Kalsitonin reseptörü benzeri reseptör
<b>CRP</b>	C-reaktif peptid
<b>CGRP</b>	Alfa kalsitonin gen ilişkili peptid
<b>CYFRA21-1</b>	Sitokeratin fragman 19
<b>CYP1A1</b>	Sitokrom p450 1A1
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>ECE</b>	Endotelin dönüştürücü enzim
<b>ECM</b>	Ekstrasellüler matriks
<b>ECOG</b>	Eastern cooperative oncology group
<b>EGF</b>	Epidermal büyüme faktörü
<b>EGFR</b>	Epidermal büyüme faktörü reseptörü
<b>ELISA</b>	Enzyme-linked immunosorbent assay
<b>ERCC1</b>	Nükleotid eksizyon tamir kompleksinin 5' endonükleazı
<b>ET-1</b>	Endotelin-1
<b>ET-AR</b>	Endotelin A reseptörü
<b>ET-BR</b>	Endotelin B reseptörü
<b>FDA</b>	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
<b>FGF</b>	Fibroblast büyüme faktörü
<b>FGFR1</b>	fibroblast büyüme faktörü reseptör 1
<b>FISH</b>	Flow in-situ hibridizasyon
<b>GTP</b>	Guanozin trifosfat
<b>Hb</b>	Hemoglobin
<b>HIF</b>	Hipoksi ile indüklenen faktör

<b>IALT</b>	Uluslararası adjuvan akciğer çalışması
<b>IHK</b>	İmmünohistokimya
<b>IL</b>	İnterlökin
<b>KHAK</b>	Küçük hücreli akciğer kanseri
<b>KHDAK</b>	Küçük hücre dışı akciğer kanseri
<b>K-ras</b>	Kirsten-Rous sarkom virüsü
<b>LDH</b>	Laktat dehidrogenaz
<b>MAPK</b>	Mitojen tarafından aktive edilmiş protein kinaz
<b>MIP</b>	Makrofaj inflamatuvar protein
<b>m-RNA</b>	Messenger (haberci) Ribonükleik Asit
<b>MMP</b>	Matriks metalloproteinaz
<b>Nrp 1-2</b>	Nörofilin 1-2
<b>NSE</b>	Nöron spesifik enolaz
<b>p53</b>	tümör süpresör protein 53
<b>PCR</b>	Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>PDGF</b>	Trombosit kökenli büyüme faktörü
<b>PIGF</b>	Plesanta büyüme faktörü
<b>Plt</b>	Trombosit
<b>pN<sub>2</sub></b>	Patolojik mediastinal lenf nodu tutulumu
<b>PNL</b>	Polimorf nüveli lökosit
<b>PS</b>	Performans statüsü
<b>RAMP1</b>	Reseptör aktivitesini modifiye edici protein 1
<b>RET</b>	Rearranged during transfection
<b>RRM1</b>	Ribonükleotid redüktazın düzenleyici alt birimi
<b>RT</b>	Revers transkriptaz
<b>SPSS-17.0</b>	Statistical Package for Social Sciences version 17.0
<b>SWOG</b>	Güneybatı onkoloji grubu
<b>T3</b>	Triiyodotironin
<b>T4</b>	Tiroksin
<b>TGF <math>\alpha</math></b>	Transforme edici büyüme faktörü alfa
<b>TIMP</b>	metalloproteinaz doku inhibitörü
<b>Tie-2</b>	Tirozin kinaz reseptörü
<b>TKİ</b>	Tirozin kinaz inhibitörleri
<b>TNM</b>	Tümör- lenf nodu tutulumu-metastaz
<b>TSP</b>	Trombospondin
<b>TSH</b>	Tiroid stimüle edici hormon
<b>VEGF</b>	Vasküler endotelial büyüme faktörü
<b>VEGFR 1</b>	FMS benzeri tirozin kinaz (Flt 1)
<b>VEGFR 2</b>	Fetal karaciğer kinaz (flk)
<b>VEGFR3</b>	FMS benzeri tirozin kinaz 4 (Flt4)
<b>VPF</b>	Vascular permeability factor
<b>WHO</b>	Dünya sağlık örgütü

## GİRİŞ

Akciğer kanseri, görülme sıklığı ve ölüm oranının giderek artması nedeniyle tüm dünyada önemli bir sağlık sorunudur. Akciğer kanseri her iki cinste kansere bağlı ölümlerin başında gelmektedir. Akciğer kanserinin %85'ini küçük hücre dışı akciğer kanseri (KHDAK) oluşturmaktadır. Hastaların büyük çoğunluğu ileri evrededir ve bu grup hastalarda kemoterapi, radyoterapi ve hedefe yönelik tedaviler, tek başına veya kombine olarak uygulanmaktadır. Multimodal tedavilerde son yıllarda önemli gelişmeler kaydedilmiş olmasına karşın, akciğer kanserinde prognoz son 20 yıl içinde önemli bir değişiklik göstermemiş, 5 yıllık sağkalım ancak %15'e ulaşabilmiştir. Bu durum, pek çok araştırmacıyı hastalığın genetik, moleküler ve biyolojik özelliklerini ortaya koymaya ve buna göre etkin, hedefe yönelik tedaviler geliştirmeyi amaçlayan çalışmalar yapmaya yöneltmiştir (1).

Akciğer kanserli hastalarda prognostik faktörlerin belirlenmesine yönelik çalışmalar önceleri hastaya ve tümöre ilişkin klinik özelliklere (hastalığın yaygınlığı, kilo kaybı gibi) dayalı iken, son dönemlerde akciğer kanserinin moleküler ve genetik özelliklerinin anlaşılmasına yönelik çalışmaları içermektedir. Literatürde pek çok prognostik faktör tanımlanmış olmasına karşın, tümör-lenf nodu tutulumu-metastaz (TNM) evrelemesi halen en önemli prognostik faktör olma özelliğini korumaktadır (2). Kilo kaybı ve performans durumu gibi hastaya ilişkin faktörler diğer önemli prognostik faktörleri oluştururken, tümörün histolojik, biyolojik ve genetik özelliklerini yansıtan faktörler ümit vadeden faktörler olarak tanımlanmakta ve bu parametrelere ilişkin çalışmalar sürmektedir.

Günümüzde kanser tedavisi alanında hedefe yönelik tedaviler giderek sık kullanılmaya başlanmıştır. Olası hedefler tümör anjiyogenezi ve proliferasyonu üzerine odaklanmıştır. Çünkü tümör büyümesinde anjiyogenez önemli rol oynamaktadır. Anjiyogenez mevcut damarsal yapılanma dışında yeni damar oluşumdur. Solid tümörler 1-2 mm çapa ulaştıktan sonra büyümek için yeni damar yapılarına ihtiyaç duyarlar (3).

Tümör hücreleri, damarın yapıtaşını oluşturan endotel hücrelerinin farklılaşması ve göçü için gereken büyüme faktörlerinin salgılanmasını arttırlar. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) endotel hücreleri için en etkin büyüme faktörüdür (3). Meme, kolon, mide, akciğer dokularından köken alan birçok solid tümörde VEGF aşırı ekspresyonu bildirilmiştir (3). Tümör evresi artışı ile VEGF seviyesi artışı arasında da anlamlı ilişki bildirilmiştir. Endotelin-1 (ET-1), başta endotel hücreleri olmak üzere çeşitli epitelial hücreler tarafından sentezlenir. Birçok hücrenin farklılaşmasında ve mitozunda rol alan endotelin ailesi üyesi bir peptittir. Endotel hücrelerinin farklılaşmasını sağlayarak anjiyogenezi arttırmaktadır. Otokrin ve parakrin mekanizmalarla tümör hücrelerinin proliferasyonu, migrasyonu ve invazyonu ile apoptoza direnç kazanmalarını sağlar (4). Alfa kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP) ise santral ve periferik sinir sisteminde sinir uçlarından salgılanır. In vitro çalışmalarda vasküler endotelden tüp oluşumunu arttırdığı, in vivo olarak da anjiyogeneze katkıda bulunduğu bildirilmektedir (5).

Anjiyogenez, akciğer kanseri patogenezinin çok erken dönemlerinden itibaren rol oynamaktadır. Bronş epitelini içine girinti yapan kapiller damarlar tarafından ortaya çıkarılan bir premalign lezyon olan “anjiyogenik skuamöz displazi” bu duruma en iyi örnektir. KHDAK hastalarında %30 – 40 oranında aşırı VEGF ekspresyonuna bağlı yüksek anjiyogenik aktivite geliştiği bildirilmektedir. Birçok çalışma akciğer kanserinde anjiyogenez varlığının ve mikrodamar yoğunluğunun sağkalım için olumsuz prognostik faktörler olduklarını göstermiştir (6-7).

Bu çalışma, kansere bağlı ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer alan ve toplumda önemli bir sağlık sorunu olan KHDAK’nde anjiyogenez ve proliferasyondan sorumlu moleküllerden VEGF, ET-1 ve CGRP’nin prognoz ve sağkalım üzerine etkilerini değerlendirmek amacıyla planlandı. Prognozu kötü olan KHDAK’li hastalarda moleküler farklılığın ortaya konması, tedavi modalitelerinin belirlenmesinde daha etkin bir yere sahip olacak, tedavi etkinliğinin artırılmasında anjiyogenez inhibitörü hedefe yönelik ajanların katkısını arttıracaktır.

## GENEL BİLGİLER

### KÜÇÜK HÜCRE DIŞI AKCİĞER KARSİNOMU

#### Epidemiyoloji

Akciğer Kanseri Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) kansere bağlı ölümlerin en sık nedenidir. 2009 yılında 209440 hasta yeni tanı almış olup, 2009 yılı içinde 159390 hasta akciğer kanserine bağlı kaybedilmiştir (8). Tanı sonrası sadece %15 hasta 5 yıl ve üzeri hayatta kalabilmektedir. Sık karşılaşılan semptomlar: öksürük, nefes darlığı, göğüs ağrısı, kilo kaybıdır. Semptomatik hastalarda sıklıkla altta yatan kronik obstrüktif akciğer hastalığı mevcuttur.

Akciğer kanseri için başlıca risk faktörü sigara içimidir. Sigara içimi akciğer kanseri ilişkili ölümlerin %85'inin fazlasından sorumludur. Sigarada bulunan özgün metabolitlerden biri olan benzopirin p53 tümör supresör geninde üç ayrı lokus harabiyeti yapar. Hasara uğramış bu gen primer akciğer kanserlerinin %60'ında gösterilmiştir (9). Yine sigarada bulunan aromatik hidrokarbonlar mutasyonlara (sıcak noktalara) neden olarak akciğer kanserine sebep olurlar (10). Akciğer kanseri sigara içmeyenlere oranla sigara içen erkeklerde 22 kat, sigara içen kadınlarda ise 12 kat fazla görülmektedir. Sigaraya başlama yaşı, kullanım süresi, günlük içilen sigara sayısı ve içeriğindeki katran miktarı ile ölüm riski orantılı olarak artmaktadır. Günde 25 ve daha fazla sayıda sigara içen 35 yaşındaki bir erkekte 75 yaşına gelmeden önce akciğer kanserine bağlı ölüm riski % 13, koroner arter hastalığına bağlı ölüm riski % 10, sigara içimi ile ilişkili hastalıklardan ölüm riski % 28 olarak hesaplanmıştır. Sigara bırakılması ile akciğer kanseri riski ve buna bağlı ölüm riski yıllar içerisinde azalmaktadır. Genç yaşlarda sigaranın bırakılması riski belirgin olarak azaltmaktadır. Ayrıca pasif sigara içiminin de akciğer kanseri gelişiminde önemli katkısı bulunmaktadır. Bu şekilde sigara içmeyen ancak çevresel sigara dumanına maruz kalan bireylerde akciğer kanseri gelişme oranı sigara içmeyen popülasyona göre % 30 daha fazla olup, sigara içmeyenlerde görülen akciğer kanseri ölümlerinin % 20'sini oluşturmaktadır (11).

Akciğer kanserinin ikinci en sık nedeni radyum 226 izotopunun yarılanması sonucu oluşan radyoaktif radon gazıdır (1). İzotopun yarılanmasıyla alfa ışını yayan partiküller ortaya çıkarak malignite potansiyelini arttıran hücre hasarı oluşturur. Yer altı madenlerinde bulunan düzeylerde radon gazına maruziyet akciğer kanserine neden olabilmektedir ve yine sigara içenlerde riski 1.3-1.8 kat daha arttırmaktadır (12).

Akciğer kanseri riskini arttıran bir diğer önemli faktör de hava kirliliğidir. Endüstriyel çevrelerde akciğer kanserinin daha fazla görülme nedeni dış ortamdaki havanın kirliliğidir. Başta aromatik hidrokarbonlar ve arsenik olmak üzere, nikel, krom gibi metaller, motorlu araçların egzoz dumanı ve kömür dumanı şehir havasını kirleten karsinojenik etkenlerdir (11,13). Benzinin yanma ürünlerine maruz kalan çalışanlarda yüksek akciğer kanseri insidansı ve çatı onarımı yapanlarda kömür katranı dumanına 20 yıllık maruziyet sonrasında %50 oranında akciğer kanseri gelişme riski olması hava kirliliği ile olası bir ilişkiyi düşündürmektedir (12).

İç ortamın hava kirliliği, dış ortamdan içeriye alınan havanın kirliliğine, evde sigara içimine, ısınma ve pişirme için kullanılan yakıt malzemesine, evin havalandırma sistemine bağlıdır. Gelişmiş ülkelerde radon, az gelişmiş ülkelerde asbestos, kömür dumanı ve fosil yakıt ürünleri, akciğer kanseri riskini arttıran iç ortam hava kirliliğinin nedenleridir (11). Hidrokarbonlar, krom, nikel, inorganik arsenik bileşikleri gibi karsinojenlere mesleki maruziyet artmış akciğer kanser riski taşımaktadır.

Doğada bulunan ve mekanik işlemde sonra mineral lif oluşturan fibröz silikatlara asbestos denir. Asbest yirminci yüzyılın başından itibaren, ısıya ve kimyasal maddelere dayanıklılığı nedeniyle inşaat, gemi, uçak, otomobil yapımında ve tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılmıştır (14). Ülkemizde İç Anadolu Bölgesi ve Diyarbakır ilinde çevresel asbestos maruziyeti yaşanmaktadır (15). Halk, ak toprak olarak bilinen asbesti, kireç yerine iç ve dış mekanların boyanmasında kullanmaktadır. Akciğer kanseri, asbest liflerinin inhalasyonuna bağlı olarak gelişebilmekte ve risk, kümülatif asbestos maruziyetiyle beraber artmaktadır.

Asbestosa bağlı gelişen akciğer kanseri, sigara içimine bağlı gelişen akciğer kanserinden klinik, tip veya yerleşim açısından farklılık göstermemektedir (14).

Sigara içimi ve asbestos, akciğer kanserinin bağımsız nedenleri olmakla beraber, sinerjik etkiyle akciğer kanseri riskini arttırlar (11,14). Akrilonitril, berilyum, kadmiyum, formaldehit, alüminyum ve asetaldehit ise şüpheli karsinojenlerdir (15).

Akciğer kanseri mortalitesi, düşük sosyoekonomik durumda iki kat artmaktadır. Ayrıca sigara içme alışkanlıklarının da farkı yaratmada önemli olabileceği bildirilmiştir (12).

Diyetle alınan yağ ve kolesterol riski arttırırken, beta-karotenin riski azalttığı gösterilmiştir (16). Diyet ve akciğer kanseri arasındaki ilişki, diyetteki; karotenoidler, vitamin A, vitamin C, selenyum gibi antioksidanların, sigara dumanı ile çevresel kirleticiler tarafından ortaya çıkarılan serbest radikallerin ortadan kaldırılmasında ve böylece karsinogenezin önlenmesindeki önemli rollerinin bilinmesi nedeniyle araştırılan bir konu olmuştur (17). Ancak antioksidan olan selenyum, vitamin E ve vitamin C'nin bugün için akciğer kanserindeki koruyucu etkileri tartışmalıdır (18).

Aynı sigara içme alışkanlıklarına sahip kadınlarda, erkeklere göre 1.4 - 1.7 kat fazla akciğer kanseri görülmesi, bazı ailelerde akciğer kanserinde bir kümeleşmenin olması genetik yatkınlıkların söz konusu olabileceğini akla getirmektedir. Genetik olarak belirlenen karsinojenleri metabolize etmekle görevli enzim sistemindeki değişiklikler de riski arttırmaktadır. Aril hidroksilaz veya p450 11D6 enziminin artmış aktivitesi akciğer kanseri gelişme riskini 8 kat arttırır (16). Ras onkogenleri, tümör süpresör protein 53 (p53) mutasyonları, 3p, 9p, 17p üzerideki allel kayıpları, onkofetal glikoprotein salınımı, transforme edici büyüme faktörü alfa (TGFalfa), bombesin benzeri peptid; akciğer karsinogenezinde yer alan genetik faktörlerdir (18). Akciğer kanseri hastalarının karsinojenlere yanıtında görevli deoksiribonükleik asit (DNA) tamir aktivitesi, kontrol hastalarının DNA tamir aktivitesine göre daha düşük bulunmuştur. DNA tamiri için gerekli olan o-metil-guanin-DNA-metil transferaz aktivitesinin düşük olması akciğer kanserine eğilimi arttıran bir başka

faktör olarak tanımlanmaktadır (1,19). Akciğer kanserinde genetiğin rolünün ortaya konması için yapılan ikiz çalışmalarında ve farklı ırklarda yapılan çalışmalarda genetik yatkınlık saptanmamıştır (20). Tüberküloz, kronik bronşit veya silikozis gibi geçirilmiş akciğer hastalıklarının akciğer kanseri insidansını arttırdığı bildirilmiştir (21).

### **Tarama ve korunma**

Akciğer kanseri, %85 olgunun istemli içici ya da istem dışı pasif içici olarak hastalığa yakalandığı, etiyolojik olarak endüstri kökenli bir hastalıktır. Akciğer kanseri haricinde özefagus, ağız içi, larenks, farenks ve servikal kanserlerin de sigara içimiyle ilişkisi gösterilmiştir. Sigara içen bir kişiyle aynı ortamda yaşanması da akciğer kanseri riskini %20 – 30 arttırmaktadır. Diğer bir problem ise sigaranın içerdiği yüksek oranda bağımlılık yapıcı nikotin maddesidir. Bu nedenle sigarayı bırakırma konusunda davranışsal tedavi ve ilaç tedavisinin kombine edilmesi faydalı olmuştur.

Varenicline sigarayı bıraktırmada etkili yeni bir ilaçtır. Nikotin replasmanı yapan ajanlar (sakız, nazal spray, bant ve inhalerler) ve bupropiyon kullanılan diğer ilaçlardır (22). Çalışmalar vareniclinenin bupropiyondan üstün olduğunu göstermiştir. Ancak varenicline kullanan %30 hastada bulantı görülmüştür. Vareniclinenin relapsı engelleyici etkisi henüz ispatlanmamıştır. Amerikan gıda ve ilaç dairesi (FDA) ise ilacın yol açabileceği nöropsikiyatrik semptomlar açısından uyarıda bulunmuştur.

Akciğer kanseri tüm dünyada maligniteye bağlı ölümlerin en sık nedeni olmaya devam etmektedir. Sağkalım sonuçlarında düzelme olmaması hastalığa tanı konmada geç kalınmasına bağlıdır. Diğer solid tümörlerde (meme, serviks, kolon, prostat) tarama ve erken teşhis sonucu sağkalım sürelerinin uzaması ve genel olarak lokalize kanserlerin küratif olması nedeniyle akciğer kanseri toplum bazlı tarama yaklaşımı için uygun bir adaydır. Pilot çalışmalarda spiral bilgisayarlı tomografi (BT) ile yeni tanı evre I akciğer kanseri vakalarının %80 artışı umut vaat edicidir. Günümüzde klinik pratikte ise rutin BT tarama önerilmemektedir.



## **Prognostik faktörler ve prediktif biyobelirteçler**

Prognostik faktörler KHDAK hastalarında sağkalım üzerinde tahmin yürütmeyi sağlarlar. İyi prognostik faktörler: tanı anında erken evrede olma, iyi performans statüsü (PS) 0-1-2, anlamlı kilo kaybı olmaması (%5'den fazla değil) ve kadın cinsiyettir (23). Yaş ve histolojik tipin etkisi ise düşüktür.

Adenokarsinom, ABD'de en sık görülen KHDAK tipi olmakla birlikte sigara içmeyen toplumlarda da ağırlıktadır. Ülkemizde ise aşırı miktarda sigara tüketimi nedeniyle skuamöz hücreli tip daha sık izlenmektedir. Ülkemizde yapılan ve 1403 akciğer kanseri hastasını içeren bir çalışmada skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom ve küçük hücreli karsinom oranları sırasıyla % 41.1, % 25.6, % 13.1 olarak bulunmuştur (24). Adenokarsinom, mediastinal lenf nodlarına daha sık yayılmasıyla sistemik metastaz yaparken, skuamöz hücreli karsinom ise lokal olarak yayılma eğilimindedir. Bu nedenle de tüm TNM evrelerinde skuamöz hücreli karsinomun 5 yıllık sağkalımı adenokarsinomdan yüksektir (25).

Serum albumin seviyesinin düşük olması KHDAK hastalarının prognozunu olumsuz yönde etkileyen hastaya ilişkili bir faktördür. Vigano ve ark. yaptığı 227 metastatik KHDAK hastasını içeren çalışmada serum albumin seviyesinin 3.5 g/dl'nin altında olması daha kısa sağkalım süresiyle ilişkili bulunmuştur (26). Paralkar ve ark. çalışmasında ise metastatik KHDAK hastalarının sağkalım süresinin, serum albumin düzeyinin 3 g/dl ve altında olması ile istatistiksel olarak anlamlı azaldığı gösterilmiştir (27).

Hastalarda son altı aylık dönemde %10 ve üzerinde kilo kaybı bulunması da tanı anında değerlendirilebilecek kötü prognostik özelliklerdendir. Vigano ve ark. yaptığı çalışmada son 6 ayda 8.1 kg ve üzeri ağırlık kaybı ile kötü prognoz arası ilişki gösterilmiştir (26). Arriata ve ark. çalışmasında, hastaların %44'ünde kilo kaybı izlenmiştir. Bu çalışmada kötü prognoz ile %10 ve üzeri kilo kaybı arasındaki ilişkiye dikkat çekilmiştir (28).

Albain ve ark. düzenlediği güneybatı onkoloji grup (SWOG) çalışmasında ileri evre 2531 KHDAK hastası değerlendirilmeye alınmış; sırasıyla iyi PS, hemoglobin

(Hb) düzeyinin 11 g/dl ve üzeri olması ile tanı anında 47 yaşın üzerinde bulunması prognozu olumlu yönde etkileyen faktörler olarak bildirilmiştir (29).

Biyolojik prognostik faktörler: tümör süpresör gen mutasyonları (p53), proto – onkogen Kirsten-Rous sarkom virüsü (K-ras) aktivasyonu ve diğer biyolojik belirteçler kötü prognozu tahmin etmede anlamlı değere sahiptir (30,31). K-ras onkogen mutasyonu gibi genetik anomaliye sahip evre I adenokarsinom hastalarında prognoz kötü ve hastalısız sağkalım süresi düşüktür (31).

Güçlü biyobelirteçler arasında epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), nükleotid eksizyon tamir kompleksinin 5' endonükleazı (ERCC1), k-ras onkogeni ve ribonükleotid redüktazın düzenleyici alt birimi (RRM1) bulunmaktadır. Prognostik bir belirteç verilen tedaviden bağımsız olarak doğal tümör agresifliğini ortaya koyan bir biyomoleküldür. Prediktif bir belirteç ise tedavinin etkinliğini ortaya koyan bir biyomoleküldür. EGFR ekson 19 delesyonu veya ekson 21 L858R mutasyonu tedaviden bağımsız olarak KHDAK hastalarında sağkalım için prognostik öneme sahip değilse de, EGFR-tirozin kinaz inhibitörü (TKI) tedavisine yanıtın tahmininde rol almaktadır (32,33). ERCC1 seviyesi yüksekliği, düşük seviyede olmasına göre tedaviden bağımsız olarak KHDAK hastalarında daha iyi sağkalım için prognostik faktördür (34,35). Yüksek ERCC1 seviyesi aynı zamanda platin bazlı kemoterapiye kötü yanıt için de prediktif bir faktördür (35,36). Tedaviden bağımsız olarak k-ras mutasyonu varlığı, mutasyon olmamasına göre KHDAK hastalarında kötü sağkalım için prognostik faktördür (30). K-ras mutasyonu varlığı aynı zamanda platin/vinorelbin kemoterapisi ve EGFR-TKI tedavisine düşük oranda yanıt için prediktiftir (37). Yüksek RRM1 seviyeleri düşük seviyelerle karşılaştırıldığında tedaviden bağımsız olarak KHDAK hastalarında daha iyi sağkalım için prognostiktir (38,39). Yüksek RRM1 seviyeleri gemsitabin bazlı kemoterapiye kötü yanıt açısından prediktiftir (36,40).

### **EGFR mutasyonları, gen kopya sayısı ve ekspresyon seviyesi**

EGFR transmembran bir reseptördür. Epidermal büyüme faktörü (EGF) hücre dışı alana bağlanınca reseptör dimerleri oluşarak hücre içi tirozin kinaz alanını aktive eder. Bu durum otofosforilasyon ve proliferasyon ile sağkalımdan sorumlu hücre

fonksiyonlarının aktivasyonunu azaltan moleküllerin fosforilasyonunu sağlar. EGFR ekspresyonu, %80-85 KHDAK hastasında saptanabilir (32).

Tümör hücresinde EGFR durumu üç farklı metodla değerlendirilebilir. Bunlar mutasyon analizi, gen kopya sayısı hesaplanması ve EGFR ekspresyonu seviyesidir. Sıklıkla bulunan mutasyonlar ekson 19 delesyonu ve ekson 21 mutasyonudur. İki mutasyon da tirozin kinaz alanının aktivasyonuna neden olarak erlotinib ve gefitinib gibi küçük moleküllü TKI duyarlılığını artırırlar. Bu mutasyonlar Asya kökenli hastalarda %30-40, Kafkas kökenli hastalarda ise %10-15 sıklıkta izlenmektedir (32,33).

EGFR mutasyonlarının prognostik etkisi net değildir. Bunun başlıca sebebi çoğu raporun aktif tedavi alan hastalar üzerinden yapılmasıdır. Tsao ve ark. ikinci sıra tedavide gefitinib ile plaseboyu karşılaştıran randomize çalışmada 177 hastadan 40 tanesinde mutasyon bulmuştur. Bu mutasyonların 20 tanesi ekson 19 delesyonu ve ekson 21 mutasyonuna aittir (32).

Standart immünohistokimya (IHK) ile ekspresyon, mutasyon durumu ve gen kopya sayısı arasında ilişki saptanmamıştır.

Ekson 19 delesyonu ve ekson 21 mutasyonunun prediktif etkileri iyi tanımlanmıştır. Bu mutasyonlara sahip hastalar gefitinib ve erlotinibe daha iyi yanıt vermektedirler. Bu ilaçlara tümör yanıtı veren hastaların yaklaşık %90'ında mutasyon saptanırken yanıtı olmayanlarda da mutasyon saptanmamıştır (41,42). Bronkoalveoler karsinom (BAK) tanılı EGFR mutasyonu olan hastalarda tek ajan tedaviyle %80 yanıt ve 13 ay progresyonsuz sağkalım sağlanmıştır. Birinci basamak tedavide kemoterapi tek başına veya erlotinible kombine edilip verildiğinde EGFR mutasyonu varlığı erlotinib alan hastalarda daha iyi yanıt sağlanmasında prediktif olmuştur. Mutasyon varlığında %53 yanıt alınırken, mutasyon yoksa yanıt oranı %18'de kalmıştır. Sadece kemoterapi alanlarda mutasyon varsa yanıt oranı %21, mutasyon yoksa %27'dir (43).

## **ERCC1 ekspresyon seviyesi**

ERCC1 tüm tümör hücrelerinde bulunur. Tam rezeke edilmiş perioperatif kemoterapi ve radyasyon almamış KHDAK hastalarında ERCC1 haberci ribonükleik asit (mRNA) seviyesi sağkalım için prognostiktir. Yüksek ERCC1 ekspresyonu seviyesine sahip hastalarda medyan 55 aylık tüm sağkalım, düşük ERCC1 seviyeli hastalarda 42 ay bulunarak istatistiksel olarak anlamlı farka ulaşmıştır (35). ERCC1 seviyesinin yükselmesi platin bazlı kemoterapilere direnç gelişmesiyle sonuçlanmaktadır. Uluslararası adjuvan akciğer çalışmasında (IALT) düşük tümöral ERCC1 protein seviyesine sahip hasta alt grubunda sisplatin bazlı adjuvan tedaviden anlamlı oranda yanıt sağlanmıştır (35).

## **K-ras mutasyonu**

K-ras, guanozin trifosfat (GTP) bağlayan bir proteindir. G- protein çifti reseptör sinyalinde görevlidir. Mutasyona uğrayan formu aktivite kazanarak hücreleri ölümsüz şekle çevirir. Mutasyon prevalansı sigara içimiyle ilişkili olup (44) mevcut verilere göre Kuzey Amerikalı popülasyonda adenokarsinomlu hastaların %25'inde bulunmuştur (43). K-ras mutasyonu sağkalım için prognostiktir. Mutasyon ile sağkalım süresi kısalır. Slebos ve ark. tam rezeke edilmiş ve ek tedavi almamış 69 adenokarsinom hastasında K-ras kodon 12 mutasyonunu değerlendirmiş, mutasyon çıkan 19 hastada diğer 50 hastaya göre hastaliksız sağkalım ve tüm sağkalım süreleri anlamlı düşük saptanmıştır (30).

K-ras mutasyon durumu EGFR-TKI tedavi etkinliği için prediktiftir. Ancak kemoterapi etkinliğini değiştirmez. Retrospektif bir çalışmada 101 BAK hastasının %23'ünde k-ras kodon 12-13 mutasyonu bildirilmiştir (43). Tüm hastalar ilk sıra erlotinib ile tedavi edilirken mutasyonu olan hiçbir hastada yanıt alınmamıştır. Mutasyon bulunmayan hastalarda %32 yanıt alınırken arada istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ( $p < 0.01$ ). TRIBUTE çalışmasında kemoterapiye erlotinib ya da plasebo eklenerek k-ras mutasyonuna göre değerlendirme yapıldığında k-ras mutant hastalarda kemoterapiye erlotinib eklenmesi progresyona kadar geçen süreyi ve tüm sağkalımı kısaltmış bu durum da erlotinibin kemoterapi etkinliğini azalttığını göstermiştir (45).

JBR10 çalışmasında Tsao ve ark. adjuvan cisplatin/vinorelbin kemoterapisi verilen 88 k-ras mutant ve 333 k-ras mutasyonu olmayan hastada mutasyonsuz grubun kemoterapiden anlamlı oranda fazla yarar sağladıklarını bildirmiştir (37).

### **RRM1 ekspresyon seviyesi**

Tam rezeke edilmiş, peroperatif kemoterapi ve radyoterapi almamış KHDAK hastalarında RRM1 mRNA ekspresyonu sağkalım için prognostiktir. RRM1 seviyesi yüksek olanlar düşük olanlara göre anlamlı uzun sağkalıma sahiptir (38). Evre I, 187 hastada yüksek RRM1 ekspresyonu olan grupta medyan sağkalım 120 ay, düşük RRM1 ekspresyonu olan grupta 60.2 ay bulunmuştur (39). Cisplatin/gemcitabin kemoterapi verilen ileri evre KHDAK hastalarında düşük RRM1 ekspresyonu varlığında medyan tüm sağkalım 13.7 ay bulunurken yüksek ekspresyon gösteren grupta 3.6 ayda kalmıştır (46).

### **CYP1A1 gen polimorfizmi**

Hasta ile ilişkili ümit vadeden bir moleküler belirteç de sitokrom P450 1A1 (CYP1A1) gen polimorfizmidir. Bu gen sigara dumanında bulunan benzopirenlerin metabolik aktivasyonundan sorumlu olup, CYP1A1 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 birlikte olduğu gösterilmiştir (47).

Ayrıca farklı çalışmalarda laktat dehidrogenaz (LDH), kanser antijen 125 (CA125), CA19-9, sitokeratin fragman 19 (CYFRA21-1), karsinoembriyonik antijen (CEA), nöron spesifik enloaz (NSE), albümin, Hb, trombosit (Plt) ve lökosit sayısı, cisplatin içeren tedavi modeli hastalarda sağkalımı etkileyebilecek diğer önemli prognostik faktörler olduğu vurgulanmıştır (48-51).

### **CYFRA 21-1**

Sitokeratin fragman 19 olarak da bilinir. KHDAK'nde özellikle skuamöz alt tipinde en sensitif tümör belirteçidir. Ürolojik, gastrointestinal, jinekolojik kanserlerde ve çeşitli benign hastalıklarda da serum düzeyleri yükselir. Bu yüzden

tarama için kullanılamaz, ancak biyopsi yapılamayan akciğer kitlelerinde ayırıcı tanıda kullanılabilir (51,52).

Son zamanlardaki çalışmalarda erken ve geç evre KHDAK'de bağımsız bir prognostik faktör olduğu bildirilmektedir. Ayrıca küçük hücreli akciğer karsinomunda (KHAK) de prognostik değeri olduğu diğer çalışmalarda gösterilmiştir (51). İleri evre KHDAK'nde özellikle skuamöz kanserlerde tedavi izleminde, primer tedavi sonrası nüks hastalığın saptanmasında potansiyel değere sahiptir (51,52).

### **Nöron spesifik enolaz (NSE)**

Enolaz tüm hücre sitoplazmalarında bulunabilen glikolitik bir enzimdir. Nöronlarda, nöroendokrin hücrelerde (APUD) ve nörojenik tümörlerde bulunan gama-gama izoenzimine nöron-spesifik enolaz adı verilmiştir (52). NSE'nin tarama amaçlı kullanımı sensitif yada spesifik değildir. Ancak çalışmaların çoğunda KHAK tanısına yardımcı bulunduğu gösterilmiştir. Malignite şüphesi varlığında serum NSE seviyeleri yüksekse ( > 100 µg/L) diğer nöroendokrin tümörleri ayırıcı tanıda düşünmek kaydıyla yüksek olasılıkla KHAK'ini işaret eder. NSE'nin ılımlı artmış seviyeleri aynı zamanda benign akciğer hastalıklarında ve bazı kanserlerde de ( pankreas, mide, kolorektal, meme) saptanabilir (51).

NSE'nin çok değişkenli çalışmalarda KHDAK ve KHAK için prognostik değeri olduğu gösterilmiştir. NSE aynı zamanda primer tedavi sonrası nüks hastalığın saptanmasında olduğu gibi KHAK'de tedavi sonrası izlemde değerli bir belirteçtir (51).

### **Karsinoembriyonik antijen (CEA)**

Hücre yüzey glikoproteinidir. KHDAK'de özellikle adenokarsinom ve büyük hücreli karsinom alt tiplerinde serum konsantrasyonları yükselir. Ancak çeşitli benign patolojilerde ve diğer birçok malignitelerde de artış gösterdiğinden tarama ve tanıda kullanılamaz. KHDAK ayırıcı tanısında CYFRA 21-1 ile kombine edildiğinde faydalı olabilir (51,52). Adenokarsinomda prognostik bilgi sağlamaktadır. Daha çok ileri evre hastalıkta tedavinin izleminde ve adenokarsinomda nüks hastalığın saptanmasında rolü vardır (51). Preoperatif 10 ng/ml'den yüksek CEA seviyeleri

KHDAK'nde %67 olasılıkla tümör relapsı ile ilişkilidir (53). Bronş adenokarsinomunda artmış serum CEA seviyelerine sahip hastaların sağkalımı normal serum CEA seviyelerine sahip hastalara göre daha düşüktür. Klinik evreden bağımsız olarak serum CEA seviyeleri adenokarsinomda prognostik öneme sahiptir (54).

### **Laktat dehidrogenaz (LDH)**

Hücre hasarı sonucu artan LDH, beş izoenzimi olan peptit zincirli bir enzimdir (52). Skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom ve büyük hücreli karsinomda LDH4 izoenzimi artış gösterirken, küçük hücreli karsinomda LDH3 artmaktadır (55).

Serum LDH seviyeleri KHAK'de bağımsız prognostik faktör olarak görünmekte olup hastalık evresi, tedaviye yanıt ve sağkalım ile korelasyon göstermektedir (56). KHAK'nde sınırlı hastalıkta tedavi öncesi serum LDH seviyeleri 240 IU/L'nin üzerinde olan hastalar yüksek tümör yüküne sahiptir ve bu yüzden prognozları da kötüdür (57). KHDAK'nde de yüksek serum LDH seviyeli hastaların sağkalım sürelerinin normal serum LDH seviyeli hastalara göre anlamlı oranda kısa olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Viganò ve ark. yaptığı çalışmada serum LDH seviyesinin 618 IU/L üzerinde olması kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (26).

### **Evreleme**

Akciğer kanserinde 5 yıllık tüm sağkalım 1996-2004 yılları arasında %15.2 bulunmuştur. Tanı sırasında %16 hastalık lokal iken, %25 hastada bölgesel lenf nodlarına da yayılarak lokal ileri olmuş, %51 hasta ise tanı anında bile metastatik bulunmuş, %8 hastanın ise evresi saptanamamıştır. Beş yıllık sağkalım oranları lokal, lokal ileri, metastatik ve evresi bilinmeyen gruplar için sırasıyla %49.5, %20.6, %2.8 ve %8.3 olarak hesaplanmıştır. Bu veriler, prognozu daha kötü olan küçük hücreli akciğer kanserleri verilerini de içermektedir. Lobektomi sonrası evre I hastalarda 5 yıllık sağkalım %45-65 arasında değişmektedir. Evre I hastalardan önerildiği halde opere olmayan grupta 5 yıl içinde %78 hasta kaybedilmiştir (2).

## **Tedavi yaklaşımları**

Cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi; KHDAK hastalarının tedavisinde kullanılan 3 ana modalitedir. Hastalık evresine göre tek başlarına ya da bir arada kullanılabilirler. Evre I ve II hastalarda en iyi kür şansı cerrahiyle sağlanır. Rezeksiyon sonrası patolojik mediastinal lenf nodu tutulumu olan (pN2) cerrahi sınırı temiz hastalarda adjuvan kemoterapi sonrası radyoterapi tercih edilir. Cerrahi sınır tutulumu olan pN2 (+) hastalarda performans durumları iyiye postoperatif eş zamanlı kemoterapi – radyoterapi uygulanır. Lokal rekürrens riskini en aza indirmek için radyoterapi mümkün olduğunca erken verilmelidir. Rezeke edilemeyen evre III hastalarda eş zamanlı kemoterapi – radyoterapi, ardışık tedaviden üstün bulunmuştur. İyi performansa sahip evre IV hastalarda platin bazlı kemoterapi faydalıdır. Çoğu ilaç evre IV KHDAK'a karşı aktiftir: taksanlar, vinorelbin, etoposid, pemetreksed, irinotekan ve gemsitabin. Bu ilaçların kombinasyonları tek ajan tedavilerden üstün olup, 1 yıllık sağkalım oranları %30–40 arasındadır. İleri evre KHDAK tedavisinde hedefe yönelik tedaviler de kullanılmaktadır: bevacizumab, erlotinib ve setuksimab. Evre IV hastalıkta soliter metastaz varsa (özellikle beyin metastazı) metastazın cerrahi rezeksiyonu sağkalımı arttırmaktadır. Beyin haricindeki soliter metastazların rezeksiyonu ise tartışmalıdır.



## ANJİYOGENEZ

Neoplazinin büyümesi ve metastaz geliştirmesi uygun damar kaynağının varlığına bağlıdır, buna anjiyogenez denir. Anjiyogenez mekanizması, çoklu, sıralı ya da birbirinden bağımsız yolları içerir. Proçes, kapilleri çevreleyen bazal membranın bölgesel hasarlanmasıyla başlar. Anjiyogenik uyaran sonucu endotel hücrelerini yayılmaya başlayan hücreler arası stroma çevreler. Endotel hücre göçü sonrası proliferasyona uğrayarak, perisitler, damar düz kas hücreleri gibi destek yapılarla üç boyutlu yeni damar ağı oluşumuna katkıda bulunurlar. Anjiyogenez filizlenme şeklinde bölgesel olabileceği gibi kemik iliğinden köken alarak dolaşıma çıkan endotelial öncü hücreler tarafından sistemik şekilde de gerçekleşebilir.

Fizyolojik koşullarda anjiyogenik mediyatörler bir denge halindedir. Anjiyogenez, doku mikroçevresindeki proanjiyogenik ve antianjiyogenik faktörlerin dengesindeki değişimle aktive olur. Buna “anjiyogenik dönüşüm” denir. Başlıca proanjiyogenikler: hipoksi, asidik ortam, sitokinler, büyüme faktörleri, tümör boyutu, aktive onkogenler, sinyal ileti yolları ve tümör süpresör gen fonksiyonu kaybıdır. Tümör çapı 0.5 mm'den küçükse ya da hacmi 1-2 mm<sup>3</sup>'den azsa, oksijen ve besin maddelerini difüzyon yoluyla sağlayabilir. Ancak tümör çapı 0.5 mm ya da hacmi 1-2 mm<sup>3</sup> üzerine çıktığında, damar endotel hücrelerinin proliferasyonuna ihtiyaç duyulur. Filizlenme anjiyogenezi mevcut damar ağından yeni damarın dal vermesi şeklinde olurken, filizlenme dışı anjiyogenezde damar duvarındaki endotel hücrelerin proliferasyonu sonucu önceden var olan damardan füzyon, genişleme ve ayrışma ile yeni damar oluşmaktadır. Filizlenme dışı anjiyogenez ilk olarak beyin metastazlarında VEGF'in rol aldığı mekanizmayla tanımlanmıştır (6).

VEGF aynı zamanda damarsal geçirgenlik faktörü (VPF=vascular permeability factor) olarak da bilinmektedir. Heparin bağlayıcı glikoprotein yapısındadır. 6.kromozomdan kodlanır, trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF) ile %18 homoloji gösterir. Endotel hücreleri için en güçlü büyüme faktörüdür. Histaminin sağladığı damar geçirgenliğinden 50000 kat üstün geçirgenlik sağlamaktadır. Bu şekilde endotel hücrelerin göç ettiği interstisyel bölgeye protein difüzyonunu sağlar (6).

Altı VEGF mRNA izoformu bulunur: VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF183, VEGF 189 ve VEGF206. 121, 145 ve 165 sekretuar formlarken; 189, 183 ve 206 hücre ilişkili, hücre yüzeyi proteoglikanlarına yüksek afiniteyle bağlanır. Sekretuar olmayan bu üç izoform hipoksi ve nekroz sonucu tümör hücresinden açığa çıkarak bu bölgede anjiyogenezi arttırabilir. Bu durum merkezinde nekroz gelişen skuamöz hücreli alt tip için önem taşır. Benign ve malign hücrelerden salgılanan baskın izoform VEGF 165'dir. VEGF 189 mRNA, KHDAK ve kolon kanserinde metastazla ilişkili olup kötü prognozu gösterir (3).

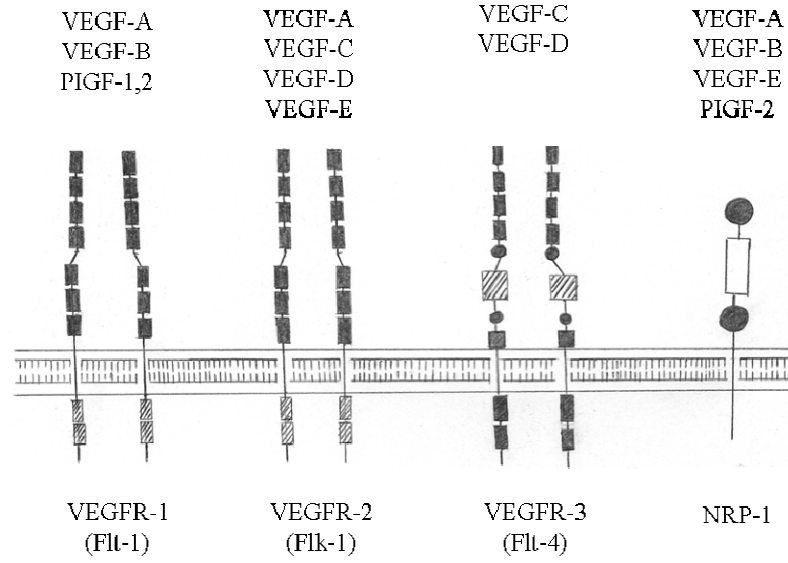
Altı farklı protein izoformu bulunur: VEGF-A, sıklıkla VEGF olarak kısaltılan izoformdur. VEGF-B, endotel hücrelerdeki invaziv enzimleri aktive eder. VEGF-C ve VEGF-D sıklıkla lenfanjiyogenez ile ilişkilidir. VEGF-E, anjiyogenez üzerinden fonksiyon gösterir. Plasenta büyüme faktörü (PIGF) ise anjiyogenez ve inflamasyonda rol oynar. VEGF ailesi ve fonksiyonları tablo - 1'de özetlenmiştir.

**Tablo - 1: VEGF ailesi ve fonksiyonları (58)**

Ligand	Reseptör	Fonksiyon
VEGF (VEGF-A)	VEGFR-1 ve 2, nörofilin 1	Anjiyogenez, vasküler devamlılık
VEGF-B	VEGFR-1	Bilinmiyor
VEGF-C	VEGFR-2 ve 3	Lenfanjiyogenez
VEGF-D	VEGFR-2 ve 3	Lenfanjiyogenez
VEGF-E	VEGFR-2	Anjiyogenez
PIGF	VEGFR-1 ve nörofilin 1	Anjiyogenez ve inflamasyon

VEGF reseptörleri, endotel hücreler ve bazı tümör hücreleri üzerinde açığa çıkar. VEGF, tirozin kinaz aktivitesi olan iki tipte reseptöre bağlanır: VEGFR1 (Fms benzeri tirozin kinaz = Flt1) ve VEGFR2 (fetal karaciğer kinaz = flk). VEGFR1; damar farklılaşması, damarın yapısal organizasyonu, hematopoez ve matriks metalloproteinaz (MMP) indüksiyonunu sağlar. VEGFR2 ise VEGF'in mitojenik, anjiyogenik ve geçirgenlik değiştirici etkilerinden sorumludur. VEGFR1 ve 2 reseptörleri kardiyovasküler sistemin embriyonik ve postnatal dönemde gelişiminde rol oynar (6).

VEGF ailesine ait diğer reseptörler VEGFR3 (Flt4) ve nörofilin 1 – 2'dir (Nrp 1-2). VEGFR-3 embriyogenez esnasında vasküler ve lenfatik endotel hücrelerinde eksprese olurken daha sonra lenfatik endotelle sınır kalır (58). Şekil -1'de VEGF ailesi üyeleri ve bağlandıkları VEGF reseptörleri arasındaki ilişki görülmektedir.



**Şekil -1:** VEGF ailesi üyeleri ve bağlandıkları VEGF reseptörleri (59).

VEGF, makrofajlar, stromal hücreler, retinanın epitelial hücreleri, malign hücreler ve endotel hücrelerden sekrete edilir. Hedefi damar endotel hücresi olup üzerinde güçlü mitojenik etki gösterir. Öte yandan diğer benign hücre tipleri üzerine belirgin mitojenik etkisi olmaz. VEGF, anjiyogenezin her aşamasında etkilidir. Proteolitik enzimlerin (MMP, plazminojen aktivatör) salınması ve aktivasyonunu düzenler, hücre dışı matriksin degradasyonunu arttırarak endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve göçünü arttırır. Sonuç olarak bunların tubuler yapılar organize olmasını sağlar.

VEGF, tek başına aktif olduğu gibi diğer vasküler büyüme faktörleriyle de sinerjizm gösterir. Tümörün büyümesiyle oksijen sıkıntısı çekmesi üzerine salınan hipoksiyle indüklenen faktör (HIF), VEGF salınmasını arttırır. Ayrıca p53 inaktivasyonu, ras mutasyonu, onkogen src ekspresyonu da VEGF üretimini düzenler (7).

Özetle VEGF yolağı tümör anjiyogenezinde düzenleyicidir (7):

1. Hipoksi gibi faktörlerle VEGF transkripsiyonu artar,
2. Tümör dokusu ve stromadan büyüme faktörü salınımı gerçekleşir.
3. Büyüme faktörü reseptörleri aktive olur.
4. Vasküler geçirgenliği arttırıcı MMP üretimi indüklenir.
5. Damarlanma oluşacak bölgeye endotel hücre göçü olur.
6. Yeni kapiller ağ kurulur.

Endotel hücrelerine spesifik moleküllerden bir grup da anjiyopietin (Ang) ailesidir. Ang 1 ve 2, endotel hücrelerinin tirozin kinaz reseptörüne bağlanır (Tie-2). Ang-1, endotel hücre farklılaşması ve stabilizasyonunda agonistik etki gösterir. Ang-2 ise Tie-2 reseptörüne bağlanarak Ang-1 bağlanmasını inhibe eder ve endotel hücrenin stabilizasyonunu bozar. VEGF için homozigot knock out farelerde embriyonik dönemde damar gelişiminin yetersiz olması nedeniyle ölüm gözlenmiştir. Birçok anjiyogenik molekül (ET-1, temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF), transforme edici büyüme faktörü  $\alpha$  (TGF  $\alpha$ ), epidermal büyüme faktörü (EGF), PDGF, IL-8, makrofaj inflamatuvar protein (MIP), trombosit faktör 4) endotel hücrelerin ve diğer hücrelerin büyümesinde rol almaktadır. Bu faktörler anjiyogenezin farklı bölümlerine etki ederler. bFGF, endotel hücreler için en potent mitojendir. VEGF, bFGF ve PDGF endotel hücreler için güçlü sağkalım faktörleridir (6).

Temel FGF, heparin bağlayan bir polipeptiddir. Malign tümörlerde bulunur, fibroblast büyüme faktörü (FGF) ailesi üyesidir. 4.kromozomdan sentezlenir. Kendi reseptörü olan FGF reseptör 1'e (FGFR1) bağlanır. Endotel hücreler üzerinde mitojenik etkisi olduğu için anjiyogenezi indükler. VEGF'den farklı olarak mitojenik etkisi spesifik değildir. Parakrin etkisi anjiyogenik dönüşümle ilişkilidir. Bağımsız etkisinin yanında VEGF ile sinerjistik çalışarak da anjiyogenezi indükler. İnsan bFGF'sine karşı oluşturulmuş monoklonal antikor tümör büyümesini inhibe eder. KHDAK hastalarında %53 - 74 oranında bFGF salgılandığı gösterilmiş, bu hastaların yüksek histolojik derece ve kötü sağkalım ile ilişkisi tanımlanmıştır (7).

Anjiogenezde yer alan moleküllerden biri de ET-1'dir. ET-1, 24 aminoasitten oluşan bir peptiddir. Endotel hücreler, damar düz kası hücreleri, çeşitli epitel dokuları (akciğer, meme, prostat) içeren normal hücreler tarafından sentezlenir. Tek  $\alpha$  heliksi ve iki disülfid köprüsü vardır. 3 izoformu bulunur. ET-1, ET-2 ve ET-3. ET-1 klinik olarak en sık bilineni olup 212 aminoasitlik preproendotelin 1'den köken alır. Proteolitik aktiviteyle big ET-1'e dönüşür. Big ET-1, 35 aminoasitlik bir rezidü olup endotelin dönüştürücü enzim (ECE) ile ET-1'i oluşturur. ECE, membrana bağlı bir enzim olup MMP ailesi üyesidir. Big ET-1'den ET-1 oluşumu hız kısıtlayıcı asıl reaksiyondur.

Endotelinler etkilerini iki ayrı G protein çifti reseptör ile sağlarlar. Bunlar endotelin A reseptörü (ET-AR) ve endotelin B reseptörüdür (ET-BR). Aktive olmuş G proteini fosfolipaz C ve protein kinaz C enzimlerinin de aralarında bulunduğu çok sayıda yolağı fosforiller. Bu yolakların aktive olması doğrudan ya da dolaylı olarak hücresel davranışı ve mikroçevresel dengeyi değiştirir. ET-1'in en iyi bilinen fizyolojik fonksiyonu vazokonstriktör etkisidir.

Kanser dokusu farklı tiplerde hücreler içerir. Bunlar kanser hücreleri ve kanserle ilişkili hücrelerdir (fibroblast, makrofaj ve endotel hücreleri). Kanser hücrelerinin de kanserle ilişkili hücrelerin de aşırı miktarda ET-1 eksprese ettikleri gösterilmiştir. ET-1'in kanserle ilişkili otokrin ve parakrin etkileri; proliferasyon, apoptoza direnç, göç ve invazyondur. ET-1 aynı zamanda anjiyogenez, hücre dışı matriks yıkımı ve makrofajların bölgeye çağırılmasına da katkıda bulunur (4).

ET-AR aktivasyonu, hücre büyümesi, anjiyogenez ve invazyonu artırırken apoptozu azaltır. ET-BR ise apoptozu artırarak tümör büyümesini azaltır. Bazı kanser türlerinde hipermetilasyon ve ET-BR geninin sessizleştirilmesi gösterilmiştir. KHDAK hastalarında ET-BR mRNA seviyelerinde azalma saptanmış, tümör dokusu örneklerinde ise hipermetilasyonda artma gösterilmiştir. ET-BR geninin hipermetilasyonu sonucu gen ekspresyonunun susturulması nazofarenks ve prostat tümörlerinde bir de melanom hücre dizilerinde gösterilmiştir. Bir çalışmada akciğer kanserli hastalarda ET-BR geni hipermetilasyonu %33 oranında saptanmıştır.

ET-BR aynı zamanda ET-1 klirensini de düzenler. ET-BR blokajı sonucu dolaşımdaki ET-1 miktarı artarak, ET-AR'a bağlanma konusunda antagonistlerle yarışmaya girer. Bunun sonucunda da ET-AR aktivasyonunda artışa neden olur (60).

Plazma ET-1 seviyesinin yüksek olduğu durumlar; Hipertansiyon, ateroskleroz, astım, akut böbrek yetmezliği, pulmoner hipertansiyon, beyin travması, serebral vazospazm, konjestif kalp yetmezliği ve hiperkolesterolemidir (61).

ET-1'in kalsiyum arttırıcı etkisi BQ123 (selektif ET-AR antagonisti) ile bloke edilirken BQ788 (selektif ET-BR antagonisti) ile bloke edilemez. Bu da mitojenik sinyalde ana fonksiyonun ET-AR'de olduğunu gösterir. ET-1 ve ET-AR hücre proliferasyonunu doğrudan etkilemekle birlikte VEGF ve reseptörleriyle sinerjistik çalışarak kanser progresyonunu da sağlar (62).

VEGF, ET-1 mRNA ekspresyonunu arttırır ve endotel hücrelerinden ET-1 salınımı artırır. ET-AR üzerinden ET-1, VEGF mRNA ekspresyonunu, sekresyonunu arttırır. VEGF'in indüklediği endotel hücre proliferasyonu ve invazyonu artır. Buna göre VEGF ve ET-1 resiprokal uyarıcı etkiyle endotel hücreleri ve vasküler düz kas hücrelerinde proliferasyona neden olmaktadır (63).

Tümör dokusu kanser hücresi yanında komşu primer afferent nosiseptörleri içeren stromadan oluşur. Kanser hücreleri ve stromal hücreler adenosin trifosfat (ATP), bradikinin, sinir büyüme faktörü, prostaglandin ve VEGF gibi birçok ürün salgılayarak nosiseptörü uyarabilir. Ağrılı uyarın nosiseptör tarafından algılanarak dorsal kök gangliyonuna oradan da spinal kanaldaki nöronlara aktarılır. Sinyal sonrasında beynin yüksek merkezlerine iletilir. Nosiseptör aktivasyonu alfa CGRP, endotelin, histamin, glutamat ve substans P gibi nörotransmitterlerin salınmasına neden olur. Bu duyuşal sinir kökenli mediyatörlerin vazodilatasyon özelliği olup tümör dokusunun kan dolaşımını arttırır. Ayrıca CGRP knock out farelerde kan basıncı artar (5).

CGRP, kalsitonin geninin alternatif post-transkripsiyonel işlemlenmesi sonucu oluşan 37 aminoasitlik bir peptittir. 11. kromozom üzerinde yerleşen  $\alpha$  ve  $\beta$  genleri

tarafından kontrol edilir. CGRP hem santral, hem de periferel sinirlerden üretilir, en potent vazodilatör peptittir ve ağrı iletiminde rol alabilir (64). Trigeminal ganglion üzerinde yer alan trigeminal hücreler CGRP'nin ana kaynağıdır. CGRP'nin etkisini RAMP1 (reseptör activity-modifying protein) ve CLP (calcitonin receptor-like receptor) reseptörlerinin birleşiminden oluşan heterotomik bir reseptör üzerinden gösterdiği düşünülmektedir (65). CGRP, tiroid parafoliküler hücreleri, santral ve periferel sinir sisteminde çekirdek ve sinir liflerinde bulunur. CGRP immünreaktivitesi aynı zamanda adrenal medulladaki largenhans adacıklarında da bulunmuştur. Bu peptidin akciğerde nöroendokrin hücrelerde olması endokrin veya parakrin yollardan etkili olduğunu düşündürmektedir. Bir çalışmada tavşanlarda hipoksiye hassas intrapulmoner kemoreseptörler olarak çalıştıkları gösterilmiştir (66).

CGRP, hücre düzeyinde etkisini adenilat siklaz ve siklik adenosin monofosfat (cAMP) üzerinden gerçekleştirir. Mikrovasküler alanda daha potent vazodilatasyon yapar. Değişik doku ve organlarda vazodilatator etkisini göstermekle birlikte en belirgin etkisini serebral sirkülasyonda göstermektedir. Migren patogenezinde vazodilatator etki ile rol oynadığı ifade edilmiştir (67). Kalsitonin gen ilişkili peptit plazma düzeyi migren, küme başağrısı, paroksizmal hemikranya ve trigeminal nevralsi gibi başağrılarında (67), kronik kalp yetmezliği, sepsis (68), yumuşak doku hasarı (69), femur ve boyun kırığı gibi ortopedik hastalıklarda (70) ve gebelikte (71) artmaktadır.

CGRP in vitro damar tüpü oluşumunu arttırmıştır. In vivo olarak da anjiyogenezi değiştirmiştir. CGRP geni knock out farelerde vahşi tip CGRP olanlara göre akciğer kanseri hücreleri anlamlı olarak azalmıştır. Bir CGRP antagonisti olan CGRP 8-37 veya siyatik sinirlerin alınması (L1-5) akciğer kanseri büyümesini baskılamıştır. Akciğer kanseri olmayan farelere göre olanlarda dorsal kök ganglionlarında CGRP mRNA seviyeleri artar. Bu sonuçlar endojen CGRP'nin tümör ilişkili anjiyogenezi ve tümör büyümesini etkilediğini düşündürmektedir (5).

Tümör hücreleri geliştikçe damar boşluğu daralarak yetersiz kan akımına neden olur. Bu durumda hipoksi gelişerek fizyolojik hipoksiye duyarlı mekanizma ile HIF ve PDGF salınımı sonucu anjiyogenez indüklenir. Normal dokularda endotel

hücresi proliferasyonu nadirken neoplazilerde sıklıkla izlenen bir durumdur. Farklı neoplazilerde proliferasyon hızı da farklı olmaktadır. Deneysel çalışmalarda en yoğun kapiller ağ gelişimi glioblastom ve böbrek tümörlerinde gerçekleşmiş, akciğer ve prostat tümörlerinde ise proliferasyon en düşük oranda olmuştur (6).

Anjiyogenez parankim hücreleri ve dolaşımdaki T lenfositler, mast hücreleri ve makrofajlar gibi lenfoid hücrelerce düzenlenir. Yara iyileşmesi döneminde fizyolojik anjiyogenez mekanizması rol alır. Sistemik kemoterapi, dolaşımdaki lenfoid hücre sayısını azaltarak anjiyogenezi azaltır, dolayısıyla da yara iyileşmesi gecikir. Makrofajlar anjiyogenezle ilgili endotel hücre fonksiyonlarını etkileyecek yirmiden fazla faktör üretirler (bFGF, TGF $\alpha$ , PDGF, insülin benzeri büyüme faktörü-1, VEGF). Makrofajların anjiyogenez üzerine bir diğer etkisi de ekstraselüler matriksin (ECM) düzenlenmesidir. ECM içeriği endotel hücrenin şeklini etkileyerek yeni kapiller oluşumu sağlayabilir. Makrofajlar ayrıca anjiyogenezi baskılayabilen maddeler de üretir.

Matriks metalloproteinazlar (MMP) çinko bağımlı nötral endopeptidaz ailesindedir. MMP 9, VEGF'den sonra anjiyogenezin en potent molekülleridir. Fizyolojik şartlarda MMP, ECM ve bazal membran komponentlerini yıkıma uğratar. MMP 2 ve 9 seviyeleri yeni damar oluşturan aktif dokularda yüksek bulunmaktadır. MMP aktivitesi arttıkça tümör invazyonu ve metastaz geliştirme potansiyeli artmaktadır. MMP inhibitörlerinden metalloproteinaz doku inhibitörü (TIMP) 1 ve 2, endotel hücre proliferasyonunu inhibe ederek anjiyogenezi baskılamaktadırlar. MMP 9 knock out farelerde over tümörü hücrelerinin büyüme hızı normal farelere göre anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Bu veriye göre konak hücrelerindeki MMP 9 kusuru kanser anjiyogenezini inhibe etmiştir (6).



Anjiyogenezi düzenleyen anjiyogenik ve anti-anjiyogenik endojen faktörler tablo 2’de gösterilmiştir.

**Tablo -2:** Anjiyogenik ve anti-anjiyogenik endojen faktörler (6)

<b>Anjiyogenik Faktörler</b>	<b>Anti - anjiyogenik faktörler</b>
VEGF	Trombospondin
b FGF	Anjiyostatin
PDGF	Endostatin
Anjiyogenin	İnterferon $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$
TGF $\alpha$ , $\beta$	IL 12
Epidermal büyüme faktörü	Trombosit faktör 4
Hepatosit büyüme faktörü	Anjiyopoetin 2
Diğerleri (Granülosit koloni uyarıcı faktör, Tümör nekroz faktör $\alpha$ , IL-8, Prostaglandin E1-E2, Vasküler integrin, MMP)	MMP doku inhibitörleri

## **ENDOJEN ANTİANJİYOGENİK AJANLAR**

Anjiyostatin ve endostatin gibi ajanlar primer tümörlerden salınarak uzak metastazların büyüme ve anjiyogenezini inhibe edebilmektedir. MMP aktivasyonu-inhibisyonu, endotel nitrik oksid sentazın defosforilasyonu, ATP sentaza bağlanarak endotel hücre proliferasyonu ve adezyonunun değişikliğe uğratılması gibi çok sayıda etki mekanizması endojen antianjiyogenik ajanlar için düşünülmüştür, ancak net mekanizma henüz bilinmemektedir. Trombospondin (TSP), trombin aktivasyonuna yanıt olarak trombositler tarafından sentezlenen yüksek molekül ağırlıklı bir glikoproteindir. Çoğu dokuda ECM içinde bulunur. Ayrıca fibroblastlar, damar düz kas hücreleri, monositler, makrofajlar ve kanser hücreleri tarafından da sentezlenirler. Beş alt tipi olmakla birlikte TSP-1 ve 2 tümör dokularındaki damar sayılarıyla ters orantılı bulunmuşlardır. Tümörü infiltre eden makrofajların anjiyostatin üretiminden sorumlu olduğu ve makrofajların bu şekilde anjiyogenez inhibisyonunda rol oynadıkları bildirilmiştir (6).

## **GEREÇ VE YÖNTEM**

### **OLGULAR**

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi 24.02.2009 tarih ve 02 sayılı Tıbbi Etik Kurul onayı ile çalışmamızda, hastanemiz Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'na ilk defa başvuran daha önce kemoterapi almamış patolojik olarak KHDAK tanısı almış 67 hasta değerlendirmeye alındı. Dünya sağlık örgütü (WHO) sınıflamasına göre performansı 0, 1, 2 olan ileri evredeki (evre IIB ve evre IV) hastalar dahil edildi. Çalışmaya katılım için gönüllülük esas alındı. Başvuru anında performansı 3 ve daha kötü olanlar, beyin metastazı veya beyin metastazı şüphesi olanlar, 80 yaş ve üzeri yaşa sahip olanlar, erken evre (I, II ve IIIA) hastalığı olanlar, bilgilendirilmiş onam formunu imzalamayan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Herhangi bir ilaç kullanmayan ve bilinen bir hastalığı olmayan 53-79 yaşları arasında (ortalama  $63.1 \pm 6.3$ ) sağlıklı 20 kişiden kontrol grubu oluşturuldu. Kontrol grubunu oluşturan bireylerin yaş ve cins açısından hasta grubu ile karşılaştırılabilir olmasına dikkat edildi. Sağlıklı kontrol grubununun 16'sı erkek (% 80) ve 4'ü kadın (%20) idi.

Hastaların ve kontrol grubununun yaşı ve cinsiyeti, hastaların tümör tipi, tedavileri ve tedavi öncesi performansları kaydedildi. Kontrol ve hasta grubunu oluşturan bireylere çalışmanın amacı ve kapsamını açıklayıcı bilgilendirme görüşmesi yapıldı ve bireylerden yazılı aydınlatılmış onam belgeleri alındı.

### **BİYOKİMYASAL ANALİZLER**

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin en az 8-12 saatlik gece açlığını takiben sabah aç karnına 08:00-09:00 saatleri arasında kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinden hemogram CELL-DYN 3700 Systems ve CELL-DYN Sapphire cihazı ile albumin, C-reaktif peptid (CRP), Laktat dehidrogenaz (LDH), ferritin, kreatinin, aspartat amino transferaz (AST), alanin amino transferaz (ALT) ve tiroid stimüle edici hormon (TSH) Roche / Hitachi Cobas c Systems, e 601 Module cihazı ile çalışıldı.

Anemi varlığı; kadınlarda 10 gr/dl ve erkeklerde 12 gr/dl altı olarak belirlendi. Lökosit sayısı 9400 K/ $\mu$ L ve üzerindeyse lökositoz, trombosit sayısı 424000 K/ $\mu$ L ve üzerindeyse trombositoz olarak kabul edildi.

Ayrıca hasta ve kontrol grubundan daha sonra topluca çalışılacak olan VEGF, ET-1 ve CGRP için 6 ml venöz kan örnekleri vakumlu düz tüplere alınarak, 10 dakika 15000 rpm'de santrifüj edilerek serum kısmı ayrılıp  $-70^0$  C de derin dondurucuda saklandı. ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi (Digital and analog system, DAS, Plombara Sabina Italy) ile VEGF, ET-1 ve CGRP ölçüldü.

VEGF, ET-1 ve CGRP cut-off değerleri, Statistical Package for Social Sciences version 17.0 (SPSS-17.0, for windows) paket programında yer alan otomatik program ile hesaplandı. Cut-off değerleri VEGF için 934 ng/ml, ET-1 için 1.1 ng/ml ve CGRP için 0.78 ng/ml olarak bulundu. Bu değerlere eşit ve altındakiler düşük, üstündekiler yüksek olarak değerlendirildi.

Literatürde VEGF seviyesini ELISA yöntemiyle değerlendiren KHDAK çalışmalarında farklı cut-off değerleri mevcut olup, prognoz ile VEGF arasında anlamlı ilişki olduğu gösterilen dört farklı çalışmada sırasıyla 500 pg/ml, 630 pg/ml, 500 pg/ml ve 119 pg/ml değerleri cut-off seçilmiştir (7). Literatürde CGRP genellikle IHK olarak değerlendirilmiş ve cut-off değeri kullanılmamıştır. ET-1 ise IHK ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) metodlarıyla incelenmiş olup serum seviyesine ait cut-off değeri belirtilmemiştir.

## **İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

İstatistiksel analiz, Statistical Package for Social Sciences version 17.0 (SPSS-17.0, for windows) paket programı ile yapıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında değerlendirildi.  $P < 0.05$  olması durumunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Kontrol grubu ve hastaların özelliklerinin karşılaştırmalarında ki-kare ve Mann Whitney-U testi uygulandı. Korelasyon analizleri için Spearman ve Pearson korelasyon testi uygulandı. Tüm sağkalım ve progresyonsuz sağkalım süreleri ve

zaman-sağkalım eğrileri için Kaplan Meier yöntemi kullanıldı. Sağkalım ve progresyonu etkileyen faktörlerin analizi için lojistik regresyon uygulandı.

## BULGULAR

### HASTA VE KONTROL GRUPLARININ ÖZELLİKLERİ

Çalışmamıza 62 erkek (% 92.5) ve 5 kadın (% 7.5) olmak üzere 67 ileri evre (IIIB ve IV) KHDAK tanılı hasta alındı. Hastalarımızın yaşları ortalama  $62.9 \pm 8.7$  yıl idi. Altmış yedi hastanın 44'ü (% 65.7) skuamöz hücreli karsinom, 15'i (% 22.4) adenokarsinom ve 8'i (%11.9) diğer histolojik tiplere sahipti. Diğer histolojik tipler patoloji tarafından alt tip belirtilmemiş olan ancak küçük hücreli dışı akciğer kanseri tanısı alanlardı. Hastaların performans durumları sırasıyla, 28'inde 0 (%41.8), 30'unda 1 (%44.8), 9'unda 2 (%13.4) idi. Kırk bir hasta (%61.2) gemsitabin içeren kemoterapi rejimi ile, 24 hasta (% 35.8) taksan içeren kemoterapi rejimi ile tedavi edilirken, 2 hasta (%3) kemoterapi almadı. Yirmi dört hastanın (% 35.8) medikal tedavi ile kontrol altında olan ek hastalığı mevcuttu.

Sağlıklı kontrol grubuna 16 erkek (%80) ve 4 kadın (%20) dahil edildi. Yaş ortalamaları  $63.1 \pm 6.3$  yıl idi. Ek hastalıkları olmayıp performansları iyiydi. Kontrol grubunda anemi, lökositoz, trombositoz, CRP, LDH, ferritin yüksekliği ve albumin düşüklüğü yoktu. Kişilerin hiçbirinin sigara kullanım öyküsü yoktu. Hasta ve kontrol grubunun başlıca klinik ve demografik özellikleri Tablo -3 de gösterilmiştir.

**Tablo -3:** Hasta ve kontrol grubunun demografik ve klinik özellikleri

Özellikler	Hasta grubu (n=67)(%)	Kontrol grubu (n=20) (%)
Yaş (yıl)	$62.9 \pm 8.7$	$63.1 \pm 6.3$
Cinsiyet (kadın/erkek)	5 (7.5) / 62 (92.5)	4 (20) / 16 (80)
Performans durumu		
0-1	58 (86.6)	20 (100)
2	9 (13.4)	0
Ek hastalık (var)	24 (35.8)	0
Sigara kullanımı (var)	54 ( 80.6)	0
Histolojik alt tip		
Adenokarsinom	15 (22.4)	
Skuamöz	44 (65.7)	
Diğer*	8 (11.9)	
Tedavi		
Gemsitabin içeren kemoterapi	41 (61.2)	
Taksan bazlı kemoterapi	24 (35.8)	
Kemoterapi almadı	2 (3)	

\*KHDAK alt tipi belirlenemeyen histolojik alt tip.

## HASTA VE KONTROL GRUBUNUN KARŞILAŞTIRILMASI

Hasta ve kontrol grupları oluşturulurken, yaşın ve cinsiyet dağılımının benzer olmasına dikkat edildi. Laboratuvar değerlerinden Hb, albumin ve TSH düzeyleri hasta grubunda düşük olup, istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (sırasıyla p=0.000, p=0.014 ve p=0.001). Ayrıca hasta grubunda lökosit, polimorf nüveli lökosit (PNL), Plt, CRP, LDH, ferritin düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (sırasıyla p=0.000, p=0.000, p=0.000, p=0.000, p=0.015, p=0.000). Ancak AST, ALT ve kreatinin seviyeleri arasında anlamlı farklılık bulunmadı (sırasıyla p=0.057, p=0.210, p=0.173). Hasta ve kontrol grubunun laboratuvar özellikleri tablo – 4’de gösterilmiştir.

**Tablo -4:** Hasta ve kontrol grubunun laboratuvar değerleri (ortalama±SD).

	<b>Hasta (n=67)</b>	<b>Kontrol (n=20)</b>	<b>p değeri</b>
<b>Hemoglobin (gr/dl)</b>	12.8 ± 1.7	14.5 ± 1.0	0.000*
<b>Albumin (gr / dl)</b>	4.1 ± 0.4	4.4 ± 0.3	0.014*
<b>TSH (µIU / ml)</b>	1.06 ± 1.07	1.69 ± 0.99	0.001*
<b>WBC (K/µL)</b>	10212.5 ± 434.7	7503.5 ± 335.7	0.000*
<b>PNL (K/µL)</b>	6996.8 ± 385.3	4112.5 ± 272.7	0.000*
<b>Plt (K/µL)</b>	368462.7 ± 17878.9	249050 ± 8938.2	0.000*
<b>CRP (mg/dl)</b>	5.7 ± 6.1	0.3 ± 0.1	0.000*
<b>LDH (U/L)</b>	411.9 ± 108.1	194.1 ± 7.1	0.015*
<b>Ferritin (ng/ml)</b>	396.25 ± 92.1	77.1 ± 12.3	0.000*
<b>AST (IU / L)</b>	22.03 ± 17.9	20.4 ± 4.8	0.057
<b>ALT (IU / L)</b>	25.12 ± 25.1	21.8 ± 7.6	0.210
<b>Kreatinin (mg / dl)</b>	0.91 ± 0.21	0.86 ± 0.13	0.173

\*p < 0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir. SD:standart deviasyon

KHDAK hastalarında serum VEGF düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksekti ve serum VEGF düzeyindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0.000). ET-1 ve CGRP düzeyleri ise hasta grubunda düşük olup, kontrol grubundaki yükseklikler istatistiksel olarak anlamlı değildi. Hasta ve kontrol grubunda serum endotelin-1, VEGF ve CGRP düzeyleri Tablo - 5’te gösterilmiştir.

**Tablo -5:** Hasta ve kontrol grubunda serum endotelin-1, VEGF ve CGRP dağılımları

	<b>Hasta (n=67)</b>	<b>Kontrol (n=20)</b>	<b>p değeri</b>
<b>Endotelin-1(ng/ml)</b>	1.30± 0.78	1.51±1.33	0.96
<b>VEGF (ng/ml)</b>	1089.7 ± 509	508.6±451.8	0.000*
<b>CGRP (ng/ml)</b>	0.73±0.22	0.89±0.59	0.54

\*p < 0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

## **HASTALARDA VEGF, CGRP VE ET-1 DÜZEYLERİNİN KLİNİKOPATOLOJİK ÖZELLİKLER İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

Hastalar, VEGF serum seviyesi için saptanan cut-off değeri olan 934 ng/ml değeri esas alınarak VEGF seviyesi yüksek grup (934 ng/ml üzeri) ile VEGF seviyesi düşük grup (934 ng/ml ve altı) olmak üzere iki gruba ayrılarak, klinik ve patolojik özelliklerine göre tablo-6'da değerlendirildi. Serum VEGF seviyesi yüksek grup ile eksitus olan hasta grubu ve serum CRP seviyesi yüksek olan hasta grubu arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptandı (sırasıyla p=0.006 ve 0.045). Hastalar 55 yaş altı ile 55 yaş ve üzeri olarak gruplandığında serum VEGF seviyesi ile istatistiksel anlama ulaşmayan bir ilişki görüldü (p=0.085). Metastaz olan grupta lokal ileri evre hasta grubuna göre serum VEGF seviyesi daha yüksek, bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı olma eğilimindeydi (p=0.068).

Serum VEGF seviyesi artışı; anemi, progresyona kadar geçen süre ve tüm sağkalım süresi ile istatistiksel anlamlı korelasyon göstermekteydi (sırasıyla p=0.05 r= -0.241, p=0.013 r= -0.341, p=0.002 r= -0.378). Albumin düşüklüğü ile VEGF seviyesi artışı arasında istatistiksel anlamlı farka yaklaşan bir korelasyon saptandı (p=0.056, r= -0.235). Yaş, lökositoz, trombositoz, CRP yüksekliği, LDH yüksekliği, ferritin yüksekliği, TSH düşüklüğü, serum ET-1 ve serum CGRP ile VEGF seviyesi arasında korelasyon saptanmadı (sırasıyla p=0.472, p=0.701, p=0.245, p=0.721, p=0.157, p=0.142, p=0.473, p=0.240, p=0.483).

Hastalar, serum CGRP seviyesi için saptanan cut-off değeri olan 0.78 ng/ml değeri esas alınarak CGRP seviyesi yüksek grup (0.78 ng/ml üzeri) ile CGRP seviyesi düşük grup (0.78 ng/ml ve altı) olmak üzere iki gruba ayrılarak, klinik ve patolojik özelliklerine göre tablo-7’de değerlendirildi. CGRP seviyesi yüksek grup ile lökositozu olan grup arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptandı (p=0.009). Metastaz olan grup ile lokal ileri evre grup arasında serum CGRP seviyeleri farklılık göstermemektedir (p=0.607). Hastalar 55 yaş altı ile 55 yaş ve üzeri olarak gruplandırıldığında serum CGRP seviyeleri arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0.548).

Serum CGRP seviyesi artışı tüm sağkalım süresi azalması ile istatistiksel anlama yaklaşan korelasyon göstermekteydi (p=0.056 r= -0.378). Yaş, anemi, lökositoz, trombositoz, albumin düşüklüğü, CRP yüksekliği, LDH yüksekliği, ferritin yüksekliği, TSH düşüklüğü, serum ET-1, serum VEGF seviyesi ve progresyona kadar geçen süre ile CGRP seviyesi arasında korelasyon saptanmadı (sırasıyla p=0.888, p=0.965, p=0.602, p=0.122, p=0.351, p=0.279, p=0.502, p=0.412, p=0.802, p=0.971, p=0.483, p=0.234).

Hastalar, serum ET-1 seviyesi için saptanan cut-off değeri olan 1.1 ng/ml değeri esas alınarak ET-1 seviyesi yüksek grup (1.1 ng/ml üzeri) ile ET-1 seviyesi düşük grup (1.1 ng/ml ve altı) olmak üzere iki gruba ayrılarak, klinik ve patolojik özelliklerine göre tablo-8’de değerlendirildi. Hastalar 55 yaş altı ile 55 yaş ve üzeri olarak gruplandırıldığında serum ET-1 seviyeleri arasında fark bulunmadı (p=0.429). Metastatik grup ile lokal ileri evre grubun serum ET-1 seviyeleri arasında fark yoktu (p=0.612). Değerlendirmeye alınan diğer parametreler ile de ET-1 arasında istatistiksel anlamlı ilişki görülmedi.

Serum ET-1 seviyesi ile yaş, anemi, lökositoz, trombositoz, albumin düşüklüğü, CRP yüksekliği, LDH yüksekliği, ferritin yüksekliği, TSH düşüklüğü, serum CGRP, serum VEGF seviyesi, progresyona kadar geçen süre ve tüm sağkalım süresi arasında korelasyon saptanmadı (sırasıyla p=0.091, p=0.244, p=0.266, p=0.905, p=0.358, p=0.486, p=0.467, p=0.889, p=0.971, p=0.240, p=0.843, p=0.275).



**Tablo -6:** Hasta grubunda serum VEGF seviyeleri ile klinik özelliklerin ilişkisi

Klinikopatolojik özellikler	VEGF (934 ng/ml ve altı)	VEGF (934 ng /ml üstü)	P değeri
Histoloji (n=67)			0.757
Skuaamöz	17	27	
Skuaamöz dışı	8	15	
Histoloji (n=67)			0.772
Adenokarsinom	5	10	
Adenokarsinom dışı	20	32	
Progresyon (n=67)			0.085
Yok	8	6	
Var	17	36	
Hastanın son durumu (n=67)			0.006*
Sağ	11	5	
Eksitus	14	37	
Anemi (n=67)			0.11
Yok	20	25	
Var	5	17	
Lökositoz (n=67)			0.826
Yok (9400 K/ $\mu$ L altı)	12	19	
Var (9400 K/ $\mu$ L ve üstü)	13	23	
Trombositoz (n=67)			0.277
Yok (424000 K/ $\mu$ L altı)	20	28	
Var (424000 K/ $\mu$ L ve üstü)	5	14	
CRP (n=67)			0.045*
Normal (0.5 mg/dl altı)	6	2	
Yüksek (0.5 mg/dl üzeri)	19	40	
LDH (n=67)			0.819
Normal (125 – 243 U/L)	15	24	
Yüksek (243 U/L üzeri)	10	18	
Yaş (n=67)			0.085
55 yaş altı	8	6	
55 yaş ve üzeri	17	36	
Metastaz varlığı (n=67)			0.068
Var	5	18	
Yok	20	24	
Metastaz sayısı (n=23)			0.508
Bir	4	12	
İki ve üzeri	1	6	
Albumin (n=67)			0.077
3 g/dl üzeri	25	36	
3 g/dl ve altı	0	6	
Performans durumu(n=67)			0.466
0-1	23	35	
2-4	2	7	

\*p < 0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

**Tablo -7:** Hasta grubunda serum CGRP seviyeleri ile klinik özelliklerin ilişkisi

Klinikopatolojik özellikler	CGRP (0.78 ng/ml ve altı)	CGRP (0.78 ng /ml üstü)	P değeri
Histoloji (n=67)			0.173
Skvamöz	21	23	
Skvamöz dışı	15	8	
Histoloji (n=67)			0.770
Adenokarsinom	9	6	
Adenokarsinom dışı	27	25	
Progresyon (n=67)			0.228
Yok	10	4	
Var	26	27	
Hastanın son durumu (n=67)			0.420
Sağ	10	6	
Eksitus	26	25	
Anemi (n=67)			0.256
Yok	22	23	
Var	14	8	
Lökositoz (n=67)			0.009*
Yok (9400 K/ $\mu$ L altı)	22	9	
Var (9400 K/ $\mu$ L ve üstü)	14	22	
Trombositoz (n=67)			0.230
Yok (424000 K/ $\mu$ L altı)	28	20	
Var (424000 K/ $\mu$ L ve üstü)	8	11	
CRP (n=67)			0.270
Normal (0.5 mg/dl altı)	6	2	
Yüksek (0.5 mg/dl üzeri)	30	29	
LDH(n=67)			0.982
Normal (125 – 243 U/L)	21	18	
Yüksek (243 U/L üzeri)	15	13	
Yaş(n=67)			0.548
55 yaş altı	9	5	
55 yaş ve üzeri	27	26	
Metastaz varlığı (n=67)			0.607
Var	11	12	
Yok	25	19	
Metastaz sayısı (n=23)			0.193
Bir	6	10	
İki ve üzeri	5	2	
Albumin (n=67)			0.678
3 g/dl üzeri	32	29	
3 g/dl ve altı	4	2	
Performans durumu (n=67)			0.597
0-1	31	27	
2-4	5	4	

\*p < 0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

**Tablo -8:** Hasta grubunda serum ET-1 seviyeleri ile klinik özelliklerin ilişkisi

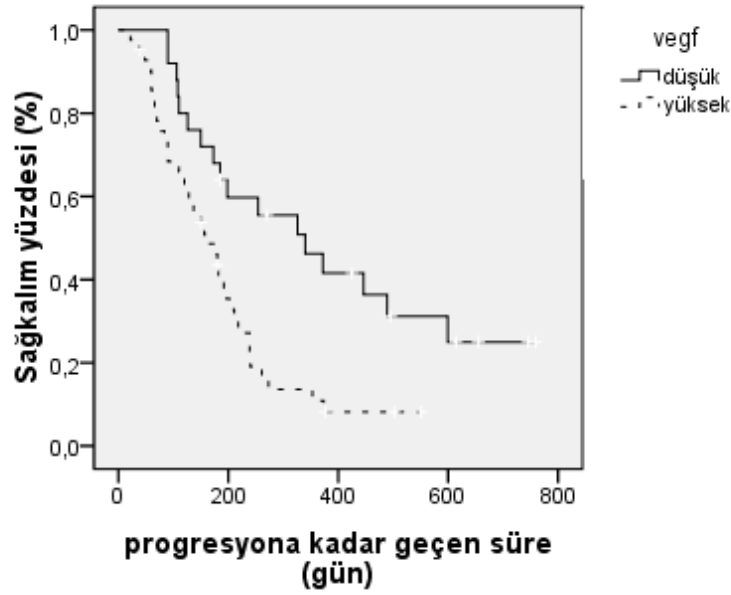
Klinikopatolojik özellikler	ET-1 (1.1 ng/ml ve altı)	ET-1 (1.1 ng /ml üstü)	P değeri
Histoloji (n=67)			0.307
Skumöz	23	21	
Skumöz dışı	9	14	
Histoloji (n=67)			0.495
Adenokarsinom	6	9	
Adenokarsinom dışı	26	26	
Progresyon (n=67)			0.231
Yok	9	5	
Var	23	30	
Hastanın son durumu (n=67)			0.713
Sağ	7	9	
Eksitus	25	26	
Anemi (n=67)			0.798
Yok	21	24	
Var	11	11	
Lökositoz (n=67)			0.169
Yok (9400 K/μL altı)	12	19	
Var (9400 K/μL ve üstü)	20	16	
Trombositoz (n=67)			0.968
Yok (424000 K/μL altı)	23	25	
Var (424000 K/μL ve üstü)	9	10	
CRP (n=67)			0.593
Normal (0.5 mg/dl altı)	4	4	
Yüksek (0.5 mg/dl üzeri)	28	31	
LDH (n=67)			0.239
Normal (125 – 243 U/L)	21	18	
Yüksek (243 U/L üzeri)	11	17	
Yaş (n=67)			0.429
55 yaş altı	8	6	
55 yaş ve üzeri	24	29	
Metastaz varlığı (n=67)			0.612
Var	10	13	
Yok	22	22	
Metastaz sayısı (n=23)			0.405
Bir	8	8	
İki ve üzeri	2	5	
Albumin (n=67)			0.675
3 g/dl üzeri	30	31	
3 g/dl ve altı	2	4	
Performans durumu (n=67)			0.727
0-1	27	31	
2-4	5	4	

\*p < 0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

## SAĞKALIM ANALİZLERİ

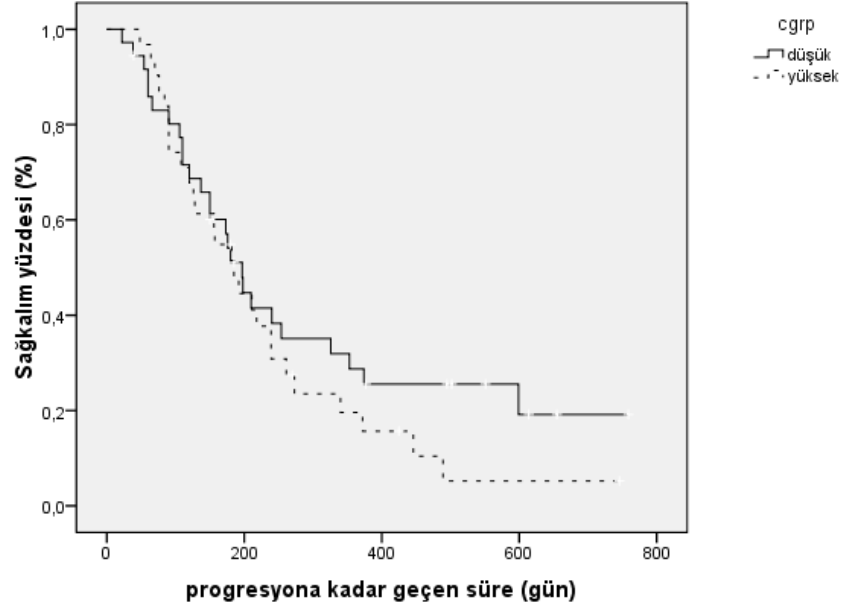
Altmış yedi hastanın 53'ünde (%79.1) progresyon gelişti. Hastaların medyan progresyonsuz sağkalım süreleri 185 gün ( %95 CI: 158.1-211.9), hastaların 1 yıllık ve 2 yıllık progresyonsuz sağkalım oranları sırasıyla %24 ve %13 bulundu. Hastaların medyan tüm sağkalım süreleri 281 gün bulundu (% 95 CI: 164.1-397.9). Hastaların 1 yıllık ve 2 yıllık sağkalım oranları sırasıyla % 43.3 ve % 23.8 idi.

VEGF düzeyi yüksek olan hastalarda medyan progresyonsuz sağkalım süresi 157 gün olup, serum VEGF düzeyleri normal olanlarda medyan progresyonsuz sağkalım süresi 340 güne ulaşmaktaydı. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0.003$ ) (Şekil -2).



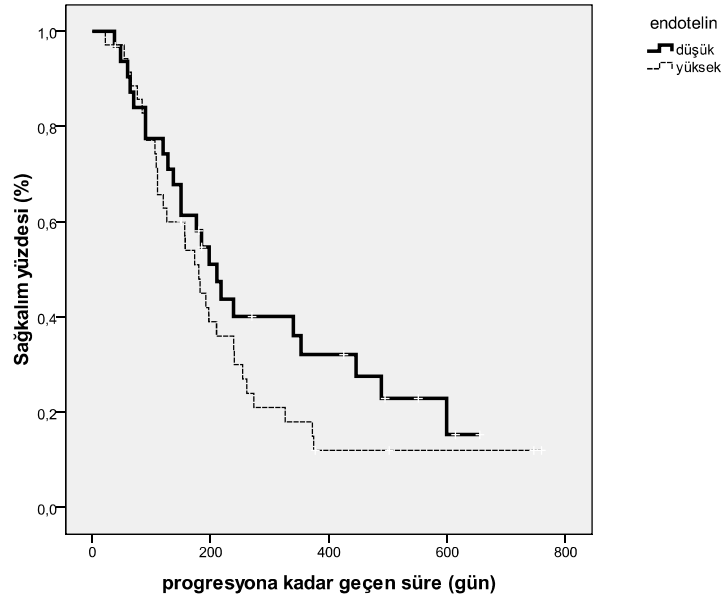
Şekil -2: VEGF düzeyine göre progresyonsuz sağkalım eğrisi

CGRP serum düzeyi yüksek olan hastalarda medyan progresyonsuz sağkalım süresi 185 gün olup, düşük olanlarda medyan progresyonsuz sağkalım süresi 197 gün bulundu. Ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0.319$ ) (Şekil -3).



**Şekil -3:** CGRP düzeyine göre progresyonsuz sağkalım eğrisi

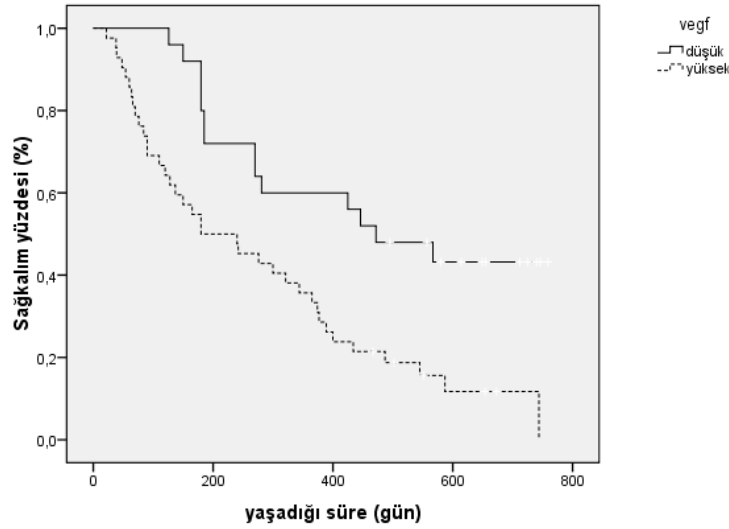
Serum ET-1 düzeyi yüksek olan hastalarda medyan progresyonsuz sağkalım süresi sırasıyla 180 gün olup, düşük olanlarda medyan progresyonsuz sağkalım süresi 211 gün bulundu. Ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0.228$ ) (Şekil -4).



**Şekil -4:** ET-1 düzeyine göre progresyonsuz sağkalım eğrisi

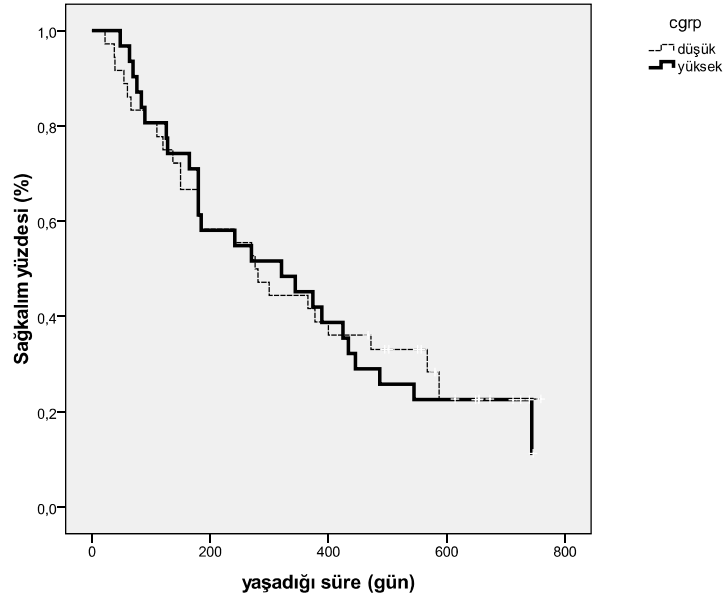
Alt grup analizlerinde performans durumu, ek hastalık, anemi, lökositoz, trombositoz, albumin düzeyi, CRP, LDH, TSH seviyesi, skuamöz-skuamöz dışı alt tip, adeno-adeno dışı alt tip ve sigara kullanımı açısından medyan progresyonsuz sağkalım sürelerine bakıldığında anlamlı farklılık saptanmadı (sırasıyla  $p=0.961$ ,  $p=0.312$ ,  $p=0.634$ ,  $p=0.305$ ,  $p=0.921$ ,  $p=0.157$ ,  $p=0.157$ ,  $p=0.107$ ,  $p=0.490$ ,  $p=0.932$ ,  $p=0.433$ ,  $p=0.367$ ).

Medyan tüm sağkalım süreleri değerlendirildiğinde VEGF seviyesi düşük olanlarda 472 gün, yüksek olanlarda 180 gün olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p=0.001$ ) (Şekil -5).



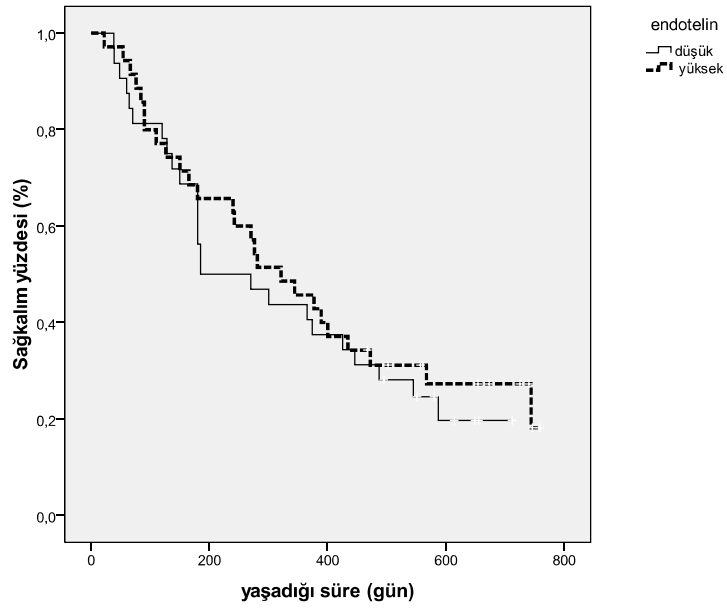
**Şekil -5:** VEGF düzeyine göre tüm sağkalım eğrisi

CGRP düzeyi yüksek olan hastalarda medyan tüm sağkalım süresi 321 günken düşük olan hastalarda medyan tüm sağkalım süresi 276 gün saptandı. Ancak aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0.86$ ) (Şekil -6).



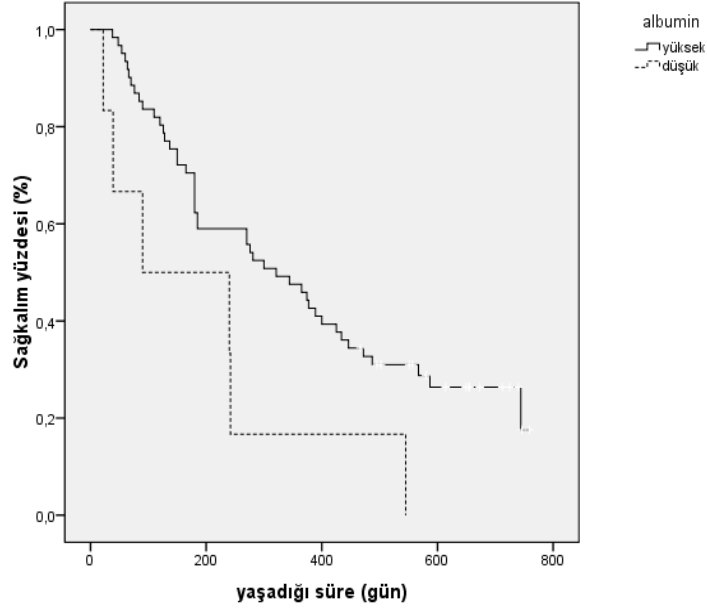
Şekil -6: CGRP düzeyine göre tüm sağkalım eğrisi

Endotelin-1 düzeyi düşük olan hastalarda medyan tüm sağkalım süresi 185 gün olup yüksek olan hastalarda ise 321 gün bulundu, ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p=0.57$ ) (Şekil -7).



Şekil -7: ET-1 düzeyine göre tüm sağkalım eğrisi

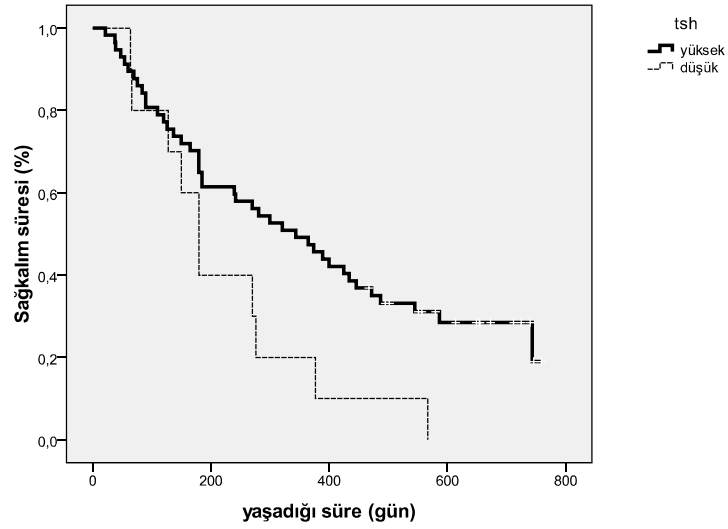
Albumini yüksek olan hastaların medyan tüm sağkalım süresi 321 gün iken düşük olan hastaların 90 gündü ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p=0.033$ ) (Şekil -8).



**Şekil -8:** Albumin düzeyine göre tüm sağkalım eğrisi

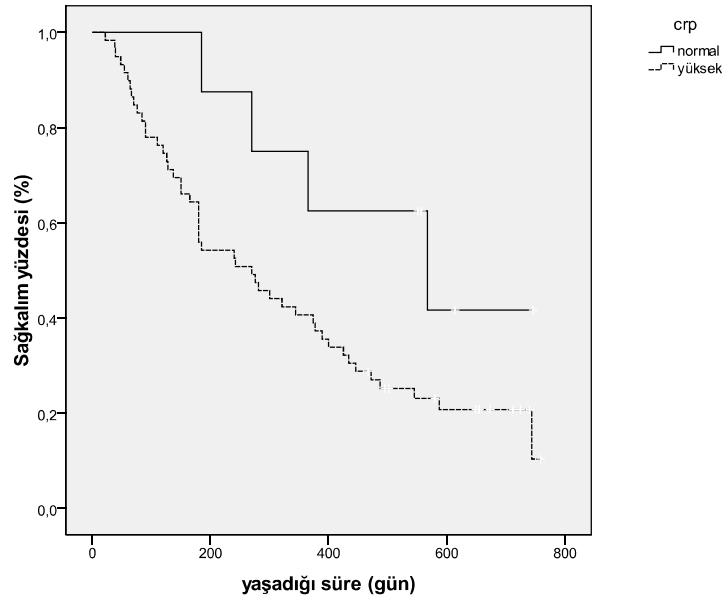
TSH değeri düşük olan hastaların medyan tüm sağkalım süresi 225 gün iken normal olan hastaların 385 gündü ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0.03$ ) (Şekil -9).





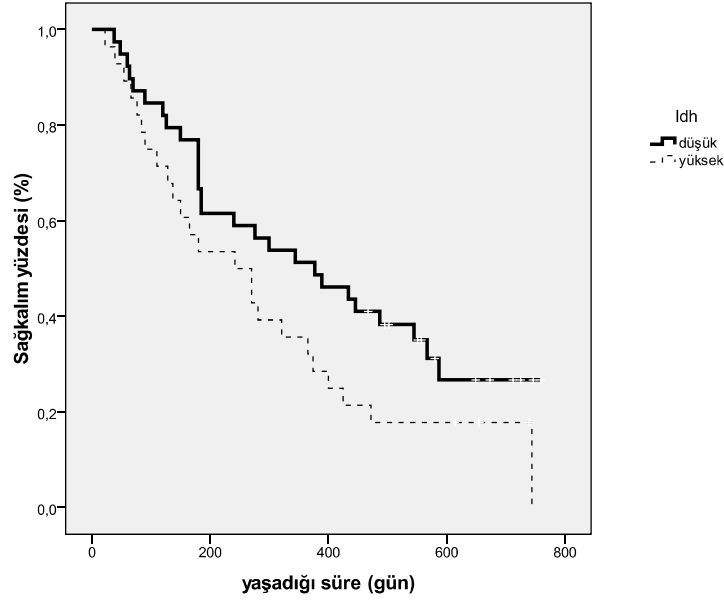
**Şekil -9:** TSH düzeyine göre tüm sağkalım eğrisi

CRP yüksek olan hastaların medyan tüm sağkalım süresi 270 gün iken düşük olan hastaların 567 gündü ve aradaki fark istatistiksel anlama yaklaştı ( $p=0.066$ ) (Şekil -10).



**Şekil -10:** CRP düzeyine göre tüm sağkalım eğrisi

LDH yüksek olan hastaların medyan tüm sağkalım süresi 242 gün iken düşük olan hastaların 377 gündü ve aradaki fark istatistiksel anlama yaklaştı (p=0.092) (Şekil -11).



Şekil -11: LDH düzeyine göre tüm sağkalım eğrisi

Alt grup analizlerinde performans durumu, ek hastalık, anemi, lökositoz, trombositoz, skuamöz-skuamöz dışı alt tip, adeno-adeno dışı alt tip ve sigara kullanımı açısından medyan tüm sağkalım sürelerine bakıldığında anlamlı farklılık saptanmadı (sırasıyla p=0.791, p=0.33, p=0.358, p=0.185, p=0.571, p=0.314, p=0.599, p=0.472).

## **PROGRESYONU VE SAĞKALIMI ETKİLEYEN FAKTÖRLERİN ÇOK DEĞİŞKENLİ ANALİZLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Çok değişkenli analiz ile değerlendirildiğinde ek hastalık varlığının kötü prognozu istatistiksel olarak anlamlı etkilediği gösterildi (6.2 kat,  $p=0.013$ ). Serum VEGF düzeyi yüksekliğinin (2.9 kat,  $p=0.08$ ) istatistiksel anlamlı farka ulaşmamakla birlikte progresyonu etkilediği saptandı.

Diğer parametrelerden yaşın, cinsiyetin, skuamöz ile non-skuamöz histolojik alt grup farkının, adeno ile non-adeno histolojik alt grup farkının, performans durumunun, sigara kullanımının, aneminin, lökositozun, trombositozun, albumin düşüklüğünün, CRP yüksekliğinin, LDH yüksekliğinin, TSH düşüklüğünün, serum ET-1 ve CGRP düzeylerinin progresyonu etkilemediği sonucuna ulaşıldı (sırasıyla  $p=0.956$ ,  $p=0.959$ ,  $p=0.610$ ,  $p=0.124$ ,  $p=0.916$ ,  $p=0.829$ ,  $p=0.797$ ,  $p=0.753$ ,  $p=0.984$ ,  $p=0.789$ ,  $p=0.218$ ,  $p=0.604$ ,  $p=0.443$ ,  $p=0.164$ ,  $p=0.135$ ).

Çok değişkenli analiz ile değerlendirildiğinde tüm sağkalımı olumsuz yönde etkileyen faktörler, TSH düşüklüğü (3.7 kat  $p=0.05$ ) ve VEGF yüksekliği (8.8 kat,  $p=0.003$ ) olarak bulundu. Bu iki faktör de istatistiksel olarak anlamlı farka ulaşmaktaydı. CRP yüksekliği (3.4 kat,  $p=0.065$ ) tüm sağkalımı olumsuz yönde etkileme açısından istatistiksel anlamlı farka yakındı.

Diğer faktörlerden yaşın, cinsiyetin, skuamöz ile non-skuamöz histolojik alt grup farkının, adeno ile non-adeno histolojik alt grup farkının, ek hastalık varlığının, performans durumunun, sigara kullanımının, aneminin, lökositozun, trombositozun, albumin düşüklüğünün, LDH yüksekliğinin, serum ET-1 ve CGRP düzeylerinin sağkalım üzerine etkisi görülmedi (sırasıyla  $p=0.243$ ,  $p=0.379$ ,  $p=0.130$ ,  $p=0.330$ ,  $p=0.175$ ,  $p=0.475$ ,  $p=0.516$ ,  $p=0.444$ ,  $p=0.136$ ,  $p=0.328$ ,  $p=0.150$ ,  $p=0.119$ ,  $p=0.713$ ,  $p=0.420$ ).

## TARTIŞMA

Çalışmamızda ileri evre KHDAK hastalarında VEGF, ET-1 ile CGRP değerlerinin prognoz ve sağkalımla olan ilişkisini araştırdık. Hastaların bazal VEGF, ET-1 ile CGRP düzeylerinin değerlendirilmesi, hastalısız sağkalım ile yaşam sürelerinin ortaya konması ve prognozla ilişkili olabilecek laboratuvar parametrelerinin değerlendirilmesi ve birbirleri ile olan ilişkisinin ortaya konması açısından literatüre katkı sağlayacak bir çalışma olmasını amaçladık.

Akciğer kanseri, görülme sıklığı ve ölüm oranının giderek artması nedeniyle tüm dünyada önemli bir sağlık sorunudur ve her iki cinste de kansere bağlı ölümlerin başında gelmektedir. Akciğer kanserinin %85'ini KHDAK oluşturmakta ve bu hastaların da büyük bir kısmı ileri evrede tespit edilmektedir. Her iki cinste de akciğer kanseri görülme yaşı benzer ve en sık 65-75 yaş arasındadır (72). En sık görülen histolojik tip adenokarsinom (%30-35), ikinci sıklıkta görülen skuamöz hücreli karsinom olmasına rağmen, ülkemizde skuamöz hücreli karsinom birinci sıklıkta görülmektedir (24). Bizim çalışmamızda, tanı yaşı ortalaması  $62.9 \pm 8.7$  olup, literatüre göre daha genç idi. KHDAK erkek hastalarda sıklıkla görülmekle birlikte ülkemiz verilerine uygun olarak skuamöz hücreli karsinom alt tipi çalışmamızda da daha fazlaydı. Akciğer kanserinin etiyopatogenezinde en çok suçlanan faktör olan sigara (73), bizim hasta grubumuzda da % 80.6 oranında kullanılmaktaydı.

Kanser hastalarında prognoz üzerine etkili birçok faktör bulunmaktadır. İleri evre hastalıkta prognoz üzerine etkili faktörler arasında hastalığın yaygınlığı ve kötü performans durumu en önemli prognostik faktörler olarak tanımlanmaktadır (27,74). Çalışmaya aldığımız hastaların %86.6'sının performans durumu iyi idi. Yapılan istatistiksel değerlendirmede de performans durumunun progresyonu ve sağkalımı etkilemediği görülmüştür. Performans durumu ile progresyon ve sağkalım arasında ilişki görülmemesinin nedeni çalışmamızdaki hasta sayısı azlığı olabilir.

Çalışmamızda Hb düşüklüğü, lökositoz ve trombositoz hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı farka sahip bulunmuştur. Literatürde KHDAK hastalarını değerlendiren bir çalışmada Hb düşüklüğü, lökositoz ve trombositoz ile

kötü sağkalım arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir (75). Lökositoz, akciğer kanserinde %16-30 oranında görülen bir paraneoplastik sendromdur. Tümör hücrelerinden salgılanan granülosit koloni uyarıcı faktöre bağlı ortaya çıktığı hipotezi üzerinde durulmaktadır. Hiraki ve ark. tarafından yapılan çalışmada KHDAK hastaları için kötü prognostik belirteç olarak bildirilmiştir (76).

KHDAK hastalarında lökositoz ile kötü sağkalım arasındaki ilişki daha önce tanımlanmıştır (75). CGRP'nin deneysel olarak vazodilatasyon yaptığı ve T hücre göçünü uyararak lökositozu arttırdığı gösterilmiştir. Ayrıca T lenfositler üzerinde CGRP reseptörleri olduğu ve T lenfositlerin CGRP sekresyonu yaptıkları da bildirilmiştir (77). Bizim çalışmamız KHDAK hastalarında kötü prognozla ilişkili olan CGRP ile lökositoz artışı arasında istatistiksel anlamlılık olduğunu gösteren ilk çalışmadır.

Kanser hastalarında anemi gelişmesinin olası nedenleri, demir metabolizması bozuklukları, kemik iliği eritroid öncül hücre sayısının azalması, inflamatuvar sitokinlerin artışı, hemoliz, tümör yükünün yol açtığı katabolik durum ve eritropoetin sentezindeki defektlerdir. Jinekolojik tümörler, KHDAK, kolon ve meme kanserinde anemi görülme sıklıkları sırasıyla %26-85, %8-84, %30-67 ve %41-82 bulunmuştur. Aoe ve ark. çalışması KHDAK hastalarında anemi varlığı ile kısa sağkalım süresi arasında istatistiksel anlamlı ilişki bildirmişlerdir (78). Çalışmamızda VEGF ve anemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu. Literatürde baş-boyun, serviks, rektum ve akciğer kanseri hastalarından oluşan bir grupta da benzer sonuca ulaşılmıştır (79). Bu ilişki, hipoksinin VEGF salınması için kuvvetli bir uyarıcı olduğu ve anemiye bağlı gelişen doku hipoksisinin de VEGF artışına katkısı olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Trombositoz, kronik inflamatuvar hastalıklarda, enfeksiyonlarda, demir eksikliği anemisinde ve çeşitli kanserlerde gösterilmiştir. Trombositoz, kolon, KHDAK, böbrek ve over kanserlerinde %15-40 sıklıkla ortaya çıkar. Akciğer kanserinde erken evrelerde bile tümör hücrelerinden sentezlenerek dolaşıma salgılanan IL-6 ve makrofaj koloni stimulan faktör tarafından kemik iliğinin uyarılması sonucu trombositoz gelişmektedir. Aoe ve ark. çalışması 611 KHDAK

hastasının tanı anındaki hematolojik verilerini değerlendirmiş ve %16 hastada trombositoz saptamıştır. Bu hasta grubunda prognoz ve sağkalım trombositoz olmayan hastalara göre daha olumsuz seyretmiştir (80). Ancak hasta grubumuzda anemi, lökositoz ve trombositoz parametreleri ile progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım süreleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bunun olası nedeni hasta sayımızın kısıtlı olmasıdır.

Günümüzde kanser ve inflamasyonun moleküler ve hücresel yolları arasındaki ilişki net olarak ortaya konmuştur. Akut faz reaksiyonu (AFR) doku hasarına karşı oluşan, spesifik olmayan erken yanıttır. Bu reaksiyonda inflamasyonun erken fazında lokal ve bölgesel olarak çeşitli endokrin, metabolik ve nörolojik değişiklikler ortaya çıkar. AFR sırasında sentezlenen moleküllere akut faz proteinleri (AFP) denir. Ağırlıklı olarak karaciğerden sentezlenmekle birlikte (%95), monosit, lenfosit, alveol makrofajları ve damar duvarı hücreleri de sentezlerine katkı sağlar. AFP, AFR sırasındaki konsantrasyon değişikliklerine göre pozitif ve negatif proteinler olmak üzere ikiye ayrılır. Pozitif proteinler arasında CRP, alfa 1 asit glikoprotein, alfa 1 anti kimotripsin, alfa 1 antitripsin, alfa 2 makroglobulin, serüloplazmin ve haptoglobulin yer alır. Negatif akut faz proteinleri ise transferrin ve albumindir (81). Çalışmamızda hasta grubunda, serum albumin seviyesi düşüklüğü ve serum CRP seviyesi yüksekliği kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı farka ulaşmıştır. Literatürde McKeown ve ark. yaptığı çalışmada lokal ileri ve metastatik evredeki 50 KHDAK hastası, 11 sağlıklı kontrol ile karşılaştırılmış, çalışmamıza benzer şekilde serum albumin seviyesi kontrol grubunda yüksek bulunurken serum CRP seviyesi de hasta grubunda yüksek seyretmiştir (82).

Biz çalışmamızda CRP ve albuminin prognoz ve sağkalım üzerine olan etkilerini de değerlendirdik. Kolorektal, meme, prostat ve akciğer kanserlerinde serum CRP seviyesi ve CRP gen dağılımının progresyon riskini etkilediği gösterilmiştir. İleri evre KHDAK hastalarında CRP, başı interlökin-6'nın (IL-6) çektiği bir grup sitokin tarafından aktive edilerek sağkalımda önemli rol oynar. KHDAK hastalarında kemoterapi yanıtı ile CRP seviyesinin farklılaşmasını değerlendiren bir çalışmada CRP düşüşü ile progresyon riskinin azaldığı, CRP seviyesinin %25 ve üzeri artışında ise progresif hastalık geliştiği bildirilmiştir (83).

Kronik inflamasyon, artmış hücre proliferasyonu ve hücre kaskadında hızlanma sonucu geri dönüşümsüz DNA hasarına neden olarak tümörde progresyon ortaya çıkarabilir. KHDAK hastalarında yapılan bir başka çalışmada ise preoperatif CRP yüksekliği ile T ve N evresi yüksekliği arasında anlamlı ilişki bildirilmiştir (81). Çalışmamızda da literatürle benzer olarak CRP ile tüm sağkalım süresi arasında istatistiksel anlama yakın olan bir ilişki saptanmıştır. Tüm hastalar ileri evrede oldukları için TNM evrelemesi ile serum CRP düzeyleri arasındaki ilişki değerlendirilmemiştir.

Kanser hastalarında AFP ve sitokinlerin etkileşimi araştırmacılar tarafından ilgi odağı olmuştur. Akut faz proteinlerinden CRP artışı ile eş zamanlı VEGF artışı arasındaki ilişki tüm evre kolorektal kanserli olguları içeren çalışmada bildirilmiştir (84). Sadece lokal ve lokal ileri operabl kolon kanserli hastaları içeren bir başka çalışmada ise CRP sağkalım üzerine etkili saptanmamış ancak VEGF çok değişkenli analizde sağkalım üzerine etkili olmuştur. Araştırmacılar bunun nedeni olarak çalışma grubunda metastatik hastaların bulunmamasını göstermişlerdir (85). Çalışmamızda tümörün yeniden damarlanması ve gelişmesinde büyük öneme sahip olan CRP ve VEGF arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmuştur.

Kanser hastalarında AFR'ye bağlı gelişen, iştahsızlık, kilo kaybı ile giden beslenme bozukluğu sonucu vücut kas ve yağ kitlesi azalmaktadır. Kas kitlesinin azalması sonucu yaşam kalitesi ve performans durumu düşüşü gözlenmekte sonuç olarak kanserle ilişkili morbidite ve mortalite artmaktadır. Akciğer ve gastrointestinal sistem kaynaklı tümörlerde, bu kayıp hastalığın daha erken evrelerinden itibaren ortaya çıkmakta ve serum albumin düzeylerinde düşme gözlenmektedir (86). Bir başka çalışmada inoperabl, ileri evre KHDAK hastalarında serum albumin ve CRP için kullanılan skorlama sistemi düzenlenerek TNM evresi ve performans durumu için kullanılan skorlama sistemi ile karşılaştırılmıştır. İki skorlama sistemi ile de benzer prognostik değerlere ulaşılmıştır. Üstelik ölçümlerinin kolaylığı ve klinik pratikte sık değerlendirilmeleri albumin ve CRP skorlama sisteminin avantajları olarak belirtilmiştir. Bu skorlama sistemine “Glaskow Prognostik Skorlama” ismi verilmiş, sonrasında birçok çalışmada referans olarak tanımlanmıştır (87). Biz de çalışmamızda literatürle uyumlu olarak, bir negatif akut faz proteini olan albumin

değeri düşüklüğü ile hasta grubunda tüm sağkalım süresinin kısalığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğunu saptadık.

Literatürde KHDAK hastalarında negatif bir AFP olan albumin ile VEGF arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışma yoktur. Sadece bir vaka sunumunda kapiller kaçış sendromu tanılı hastada VEGF ile hipoalbuminemi bir arada sunulmuştur (88). Bizim çalışmamızda albümin düşük hastalarda VEGF düzeyleri yüksek olarak saptandı. Hem VEGF yüksekliğinin hem de albumin düşüklüğünün kötü prognoz ile ilişkili olduğu bilinmekle birlikte bizim çalışmamız literatürde bu iki parametre arasındaki korelasyonu değerlendiren ilk çalışma olma özelliğindedir.

Miksödem koması sonrasında spontan remisyona uğrayan metastatik KHDAK vakasının bildirilmesi ile tiroid hormon sekresyonunun karsinogenezi arttırabileceği hipotezi üzerinde çalışmalara yoğunlaşmıştır (89,90). Biz de çalışmamızda, hasta ve kontrol grupları arasındaki serum TSH seviyelerini karşılaştırdık. Hasta grubunda kontrol grubuna göre serum TSH seviyelerinde istatistiksel anlama ulaşan düşük değerler saptadık. Çalışmamızda TSH'nin cut-off değeri 0.27  $\mu$ IU/ml kabul edildi. TSH düzeyleri 0.27  $\mu$ IU/ml değerinin altında olanlarda sağkalım daha kötüydü. Bu sonuçlar ile TSH'nin hem karsinogenezde hem de hastalığın progresyonunda etkili bir fizyolojik faktör olabileceği akla gelmektedir.

Tiroid hormonlarının fizyolojik büyüme, olgunlaşma ve metabolizmada önemli rol almaları nedeni ile kanser gelişme riskini de etkileyebilecekleri hipotezi birçok çalışmada değerlendirilmiştir (89). Ancak Norveç toplumunda yapılan prospektif bir çalışma dışında güçlü istatistiksel etki yaratmamıştır. Bu çalışmada başlangıçta tiroid hastalığı olduğu bilinmeyen yaklaşık 30000 popülasyonda 9 yıllık izlemde TSH ölçümleri yapılmıştır. TSH değeri normal olan gruba göre TSH değeri 0.5 mU/L altında olan grupta akciğer kanseri riski 2.34 kat, prostat kanseri riski de 1.97 kat artmıştır (sırasıyla HR 2.34; 95% CI, 1.24-4.40 ve, HR 1.97; 95% CI, 1.04-3.76) (90). Başka bir çalışmada da hipotiroidi ile meme kanseri gelişme riskinin azaldığı bildirilmiştir (91). Bizim çalışmamızda da mevcut literatürü destekler nitelikte, TSH değeri düşük olan hastaların medyan tüm sağkalım süresi 225 gün iken TSH değeri



normal olan hastaların sağkalımı 385 gündü ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı.

Literatürde hipertiroidinin KHDAK prognozu ve sağkalıma olan etkisini araştıran bir çalışma yoktur. Ancak olgu sunumlarında primer akciğer kanserinin tiroid dokusuna metastaz yapması sonucu gelişen hipertiroidi tabloları bildirilmiştir (92,93). Meme kanseri ile tiroid hormonlarının ilişkisi daha yoğun olarak incelenmiştir. Bunun başlıca sebepleri tiroid hormonlarının östrojen benzeri etkileri, meme dokusu farklılaşması ve meme kanseri gelişmesinde rol almalarıdır (94). Ayrıca meme ve tiroid epitel hücreleri ortak mekanizmaları olan aktif transport sistemiyle hücre içine iyot alırlar (95). Tosovic ve ark. çalışmasında sağlıklı gönüllülerin takibi sonucu triiyodotironin (T3) seviyesi yüksekliği ile meme kanseri gelişme riski arasında istatistiksel anlamlı ilişki elde edilmiştir. Ancak serum TSH seviyeleri ile meme kanseri gelişmesi arasında ilişki bulunmamıştır (94). Türken ve ark. çalışmalarında 150 meme kanseri hastası ile 100 sağlıklı gönüllünün tiroid hormon seviyelerini değerlendirmiş ve tiroksin (T4) seviyeleri hasta grubunda istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur (95). Cristofanilli ve ark. çalışmalarında primer hipotiroidisi olan hasta grubunda sağlıklı bireylere göre meme kanseri gelişme olasılığının %57 daha az olduğunu bildirmişlerdir (91). Ayrıca hipotiroidi kolunda meme kanseri gelişmesi halinde bu tümörlerin daha erken evrede ve daha az lenf nodu tutulumuyla birlikte olduğu gösterilmiştir (91). Bu durum serum TSH seviyesi düşüklüğünün meme kanseri için prognoz ve sağkalıma olumsuz etkisi olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızda değerlendirdiğimiz bir diğer laboratuvar parametresi de LDH seviyesidir. LDH seviyesi artışı, geniş yelpazedeki birçok kanserde kötü prognoz ile ilişkilidir. Bu tümörler arasında KHDAK, pankreas kanseri, osteosarkom, böbrek ve testis kanseri bulunmaktadır. LDH seviyesi yüksekliği lenfomalarda da kemoterapiye direnç ve kemoterapi sonrası yüksek relaps oranıyla ilişkili bulunmuştur (96). Çalışmamızda hasta grubu LDH seviyeleri, kontrol grubu LDH seviyelerinden istatistiksel olarak anlamlı yüksek seviyede bulunmuştur. LDH, KHDAK için güçlü bir prognostik faktördür ve KHDAK'lı hastaların değerlendirildiği pek çok çalışmada sağkalımla anlamlı ilişkisinin olduğu gösterilmiştir. Van Zandwijk ve ark. prospektif

çalışması, 42 lokal ileri veya metastatik KHDAK hastasında tedavi öncesi serum LDH düzeylerini değerlendirmiştir. Metastatik hastalarda lokal ileri hastalara göre LDH seviyeleri yüksek bulunmuştur (metastatik ve lokal ileri hastalarda sırasıyla %40 ve %18). Serum LDH seviyesi artışı ile sağkalım süresi kısalmıştır (97). Turna ve ark. çalışmalarında 102 erken evre KHDAK hastasının postoperatif komplikasyon oranlarıyla tedavi öncesi klinik ve laboratuvar özelliklerini karşılaştırmış, sadece serum LDH seviyesinin 320 U/L üzerinde olması ile postoperatif morbidite gelişme riski arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (98). Çalışmamızda literatüre benzer olarak biz de KHDAK hasta grubunda LDH yüksekliğinin progresyonu etkilediğini gösterdik. LDH değeri yüksek olan hastalarda medyan tüm sağkalım süresi 242 gün iken düşük olan hastalarda 377 gün olarak bulundu ve aradaki farkın istatistiksel anlama ulaşma trendinde olduğu saptandı.

Anjiyogenezde önemli role sahip olduğu bilinen VEGF seviyeleri yapılan çalışmalarda KHDAK hastalarında sağlıklı kontrol gruplarına göre yüksek bulunmuştur (99,100). Taş ve ark. çalışmasında serum VEGF seviyeleri 52 KHDAK hastası ve 16 sağlıklı kontrol grubunda karşılaştırılmış, hasta grubunda VEGF seviyesi yüksek bulunmuştur (99). Başka bir çalışmada da, ileri evre 21 KHDAK hastası ile 46 sağlıklı gönüllünün serum VEGF seviyeleri arasında istatistiksel anlamlı farka ulaşılmıştır (100). Biz de literatür ile uyumlu olarak serum VEGF seviyelerini KHDAK hasta grubunda kontrol grubumuza göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulduk.

Biz çalışmamızda serum VEGF değeri ile sağkalım ve prognoz arasındaki ilişkiyi inceledik çünkü anjiyogenik faktörlerin dolaşım miktarının değerlendirilmesinin IHK değerlendirmeye göre bir takım avantajları vardır. Bunlar daha ekonomik, daha kolay, daha az zaman alıcı, kolaylıkla tekrarlanabilen, tümör dokusu gerektirmeyen, preoperatif incelemeye uygun ve taraf tutma olasılığının daha az olmasıdır. Delmotte ve ark. metaanalizlerinde 15 çalışmada toplam 1549 KHDAK hastasında serum VEGF değerlerini araştırmış, mikrodamar yoğunluğunun ve VEGF ekspresyonunun sağkalım için istatistiksel olarak anlamlı şekilde kötü prognostik faktör olduğunun bildirmişlerdir (sırasıyla HR 1.8-2.0 ve HR 1.5) (101). Ayrıca literatürde 16 çalışma daha VEGF seviyesinin prognostik etkisini incelemiştir. On

çalışma dolaşımdaki VEGF'in sağkalım üzerine olumsuz etkisini araştırmıştır, 4 çalışma dolaşan VEGF seviyesiyle sağkalım arasında anlamlı ters orantıyı gösterirken, bir çalışma istatistiksel olarak anlamlı olmasa da kötü prognoza giden trendi göstermiştir. Diğer 5 çalışmada ise VEGF ve sağkalım arasında ilişki bulunmamıştır. Sağkalım haricinde VEGF ile klinik evre, lenf nodu metastazı ve venöz invazyon gibi prognostik faktörleri inceleyen 6 çalışmada istatistiksel olarak anlamlı ilişki bildirilmiştir (7). Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak, serum VEGF seviyeleri ile KHDAK prognozu ve sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmıştır.

Fontanini ve ark. yaptığı çalışmada 105 KHDAK hastasında cerrahi olarak rezeke edilmiş doku örneklerinde immünohistokimyasal olarak VEGF ekspresyonu ile mikrodamar yoğunluğu ve sayısını değerlendirmiştir. VEGF aşırı ekspresyonu ile lenf nodu tutulumu arasında, mikrodamar yoğunluğu arasında, sağkalım ve progresyona kadar geçen süre arasında istatistiksel anlamlı ilişki bildirilmiştir (102). Yuan ve ark. yaptığı çalışmada rezeke edilmiş toplam 72 evre I, II ve IIIa KHDAK hastasını değerlendirmiştir. Revers transkriptaz (RT) PCR yöntemiyle 4 VEGF mRNA izoformu ölçülmüş ve mikrodamar yoğunluğu incelenmiştir. Sonuç olarak, yüksek VEGF mRNA ekspresyonu olan hastaların evresi daha yüksek, lenf nodu tutulumu daha fazla, tümör dokularında mikrodamar yoğunluğu daha yüksek, sağkalım süreleri daha kısa ve daha hızlı relaps oranlarına sahip olduklarını bulmuşlardır. Ek olarak bu çalışmada adenokarsinom alt tipinde VEGF mRNA seviyeleri skuamöz alt tipine göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır (103). Adenokarsinomda VEGF mRNA seviyesinin skuamöz tipe göre yüksek olması, mikrodamar yoğunluğunu arttırarak metastaz potansiyelinin daha fazla olmasına neden olabilir. Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak hastalık yaygınlığı ile serum VEGF seviyesi artışı arasında istatistiksel olarak anlamlı farka yakın sonuçlar elde edilmiştir. Hasta sayımızın az olması anlamlı fark oluşmamasında bir etken olabilir. Metastatik hasta grubunda metastaz sayısı ile serum VEGF seviyesi arasında ilişki saptanmadı. Yine skuamöz ve adenokarsinom alt tipleri serum VEGF seviyeleri açısından karşılaştırıldığında anlamlı farklılığa ulaşılmamıştır.

Serum VEGF seviyesi, KHDAK dışı kanserlerde de prognozun önemli bir belirteçidir. Gasparini ve ark. aksiller lenf nodu tutulumu olmayan 260 meme kanseri hastasının 66 aylık takibi sonucu serum VEGF seviyesi yüksekliğinin hastalıksız sağkalım ve tüm sağkalım süreleri için olumsuz prognostik faktör olduğunu bildirmişlerdir (104). Linderholm ve ark. 362 aksiller lenf nodu pozitif meme kanseri hastasını değerlendirmiş, tek değişkenli analizde serum VEGF seviyesinin relapsız sağkalım ve tüm sağkalım için anlamlı bir belirteç olduğunu saptamışlardır (105). Foekens ve ark. takipler sırasında rekürrens gelişen 845 meme kanseri hastasını incelemiştir. Bu çalışmada tek ve çok değişkenli analizlerde 1.sıra kemoterapi yanıtlarının yüksek serum VEGF seviyelerine bağlı olarak anlamlı azaldığı gösterilmiştir (106). Kwon ve ark. küratif rezeksiyon yaptıkları 132 kolorektal kanser hastasının medyan 18.5 ay izlemi sonucu çok değişkenli analizde serum VEGF, CEA, lenf nodu metastazı ve TNM evresinin tüm sağkalım için bağımsız değişkenler oldukları sonucuna ulaşmışlardır (85).

Sitotoksik tedaviler sonrası değerlendirme için kullanılan görüntüleme yöntemleri makroskopik değişiklikleri en az 2-3 kür tedavi aldıktan sonra yani uzun bir süre geçmesinin ardından inceleyebilir. Ek olarak hastaya zararlı radyasyon etkileri de taşımaktadırlar. Bu nedenle daha erken bir süreçte tedavinin etkinliğini değerlendirip tedavinin yanıtı katkısını gösterecek daha basit, kullanışlı bir metoda ihtiyaç giderek artmaktadır. Bu nedenle tümör belirteçleri bir dizi değişikliği değerlendirebilir. KHDAK için CEA, CYFRA 21-1, nükleozomlar tanıyı tahminde yararlı olmakla birlikte klinik pratiğe henüz girmemişlerdir (107). Serum VEGF seviyesi değişiklikleri de tedavi yanıtını değerlendirme amaçlı kullanılabilir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada yeni tanı almış, 42 ileri evre KHDAK hastasında platin bazlı kemoterapi öncesi, kemoterapinin ikinci ve üçüncü kürleri öncesi toplam 3 kez serum VEGF düzeyleri bakılmıştır. İlk kür kemoterapi sonrası remisyona giren hastalarda VEGF bazale göre istatistiksel anlamlı şekilde düşmektedir. İkinci kür öncesi bazale göre VEGF düzeyi değişiklikleri, hastalık progresyonunun erken tahmininde %71.4 sensitivite ve %71.4 spesifite göstermiştir. Ancak bizim çalışmamızdan farklı olarak bu çalışmada bazal serum VEGF düzeyleri ile sağkalım arasında ilişki saptanmamıştır (107). Bir başka çalışmada benzer olarak sisplatin bazlı kemoterapi öncesi ve sonrası VEGF seviyeleri 29 KHDAK hastasında

değerlendirilmiş, tedaviye yanıt verenlerde istatistiksel bir VEGF azalması saptanmıştır (108). Plazma VEGF seviyesinde gözlenen bu değişiklikler sitotoksik tedavinin yanıtı değerlendirilirken tedaviden yarar gören hastalarda progrese olan hastalara göre tümör belirteci seviyesinde anlamlı bir düşüş olmasını savunan hipotezle uyumludur. Tedaviye yanıt veren hastalarda 2.kür kemoterapi öncesi ölçülen plazma VEGF seviyelerinde anlamlı düşme olması dikkat çekicidir. VEGF seviyelerindeki düşmenin sebebi tümör hücrelerinin sitotoksik ajanlar tarafından yok edilmesi ya da hücre döngüsünün azaltılmasıdır. Bu durum VEGF dahil olmak üzere anjiyogenik protein yapan-salgılayan hücre sayısının azalmasına neden olur.

Kemoterapiye yanıt alınmasıyla serum VEGF düşüşü olduğunu gösteren çalışmaların yanında serum VEGF düzeyinde farklılık bulunmayan çalışmalar da vardır (109-111). İleri evre KHDAK hastalarında sisplatin-gemcitabin kemoterapisi öncesi ve 3.kür kemoterapi sonrası serum VEGF seviyeleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır (109). Başka bir çalışmada KHDAK hastalarından sisplatin tedavisi öncesinde, 1.kür tedaviden 24 ve 48 saat sonra VEGF seviyeleri değerlendirilmiş, aralarında anlamlı farklılık saptanmamıştır (110). İkinci sıra kemoterapi olarak gefitinib tedavisi verilen 52 KHDAK hastasında tedavi öncesi ve sonrası serum VEGF seviyelerinde hem tedaviye yanıt veren grupta hem de tedaviye yanıtsız grupta değişiklik olmamıştır (111). Bu çalışmalarda farklılık saptanmama nedenleri, tedavi sonrası VEGF örneklerinin henüz kemoterapi ajanları dolaşımında bulunurken, yeterli süre beklemeden alınmış olması olabilir.

Çalışmamızda serum ET-1 seviyeleri hasta ve kontrol grupları arasında farklılık göstermemektedir. Literatürde ET-1 prekürsörü big ET-1 ile meme kanseri prognozu arasında anlamlı ilişki gösterilmiştir. Bu çalışmada big ET-1, ECE ile ET-1'e metabolize olarak meme fibroblastlarının parakrin uyarı ile büyümesine neden olmuştur (112). Solid tümörlerin büyümesinde rol alan, hipoksiyle indüklenebilen anjiyogenik büyüme faktörü olan ET-1'in stabil bir prekürsörü big ET-1, KHDAK hastalarında da incelenmiştir. Bu çalışmada KHDAK'de big ET-1 ekspresyonu değerlendirilmiştir. Kemoterapi öncesi 30 hastanın ve 20 kontrolün plazma big ET-1 düzeyleri karşılaştırılmış, medyan plazma konsantrasyonu kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur (sırasıyla 5.4 pg/ml, 2.1 pg/ml) (113). Çalışmamızda

serum ET-1 seviyesine bakılmıştır. Ancak serum ET-1 yarılanma ömrünün 1.5 dakika gibi kısa olması ve serum ET-1 seviyesinin akciğer kanseri dokusundaki lokal seviyeyi yansıtmamasından dolayı hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı fark saptanmamış olabilir. Big ET-1'in yarılanma ömrü 23 dakikadır, ET-1 yarılanma ömrünün 15 katıdır. ET-1 bazolateral kompartmana bağlanacağı için serum ET-1 seviyeleri lokal konsantrasyona göre düşük olarak değerlendirilebilir. Bu nedenle big ET-1 seviyesi ölçümü, ET-1 sisteminin aktivitesini değerlendirmede daha yararlı bir yaklaşım olabilir.

Hücre büyümesi, göçü ve anjiyogenezin uyarılmasında rol alan ET-1'in aynı zamanda tümör progresyonunda da rol oynayabileceği, ET-AR ve ET-BR ekspresyonlarının insan akciğer kanseri hücreleri dizilerinde IHK analizi ile değerlendirilmiştir. Onbir adenokarsinom, 12 skuamöz hücreli karsinom hastasına ait örnekler incelendiğinde adeno ve skuamöz tiplerde, ET-AR ve ET-BR seviyeleri normal doku ile benzer bulunmuş, ET-AR / ET-BR oranı adenokarsinomda skuamöz karsinoma göre yüksek bildirilmiştir. İnsan serviks, over ve larenks kanseri hücre dizilerinde ET-1'in transmembran kalsiyumun hücreye geçişi ve hücre içi kalsiyum salınımını konsantrasyona bağlı olarak aktive ettiği daha önce bildirilmiştir. Bir çalışmada ET-1'in ET-AR üzerinden insan akciğer adenokarsinom hücre sayısını kalsiyum ile arttırdığı gösterilmiştir (62). Ortamda kalsiyum seviyesinin artışı ayrıca akciğer kanseri hücrelerinde ET-1'in mitojenik etkisini arttırmaktadır. Hem fosfoinozitol / kalsiyum yolu hem de voltaj bağımlı kalsiyum kanalı bu işleve katkıda bulunur. ET-AR aktivasyonu sonucu hücre büyümesi, anjiyogenez ile invazyon artar ve apoptoz azalırken, ET-BR ise apoptozu artırarak tümör büyümesini azaltır. Bu sonuca göre adenokarsinom alt tipinde sağkalım literatür ile uyumlu olarak skuamöz hücre alt tipinden daha kötüdür (25). Adenokarsinomlar mediastinal lenf nodlarına daha sık yayılarak sistemik metastaz yaparlarken skuamöz hücreli karsinom lokal olarak büyüyerek çevresine yayılma eğilimindedir. Bu nedenle de tüm TNM evrelerinde skuamöz hücreli karsinomun 5 yıllık sağkalımı adenokarsinomdan yüksektir. Bizim çalışmamızda ise skuamöz - non skuamöz alt grup ve adeno - adeno dışı alt grup serum ET-1 seviyeleri arasında fark saptanmaması çalışma grubundaki hasta sayısı azlığından kaynaklanabilir.

Endotelin-1 seviyesi artışı literatürde birçok tümör dokusunda gösterilmiştir (63). Astrositom ve glioblastomlarda ET-1 otokrin şekilde tümör hücrelerine etki eder, bu şekilde anjiyogenik faktör görevindedir. Kaposi sarkomu da ET-AR ve ET-BR reseptörlerini aşırı eksprese eden yüksek derecede anjiyogenik bir tümördür. ET-1 yüksek seviyede sekrete edilerek otokrin büyüme faktörü olarak davranır. Prostat kanserinde ET-1 büyüme aktif eder, apoptozu inhibe eder. ET-1, osteoblastik ve osteoklastik aktivite dengesini değiştirir. Metastatik hastalığın karakteristiği olan yeni kemik formasyonuna neden olur. Osteoblastlarda endotel hücre tarafından salınan ET-1'in VEGF'i ET-AR üzerinden etkilemesiyle kemik metabolizmasının mikrodamar yapısını düzenler. Akciğer kanseri rezeksiyonu sırasında özellikle skuamöz hücreli kanserde tümörü çevreleyen normal dokularda kan damarları ve damar çevresi stromada ET-1 bağlayıcı aktivite yüksek bulunmuştur (63). ET-1, over kanseri hücrelerinde ET-AR üzerinden siklooksijenaz 1 ve 2, prostoglandin E2 ve VEGF'in üretimini arttırmıştır. ET-1 artmış ekspresyonu VEGF ekspresyonunu da arttırmış, lenfovasküler invazyon artmış ve invaziv meme kanserinde kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Meme kanserinde ET-1 ekspresyonu artarak otokrin ve parakrin yollarla tümör hücre büyümesini uyarmaktadır. Wülfing ve ark. 176 meme kanseri hastasının uzun dönem takibinde ET-AR, ET-BR ve ET-1 ekspresyonu artışı ile hastaliksız sağkalım ve tüm sağkalım sürelerinin istatistiksel olarak anlamlı azaldığını bildirmişlerdir (114). Kojima ve ark. cerrahi rezeksiyonu yapılmış 47 meme kanseri hastasında %40.4 oranında ET-1 ekspresyonu tanımlamıştır. Bu grup hastada 5 yıllık sağkalım ET-1 negatif hasta grubuna göre anlamlı azalmıştır (sırasıyla %84.2 ve %96.4) (115). Abdel-Gawad ve ark. 48 kolon kanseri hastası ile 20 sağlıklı gönüllüyü karşılaştırdıkları çalışmalarında tanı anında hasta grubu serum VEGF, ET-1, CA19-9 ve CEA değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı farklı olduğunu bildirmişlerdir. Erken evre hastalara göre ileri evre hastalarda serum VEGF ve ET-1 artışları da anlamlı bulunmuştur (116).

ET-1 ve VEGF arasında benzer doğrusal ilişki akciğer kanserinde de gösterilmiştir (117). İkiyüz bir KHDAK hastası ve kontrol grubunu içeren bir başka çalışmada RT-PCR ile ET-1, ECE, ET-AR ve ET-BR değerlendirilmiş 40 KHDAK hastasında ayrıca VEGF ekspresyonu kompetitif PCR metoduyla değerlendirilerek ET-1 ekspresyonunun bu faktörle ilişkisi incelenmiştir. Normal akciğer dokusuna

göre KHDAK'de anlamlı artmış ET-1, ECE ve ET-AR mRNA ekspresyonu saptanmıştır. ET-BR ekspresyonu ise normal dokuda kanser dokusuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Ayrıca ET-1 ve VEGF mRNA seviyeleri arasında anlamlı ilişki gösterilmiştir. Tek değişkenli analizde cins, lenf nodu metastazı, evre, ET-1 ekspresyonu tüm sağkalım ve progresyonsuz sağkalım için anlamlı kötü prognostik prediktörler olmuştur (118). Ancak biz çalışmamızda ET-1 ve VEGF arasında doğrusal bir ilişki saptayamadık.

Çalışmamızda değerlendirdiğimiz bir başka parametre olan CGRP seviyeleri hasta ve kontrol grubu arasında farklılık göstermemiştir. CGRP deneysel çalışmalarda akciğer nöroendokrin hücrelerde gösterilmiştir (66). Hipoksiye hassas intrapulmoner kemoreseptörler olarak çalıştıkları, endokrin ve parakrin yollardan etki gösterdikleri düşünülmektedir. CGRP, insan keratinositlerinde mitojence aktive edilmiş protein kinaz (MAPK) yolağını aktive ederek VEGF ekspresyonunu düzenler. CGRP ekspresyonu sonucu yeni damar yapılarının gelişmesi invaziv - preinvaziv meme kanserlerinde tanımlanmıştır. Salgılanan endojen CGRP ile tümör ilişkili anjiyogenez ve tümör büyümesi arasında istatistiksel anlamlı artış bildirilmiştir (5). Literatürde KHDAK hastaları ile kontrol grubu serum CGRP seviyelerini karşılaştıran bir çalışma yoktur. Sadece bir çalışma KHAK hastaları ile kontrol grubunu karşılaştırmış, bu çalışmada KHAK hasta grubu serum CGRP seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur (119).

CGRP knock out farelerde, CGRP'nin sürekli infüzyon yoluyla verilmesi sonucu tümör büyümesi 14. günde anlamlı olarak artmıştır (5). CGRP sinyali, adenilat siklazı aktive eder, hücre içi cAMP artar, VEGF ekspresyonu ve anjiyogenez artar. Hücre içi cAMP sinerjistik olarak prostaglandinleri aktive eder, prostaglandinler de proanjiyogenik özelliktedir (5). Çalışmamızda VEGF ve CGRP arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Çoğu hasta için ağrı kanserin ilk bulgusu olup tanı anında %30-50 hastada orta-ağır şiddette ağrı görülür. Kanser seyrinin her anında ağrı olsa da sıklığı ve yoğunluğu ileri evrelerde artar. Metastatik kanser hastalarının %75-95'inde anlamlı ölçüde kanserin indüklediği ağrı vardır. Nöronal sistem kökenli CGRP,



vazodilatasyonla tümöre giden besin kaynaklarını arttırarak tümör büyümesini ve ortaya çıkan ağrıyı arttırabilir (5). Sinir uyarılarının etkili organa sinaps yapmadan duyuusal sinir uçlarıyla getirilmesine “akson refleksi” denir. Nosiseptif uyarının oluşturduğu akson refleksi sinir uçlarından artmış CGRP salınmasıyla yakın ilişkilidir. İnsan cildindeki akson refleksi c-fiber nosiseptörlerin oluşturduğu bir yanıttır. CGRP ve substans P salarak vazodilatasyona neden olur. Bu sonuçlar akson refleksinin düzenlediği CGRP salınımının tümör ilişkili anjiyogenezde anahtar olay olduğunu düşündürmektedir (5).

Saf invaziv ve preinvaziv komponentli mikst invaziv meme kanseri lezyonlarında CGRP’yi IHK olarak değerlendiren bir çalışmada, mikst komponentli hastalarda CGRP oranı daha yüksek bildirilmiştir. Boyanma yoğunluğu non-invaziv paternli mikst tipten saf invaziv paterne geçtikçe düşmüştür. Benzer olarak neoanjiyogenez de mikst tipte daha fazla bulunmuştur. CGRP boyanmasının mikst grupta daha fazla olması CGRP’nin maksimum etkisinin erken preinvazivlikte malign dönüşümün başlangıcında olduğunu, bu dönemde tümör hücre nekrozu ve kalsifikasyonların henüz olmadığını düşündürmektedir (120). İnvaziv patern arttıkça CGRP seviyesi de, yeni oluşmuş mikrodamar sayısı da azalmaktadır. Aynı şekilde VEGF’in maksimum ekspresyon noktası da tümör büyümesinin erken evresi ve mikrodamar gelişiminin maksimum olduğu zamandır. Ancak CGRP, VEGF’den daha da erken evrede etki gösterir (120). Çalışmamızda yüksek serum CGRP seviyeleri saptanmamış olması hasta grubumuzun lokal ileri ve metastatik hastaları içermesinden kaynaklanabilir.

Meme kanserinde CGRP, erken preinvaziv dönemde daha fazla iken prostat kanserinde yapılan çalışmalarda daha önce hiç tedavi edilmemiş hastalarda tanı anında serum CGRP seviyeleri ölçülmüş, yüksek dereceli tümörlerde serum CGRP seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Prostat bezinde CGRP sadece nöroendokrin hücrelerde ve sinir dokuda, baskın olarak da otonomik sinirde bulunur. Evre D1-2’de, evre A2-B-C’ye göre serum CGRP (pg/ml) anlamlı yüksektir (D1-2’de  $9.4 \pm 6.6$ , C’de  $4.8 \pm 2$ , A2-B’de  $4.4 \pm 1.4$ ,  $p=0.04$ ). CGRP hem tümör evresi hem de histolojik derecesi ile anlamlı ilişkilidir. Bu nedenle prostat kanserinde potansiyel bir nöroendokrin belirteç olarak tümör hacmi ve agresifliğini

değerlendirmede kullanılabilir (121). Çalışmamızda serum CGRP düzeyi ile hasta grubunda KHDAK prognozu ve sağkalım süresi arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ancak yapılacak yeni çalışmalarda ağrı ve anestezi tedavisinde kullanılan ilaçlarla kanser hastalarında CGRP sisteminin baskılanması ve bu yolla tümör büyümesinin azaltılması konusu araştırılabilir. Bu olasılık kanser tedavisinde yeni avantajlar sağlayabilir.

Yeni kemoterapi ajanlarının keşfi ile bu ajanların günlük kullanımda kendilerine yer bulmaları ve radyoterapi uygulamalarındaki etkin gelişmelere rağmen KHDAK hastalarının uzun dönem sağkalımlarında düzelme olmaması araştırmacıları biyolojik ajanlara yöneltmiştir. Biyolojik ajanlar tümör hücresindeki özelleşmiş bölgeleri hedef alarak bu bölgelerin işlevlerini tekrar düzenlerler. EGFR aşırı ekspresyonu, karsinogenezin tüm aşamalarını (hücre büyümesi, invazyon, anjiyogenez ve metastaz) etkiler. KHDAK hastalarında EGFR %50-81 aşırı eksprese olmaktadır. EGFR inhibitörleri ve anti-anjiyogenik ajanların kullanıma girmesi KHDAK tedavisinde önemli gelişmelere neden olmuştur. Yeni damarların oluşması, gelişmesi ve idamesinde önemli rol alan VEGF'e ve reseptörlerine karşı geliştirilen anti - VEGF monoklonal antikorlar ve küçük moleküllü çoklu TKI tek başlarına ya da kemoterapi ajanlarıyla kombinasyon halinde kullanıma geçmişlerdir. Bu ajanlar tümörün kan akımını değiştirerek tümör büyümesini ve metastazını önlemektedirler (122).

İleri evre KHDAK hastalarında kemoterapi ve radyoterapi tedavilerinin iyi yanıtlarına rağmen, 1 yıllık sağkalım %30-35, 2 yıllık sağkalım ise % 18 bulunmuştur (123). ABD'nde 1999-2006 yılı veri değerlendirmesine göre KHDAK hastalarında 5 yıllık sağkalım %15.8, evrelere göre bakıldığında ise ileri evrede 5 yıllık sağkalım % 3.5 olarak raporlanmıştır (124). Bizim çalışmamızda 1 yıllık sağkalım % 43.3, 2 yıllık sağkalım ise %23.8 olarak saptanmış olup literatüre yakın sonuçlar bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda tüm yeni tanı KHDAK hastaları değerlendirildiğinde çoğunun sağkalım süresi 1 yılın altında bulunmuştur. Bu nedenle hastalarda prognozun moleküler ve biyolojik belirteçlerle ortaya konması hem hastaların hem

de tedavilerini üstlenen sağlık ekibinin sağkalımı arttırdığı ispatlanmış tedavilere yönelmelerini sağlayacaktır.

VEGF ve reseptörlerine karşı geliştirilen yeni ajanların güncel kemoterapi protokollerine girmesi nedeniyle tedavi öncesi bazal VEGF seviyeleri ve bu seviyelerin prognoz ve sağkalıma etkisini değerlendirmek amacıyla biz de çalışmamızda bazal VEGF seviyelerini inceledik. Literatürde anti-VEGF ajanlar ve VEGF reseptörü inhibitörü ajanların tedavideki yerlerini değerlendiren farklı çalışmalar mevcuttur.

Çok hedefli TKI ailesinde sunitinib ve sorefenib yer alır. Bu ajanlar VEGF reseptörü, PDGF reseptörü, fms benzeri tirozin kinaz 3 ve RET (rearranged during transfection) protoonkogeni inhibitörüdürler. KHDAK hastalarında sunitinibin faz II çalışmaları devam etmektedir. Sorefenib faz II çalışmada 1/3 KHDAK hastasında monoterapide minör radyolojik yanıt sağlarken objektif yanıt elde edilememiştir. Hastalar faz III çalışmada karboplatin-paklitaksel ve/veya sorefenib kollarına randomize edilmiş ancak çalışma erken sonlandırılmıştır. Bunun nedeni skuamöz hücreli alt tipte sorefenib kolunda mortalitenin daha yüksek saptanmasıdır. Bu çalışma ve bevacuzimab çalışmasının ortak sonucu olarak skuamöz hücreli histolojide klinik çalışma haricinde antianjiyogenik ilaç kullanılmamalıdır (122).

Faz III INTEREST çalışması daha önce platin bazlı kemoterapi alan ileri evre hastalarda gefitinibin dosetakselden düşük etkinlikte olmadığı gösterilmek için planlanmıştır. Gefitinib kolundan tolerabilite ve yaşam kalitesi daha iyidir. Bu çalışma sonrasında EGFR-TKI, ileri evre KHDAK hastalarının ikinci sıra tedavisinde yer almıştır. Bu grup ajanlar tüm hasta alt gruplarında benzer etkinlik göstermez. Asyalı ırk, kadın cinsiyet, sigara içmeyen ve adenokarsinom histolojisinde TKI sensitivitesi artmaktadır (125). Yanıt verme potansiyeli yüksek hastaların değerlendirilmesinde EGFR-FISH (flow in-situ hibridizasyon) testi kullanılabilir. BR 21 ve ISEL çalışmalarında EGFR FISH (+) olan hastalarda sağkalım avantajı gösterilmiştir (122).

EGFR-TKI karşı olası primer direnç mekanizmaları, EGFR yolağını paylaşan diğer reseptörlerin aktivasyonu (insülin benzeri büyüme faktörü 1 reseptörü, c-met, PDGF reseptörü), k-ras mutasyonları, insan epidermal büyüme faktörü reseptör ailesi üyeleriyle çapraz etkileşim ve artmış VEGF salınımıdır. EGFR T790M mutasyonu sekonder direncin yarısından sorumludur. C-met aşırı amplifikasyonu da sekonder direncin bir başka nedenidir.

İleri evre KHDAK hastalarında EGFR-TKI'nin kemoterapiye eklenmesi başarısız olmuşken EGFR hedefleyen monoklonal antikor (setuksimab) eklenmesi umut vericidir. Setuksimab EGFR aktivitesini bloke eder, hücre yüzeyindeki reseptörleri azaltır ve antikor bağımlı hücre aracılıklı sitotoksisteyi artırır. FLEX çalışmasında ileri evre KHDAK hastalarında ilk sıra tedavi olarak sisplatin-vinorelbin ve/veya setuksimab değerlendirilmiş, setuksimab eklenen kolda daha iyi sağkalım sağlanmıştır. Bu çalışmada Asyalı ırkın tüm Asya-dışı gruba göre sağkalım daha iyidir. Diğer EGFR hedefleyen monoklonal antikor, panitumumabın faz II çalışmada karboplatin-paklitaksele eklenmesi tedaviye yanıt oranı ve progresyona kadar geçen sürede artış sağlamamıştır (122).

Bevacuzimab, KHDAK tedavisinde kullanılan anti-VEGF monoklonal antikordur. Fare VEGF bağlanma rezidülerinin insan immünoglobulin G'sine eklenmesiyle hümanize olan rekombinant yapıya sahiptir. Çözünür VEGF'ye bağlanıp endotel hücresi yüzeyinde bulunan VEGF ve reseptörlerin reaksiyonunu bozar. Eastern cooperative oncology group (ECOG) 4599 numaralı çalışmasında hiç kemoterapi almamış, non-skvamöz, ileri evre, beyin metastazı olmayan hastalar faz II çalışmada karboplatin-paklitaksel ve/veya bevacuzimab kollarına randomize edilmişler ve tüm sağkalım 12.3 aya 10.3 ay olarak bulunmuş, yanıt oranı artmış, progresyona kadar geçen süre uzamıştır. Ancak toksisite oranı (febril nötropeni, hemoptizi, hemoraji) artmıştır. Yetmiş yaş üzeri alt grup değerlendirmesinde bu grupta yanıt oranı artışı olmazken daha sık yan etki gözlenerek bu grup hastaları kapsayan yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır (126).

VEGF ve EGFR'ın aynı anda ikili inhibisyonunu değerlendiren bir çalışmada Herbs ve ark daha önce tedavi görmüş 40 ileri evre KHDAK hastasında erlotinib ve bevacuzimabı tam doz uygulamış ve medyan sağkalım 12 ay olmuştur (122).

Bevacuzimabın diğer tümörlerdeki klinik etkinliği (122):

- Metastatik kolorektal karsinom tedavisinin 1. ve 2.sirasında fluorourasil-lökoverin ve/veya irinotekan / oksaliptatin ile hastalıksız sağkalım ve tüm sağkalım anlamlı olarak arttırmıştır.

- Lokal/rekürren metastatik meme karsinomunda kemoterapi almamış hastalarda paklitaksele eklenmesi progresyona kadar olan sağkalımı uzatır.

- Önceden tedavi görmüş metastatik böbrek kanserinde plaseboyla karşılaştırıldığında tek başına uygulanması progresyona kadar geçen süreyi anlamlı olarak uzatmıştır.

KHDAK hastalarının bazal VEGF seviyelerinin prognoz ve sağkalım ile anlamlı ilişkisinin saptandığı çalışmamız sonunda yukarıda sözü geçen ve sağkalımı arttıran yeni biyolojik ajanların yakın gelecekte rutin tedavi protokollerine girmesi gerektiğine inanıyoruz.

## SONUÇLAR

Çalışmamızda 67 ileri evre KHDAK tanılı hasta ve 20 sağlıklı kontrol grubu değerlendirildi. Hasta grubunda kontrol grubuna göre lökosit, trombosit, VEGF, LDH, CRP, ferritin düzeyleri anlamlı olarak yüksek saptandı. Hasta grubunda Hb, albumin, TSH düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı olarak düşük bulundu. ET-1 ve CGRP değeri ise kontrol grubunda yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi.

VEGF düzeyleri, anemisi olan hastalarda istatistiksel anlamlı farka ulaşarak yüksek bulunurken, albümin düşüklüğü olanlarda VEGF seviyesi yüksek saptanmakla beraber istatistiksel anlamlı farka ulaşmadı. CRP seviyesi yüksekliği ile VEGF seviyesi artışı arasında istatistiksel anlamlı ilişki mevcuttu. Hastaların son durumları ile VEGF seviyesi arasındaki ilişki değerlendirildiğinde eksitus olan grupta VEGF seviyeleri anlamlı yüksek bulundu. Metastazı olan hastalarda serum VEGF seviyesi yüksekliği istatistiksel anlamlı farka yaklaşmıştı.

CGRP seviyesi yüksekliği ile lökositoz arasında anlamlı ilişki gösterildi. CGRP seviyesi ile performans durumu, yaş, cinsiyet, histolojik alt tip, sigara kullanımı, trombositoz, CRP yüksekliği, LDH yüksekliği, albumin düşüklüğü, anemi ve ferritin yüksekliği açısından herhangi bir ilişki saptanmadı.

Serum ET-1 ile performans durumu, yaş, cinsiyet, histolojik alt tip, sigara kullanımı, lökositoz, trombositoz, CRP yüksekliği, LDH yüksekliği, albumin düşüklüğü, anemi, ferritin yüksekliği açısından herhangi bir ilişki saptanmadı.

Altmış yedi hastanın 53'ünde (%79.1) progresyon gelişti. Medyan progresyonsuz sağkalım süresi 185 gün, medyan tüm sağkalım süresi ise 281 gün bulundu. Hastaların 1 yıllık ve 2 yıllık sağkalım oranları % 43 ve % 24 idi.

VEGF düzeyi yüksek olan hastalarda medyan progresyonsuz sağkalım süresi 157 gün olup, normal olanlarda medyan progresyonsuz sağkalım süresi 340 güne ulaşmaktaydı. VEGF düzeyi yüksekliği, medyan progresyonsuz sağkalımı istatistiksel olarak anlamlı azaltmaktaydı.

CGRP ve ET-1 düzeyi yüksek olan hastalarda medyan progresyonsuz sağkalım süresi sırasıyla 185 ve 180 gün olup, düşük olanlarda medyan progresyonsuz sağkalım süreleri sırasıyla 197 ve 211 gün bulundu. Ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

VEGF artışı ile progresyonsuz sağkalım süresi istatistiksel olarak anlamlı şekilde kısalıyordu. Performans durumu, ek hastalık varlığı, anemi, lökositoz, trombositoz, CRP, LDH, CGRP ve ET-1 düzeyi, sigara kullanımı açısından medyan progresyonsuz sağkalım sürelerine bakıldığında anlamlı farklılık saptanmadı.

VEGF artışı, albumin düşüklüğü, CRP artışı ve TSH düşüklüğü ile medyan tüm sağkalım süreleri istatistiksel olarak anlamlı azalırken, LDH artışı ile medyan tüm sağkalım süresi azalmakta ancak istatistiksel fark ortaya çıkmamaktaydı. 55 yaş altı ve üstü, histolojik tip, ek hastalık varlığı, performans durumu, anemi, lökositoz, trombositoz, ferritin, CGRP ve ET-1 düzeyi, sigara kullanımı açısından medyan tüm sağkalım sürelerine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

Medyan tüm sağkalım süreleri değerlendirildiğinde VEGF seviyesi düşük olanlarda 472 gün, yüksek olanlarda 180 gün olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi. CGRP düzeyi yüksek olan hastalarda medyan tüm sağkalım süresi 321 günken düşük olan hastalarda medyan tüm sağkalım süresi 276 gün saptandı. Ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Endotelin düzeyi düşük olan hastalarda medyan tüm sağkalım süresi 185 gün olup yüksek olan hastalarda ise 321 gün bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu.

Çok değişkenli analiz ile değerlendirildiğinde; yaşın, cinsiyetin, histolojik tipin, performans durumunun, aneminin, lökositozun, trombositozun, albumin düşüklüğünün, CRP yüksekliğinin, serum ET-1 ve CGRP düzeylerinin progresyonu etkilemediği, ancak ek hastalık varlığının progresyon riskini istatistiksel olarak anlamlı şekilde 6.2 kat arttırdığı, VEGF yüksekliğinin istatistiksel anlamlı farka ulaşmamakla birlikte progresyon riskini 2.9 kat arttırdığı saptandı.

Tüm sağkalımı istatistiksel olarak anlamlı farkla etkileyen faktörler TSH düşüklüğü ve VEGF yüksekliğidir. Tüm sağkalımda azalmayı TSH düşüklüğü 3.7 kat, VEGF yüksekliği ise 8.8 kat etkilemektedir. CRP yüksekliği tüm sağkalımı 3.4 kat azaltmaktayken, bu etkisi istatistiksel olarak anlamlı farka yakındır.



## ÖZET

### **İleri evre küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda serum vasküler endotelial büyüme faktörü, endotelin-1 ve alfa kalsitonin gen ilişkili peptid düzeylerinin anjiyogenez ve prognoz üzerine etkileri**

**Uz. Dr. Serkan Değirmenciöglu**

İleri evre küçük hücreli dışı akciğer kanserinde (KHDAK) parlak olmayan prognoz nedeniyle hastalığın izleminde yeni belirteçlere ve daha etkili tedavi yollarına ihtiyaç vardır. Serum vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) günümüzde tanımlanmış en potent anjiyogenetik faktördür. Serum endotelin-1 (ET-1) ve alfa kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP) de tümör damarlanmasında umut vaad etmektedirler. Çalışmamızın amacı ileri evre KHDAK hastalarında serum VEGF, ET-1, CGRP ve diğer laboratuvar parametrelerinin serum seviyelerinin anjiyogenez ve prognoz üzerine etkilerini değerlendirmektir.

Altmış yedi hasta (62 erkek ve 5 kadın) ile 20 sağlıklı gönüllü (16 erkek ve 4 kadın) çalışmaya dahil edildi. İki grubun demografik, laboratuvar verileri ve serum VEGF, ET-1, CGRP düzeyleri karşılaştırıldı.

Hastaların kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek serum VEGF ( $p=0.000$ ), düşük serum tiroid stimüle edici hormon (TSH), düşük albumin ve hemoglobin düzeyleri vardı (sırasıyla  $p=0.000$ ,  $p=0.014$  ve  $p=0.001$ ). Hasta grubunda lökositoz, trombositoz, yüksek C reaktif peptid (CRP) ve laktat dehidrogenaz seviyeleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla  $p=0.000$ ,  $p=0.000$ ,  $p=0.000$ ,  $p=0.015$ ). İki grubun serum ET-1 ve CGRP seviyeleri arasında fark yoktu (sırasıyla  $p=0.96$  ve  $p=0.54$ ). Serum ET-1 ve klinikopatolojik parametreler arasında ilişki yoktu. Serum CGRP seviyesi ve lökositoz arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulundu ( $p=0.009$ ). Serum VEGF seviyesi ile CRP arasında da istatistiksel anlamlı ilişki vardı ( $p=0.045$ ). Yüksek serum VEGF seviyesi kısa hastalısız sağkalım süresi ile istatistiksel anlamlı ilişkiye

sahipti ( $p=0.05$ ). Yüksek serum VEGF, düşük serum TSH ve albumin seviyeleri kötü tüm sağkalım süresi ile istatistiksel anlamlı ilişkili saptandı (sırasıyla  $p=0.001$ ,  $p=0.03$  ve  $p=0.033$ ).

Sonuç olarak çalışmamız literatürde CGRP ve lökositöz arasındaki istatistiksel anlamlı ilişkiyi gösteren ilk çalışmadır. Çalışmamızda VEGF ve TSH'nin ileri evre KHDAK için prognostik rolleri gösterildi. VEGF, KHDAK tanısında potansiyel bir belirteç olarak kullanılabilir. Fakat VEGF ve TSH seviyelerinin KHDAK tanısındaki ve prognozundaki potansiyel değerlerini ortaya koymak için daha fazla hastayı içeren birçok çalışmaya ihtiyaç vardır.

## SUMMARY

### **Angiogenic and prognostic impacts of vascular endothelial growth factor, endothelin-1 and alpha- calcitonin gene-related peptide serum levels in advanced non-small cell lung cancer patients**

**Dr. Serkan Değirmenciöglu**

Due to a dismal prognosis of advanced non- small cell lung cancer (NSCLC), novel screening tools and more effective treatments are clearly needed. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is the most important angiogenic factor. Endothelin-1 (ET-1) and alpha calcitonin gene related peptides (CGRP) are promising biomarkers for tumor angiogenesis. The aims of our study were to evaluate angiogenic and prognostic impacts of VEGF, ET-1, CGRP and other laboratory parameters' serum levels in advanced NSCLC patients.

Sixty seven patients (62 male, 5 female) and twenty healthy (16 male, 4 female) volunteers were included in this study. Demographical, laboratory data and serum levels of VEGF, ET-1 and CGRP were compared for two groups.

Patients presented significantly higher serum VEGF ( $p=0.000$ ), lower serum thyroid stimulating hormone (TSH), albumin and hemoglobin levels than controls ( $p=0.000$ ,  $p=0.014$  and  $p=0.001$  respectively). Leukocytosis, thrombocytosis, high levels of C reactive peptide (CRP) and lactate dehydrogenase were significant in patients ( $p=0.000$ ,  $p=0.000$ ,  $p=0.000$ ,  $p=0.015$  respectively). Serum levels of ET-1 and CGRP showed no differences between two groups ( $p=0.96$  and  $p=0.54$  respectively). There was no significant relationship between the serum levels of ET-1 and clinicopathological findings. A significant correlation was found between CGRP and leukocytosis ( $p= 0.009$ ). Serum VEGF levels were significantly associated with CRP levels ( $p=0.045$ ). Disease free survival was significantly low in patients with high serum VEGF levels ( $p=0.05$ ). High serum levels of VEGF, low serum levels of

TSH and albumin were associated with poor overall survival ( $p=0.001$ ,  $p=0.03$  and  $p=0.033$  respectively).

In conclusion, our study is the first in the literature that shows statistically significant correlation between CGRP and leukocytosis. In our study we also showed the role of VEGF and TSH in advanced NSCLC prognosis. VEGF may be used as a potential new marker for the diagnosis of NSCLC. Further studies with larger number of patients are recommended to establish the value of VEGF and TSH as potential diagnostic and prognostic markers for advanced NSCLC.

## KAYNAKLAR

1. Schrupp DS, Giaccone G, Kelsey CR, Marks LB. Non-small cell lung cancer. In: DeVita VT, Lawrence TS and Rosenberg SA. eds. DeVita, Hellman and Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology. Eighth Edition. Vol. 1. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2008: 896-946.
2. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et. al. AJCC Cancer Staging Manual. 7th ed. New York: Springer; 2010.
3. Laack E, Köhler A, Kugler C. Pretreatment serum levels of matrix metalloproteinase-9 and vascular endothelial growth factor in non-small cell lung cancer. *Annals of Oncology* 2002;13: 1550-1557.
4. Bhalla A, Haque S, Taylor I. Endothelin receptor antagonism and cancer. *Eur J Clin Invest* 2009;39: 74-77.
5. Toda M, Suzuki T, Hosono K. Neuronal system-dependent facilitation of tumor angiogenesis and tumor growth by calcitonin gene-related peptide. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America (PNAS)* 2008;105: 13550-13555.
6. Kerbel RS, Ellis LM. Angiogenesis. In: DeVita VT, Lawrence TS and Rosenberg SA. eds. DeVita, Hellman and Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology. Eighth Edition. Vol. 1. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2008: 103-116.
7. Bremnes R.M, Camps C, Sirera R. Angiogenesis in non-small cell lung cancer: The prognostic impact of neoangiogenesis and the cytokines VEGF and bFGF in tumours and blood. *Lung Cancer* 2006;51: 143-158.
8. Jemal A, Siegel R, Ward E. Cancer Statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009;59: 225-249.
9. The Health Consequences of Smoking: A Report of the Surgeon General. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, Washington, DC 2010. Available online: [http://www.cdc.gov/tobacco/data\\_statistics/sgr/2010/index.htm](http://www.cdc.gov/tobacco/data_statistics/sgr/2010/index.htm) (Accessed 05/03/11).
10. Denissenko MF, Pao A, Tang M, Pfeifer GP. Preferential formation of benzo(a)pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in p53. *Science* 1996;274: 430.

11. Alberg A J, Samet JM. Epidemiology of Lung Cancer. Chest 2003;123: 21-49.
12. Fishman AP, Elias JA, Fishman JA, Grippi MA, Kaiser LR. Epidemiology of Lung Cancer. In: Senior RM, Postmus PE, Fishman's Pulmonary Disease and Disorders, 3rd Ed. New York: McGraw-Hill, 1998: 1707-1711.
13. Schottenfeld D. Etiology and epidemiology of lung cancer. In: Pass HI, Mitchell JB, Johnson DH, Turrisi AT, Minna JD. Lung Cancer 2nd Ed. Philadelphia: Lippicott Williams&Wilkins, 2000: 367-388.
14. Rom WN. Asbests related lung disease. In: Fishman AP, Elisa JA, Fishman JA, Grippi MA, Kaiser LR, Senior RM. Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders. 3rd Ed. New York: Mc Graw Hill, 1998: 877-891.
15. İtil O. Akciğer Kanserlerinin Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi. Haydaroğlu A. Akciğer Kanserleri Tanı ve Tedavi. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 2000: 15-34.
16. Ernster VL, Mustachhi P, Osann KE. Epidemiology of lung cancer. In: Murray JF, Nadel JA. Textbook of Respiratory Medicine. 2nd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co, 1994: 1504-1527.
17. Ginsberg RJ, Vokes EE, Rosenweig K. Non-small cell lung cancer. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. Cancer Principles and Practice of Oncology, 6th ed. Philadelphia : Lippicott Williams and Wilkins, 2001: 925-983.
18. Hastürk S, Aydılek R. Akciğer Kanseri. Aktüel Tıp Dergisi Solunum Hastalıkları Sayısı 1999;4: 180-186.
19. Ceyhan B. Akciğer Kanseri Epidemiyolojisi. Tüberküloz ve Toraks Dergisi 1999;7(2): 237-239.
20. Van Meerbeck JP, Moro D. Bronchocenic carcinoma. In: Grassi C, Costbel U, Stockley RA, Naeje R, Rodrigez-Roisin R. Pulmonary Disease. New York: McGraw-Hill, 1999: 325-346.
21. Ursavaş A. Akciğer Kanserleri. Özyardımcı N. Akciğer Hastalıkları El Kitabı. Bursa: Uludağ Üniversitesi Basımevi, 2001: 456-492.
22. Jorenby DE, Hays JT, Rigotti NA. Efficacy of varenicline, an alpha4 beta2 nicotinic acetylcholine receptor partial agonist, vs placebo or sustained-release bupropion for smoking cessation: a randomized controlled trial. JAMA 2006;296: 56-63.

23. Finkelstein DM, Ettinger DS, Ruckdeschel JC. Long-term survivors in metastatic non – small - cell lung cancer : an Eastern Cooperative Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 1986; 4: 702-709.
24. Sulu E, Damadoğlu E, Nergiz S. Does tumor type and sex distribution of primary lung cancer change? The comparison of the results of 2004 and previous years. *Tuberk Toraks* 2007;55(1): 59-63.
25. Laye SB, Regnier A, Beauchet A. Expression of endothelin receptor subtypes in bronchial tumors. *Oncology reports* 2010;23: 457-463.
26. Viganò A, Binera E, Jhangri GS. Clinical survival predictors in patients with advanced cancer. *Arch Intern Med* 2000;160: 861–868.
27. Paralkar VR, Li T, Langer CJ. Population characteristics and prognostic factors in metastatic non-small-cell lung cancer: a Fox Chase Cancer Center retrospective. *Clin Lung Cancer* 2008;9: 116-121.
28. Arrieta O, Michel Ortega RM, Villanueva-Rodríguez G. Association of nutritional status and serum albumin levels with development of toxicity in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with paclitaxel-cisplatin chemotherapy: a prospective study. *BMC Cancer* 2010;10: 50.
29. Albain KS, Crowley JJ, Le Blanc M. Survival determinants in extensive-stage non-small cell lung cancer: the Southwest Oncology Group experience. *J Clin Oncol* 1991;9: 1618-1626.
30. Slebos RJ, Kibbelaar RE, Dalesio O. K-ras oncogene activation as a prognostic marker in adenocarcinoma of the lung. *N Engl J Med* 1990;323: 561-565.
31. Horio Y, Takahashi T, Kuroishi T. Prognostic significance of p53 mutations and 3p deletions in primary resected non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 1993;53: 1-4.
32. Tsao MS, Sakurada A, Cutz JC. Erlotinib in lung cancer - molecular and clinical predictors of outcome. *N Engl J Med* 2005;353: 133-144.
33. Sequist LV, Martins RG, Spigel D. First-line gefitinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer harboring somatic EGFR mutations. *J Clin Oncol* 2008;26: 2442-2449.

34. Simon GR, Sharma S, Cantor A. ERCC1 expression is a predictor of survival in resected patients with non-small cell lung cancer. *Chest* 2005;127: 978-983.
35. Olaussen KA, Dunant A, Fouret P. DNA repair by ERCC1 in non-small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med* 2006;355: 983-991.
36. Bepler G, Kusmartseva I, Sharma S. RRM1 modulated in vitro and in vivo efficacy of gemcitabine and platinum in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2006;24: 4731-4737.
37. Tsao MS, Aviel-Ronen S, Ding K. Prognostic and predictive importance of p53 and RAS for adjuvant chemotherapy in non small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2007;25: 5240-5247.
38. Bepler G, Sharma S, Cantor A. RRM1 and PTEN as prognostic parameters for overall and disease-free survival in patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2004;22: 1878-1885.
39. Zheng Z, Chen T, Li X. DNA synthesis and repair genes RRM1 and ERCC1 in lung cancer. *N Engl J Med* 2007;356: 800-808.
40. Bepler G, Li X, Schell M. Predictive value of RRM1 and ERCC1 protein levels in a prospective community-based trial of gemcitabine/carboplatin (GC) vs gemcitabine (G) alone (abstract). *J Clin Oncol* 2008;26 (Suppl 15): Abstract 8033.
41. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004;350: 2129-2139.
42. Paez JG, Janne PA, Lee JC. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004;304: 1497-1500.
43. Miller VA, Riely GJ, Zakowski MF. Molecular characteristics of bronchioloalveolar carcinoma and adenocarcinoma, bronchioloalveolar carcinoma subtype, predict response to erlotinib. *J Clin Oncol* 2008;26: 1472-1478.



44. Slebos RJ, Hruban RH, Dalesio O. Relationship between K- ras oncogene activation and smoking in adenocarcinoma of the human lung. *J Natl Cancer Inst* 1991;83: 1024-1027.

45. Eberhard DA, Johnson BE, Amler LC. Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in patients with non-small-cell lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib. *J Clin Oncol* 2005;23: 5900-5909.

46. Rosell R, Danenberg KD, Alberola V. Ribonucleotide reductase messenger RNA expression and survival in gemcitabine/cisplatin-treated advanced non-small cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res* 2004;10: 1318-1325.

47. Goto I, Yoneda S, Yamamoto M. Prognostic significance of germ line polymorphisms of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 1996;56: 3725-3730.

48. Songür N, Kuru B, Ok U. İleri evre küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sağkalımı etkileyen prognostik faktörler. *Toraks Dergisi* 2005;6: 91-97.

49. Çağlayan B, Fidan A, Salepçi B, Kıral N, Torun E, Salepçi T et al. Effects of prognostik factors and treatment on survival in advanced non-small cell lung cancer. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2004;52: 323-332.

50. Maeda T, Ueoka H, Tabata M, Kiura K, Shibayama T, Gemba K et al. Prognostic factors in advanced non-small cell lung cancer: elevated serum levels of neuron specific enolase indicate poor prognosis. *Jpn J Clin Oncol* 2000;30: 534-541.

51. Diamandis EP, Hoffman BR, Sturgeon CM. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines for the Use of Tumor Markers. *Clin Chem*. 2008 Nov;54(11):1935-9.

52. Ediğer D. Tümör Markırları. Engin K, Özyardımcı N. Akciğer kanserleri tanı ve tedavide temel ilkeler ve uygulamalar. İstanbul: Avrupa Tıp Matbaacılık Yayınları, 2001: 116-124.

53. Buccheri G, Ferrigno D. Identifying patients at early postoperative recurrence of lung cancer: a new use of the old CEA test. *Ann Thorac Surg* 2003;75: 973-80.

54. Tomita M, Matsuzaki, Y, Edagawa M, Shimizu T, Hara M, Onitsuka T. Prognostic significance of preoperative serum carcinoembryonic antigen level in lung adenocarcinoma but not squamous cell carcinoma. *Thorac Cardiovasc Surg* 2004;10: 76-80.
55. Tanaka T, Fujii M, Nishikawa A, Bunai Y, Obayashi F, Sugie S et al. A cytochemical study of lactat dehydrogenase (LHD) isoenzymes in lung cancer. *Cancer Detect Prev* 1984;7: 65-71.
56. Sagman U, Feld R, Evans WK, Warr D, Sherherd FA, Payne D, Pringle J et al. The prognostic significance of pretreatment serum lactate dehydrogenase in patients with small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1991;9: 954-961.
57. Stokkel MPM, van Eck-Smitt BLF, Zwinderman AH, Willems LNA, Pauwels EKJ. Pretreatment serum LDH as additional staging parameter in small-cell lung carcinoma. *Netherlands Journal of Medicine* 1998;52: 65-70.
58. Gerwins P, Sköldenberg E, Claesson-Welsh L. Function of fibroblast factors and vascular endothelial growth factors and their receptors in angiogenesis. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2000;34: 185-194.
59. Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol* 2002;20: 4368-4380.
60. Knight LJ, Burrage J, Bujac SR. Epigenetic silencing of the endothelin-B receptor gene in non-small cell lung cancer. *International Journal of Oncology* 2009;34: 465-471.
61. Rossi GP, Colonna S, Pavan E. Endothelin-1 and its mRNA in the wall layers of human arteries at vivo. *Circulation* 1999;99: 1147-1155.
62. Zhang WM, Zhou J, Ye QJ. Endothelin-1 enhances proliferation of lung cancer cells by increasing intracellular free Ca<sup>2+</sup>. *Life Sciences* 2008;82: 764-771.
63. Bagnato A, Spinella F. Emerging role of endothelin-1 in tumor angiogenesis. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2002;14: 44-50.
64. Bednarczyk EM, Remler B, Weikart C. Global cerebral blood flow, blood volume, and oxygen metabolism in patients with migraine headache. *Neurology*. 1998;50: 1736-1740.
65. Midi İ, Avşar N. *Klinik Gelişim Dergisi*. 2007; 381-385.

66. Lauweryns JM, Ranst LV. Calcitonin gene related peptide immunoreactivity in rat lung: light and electron microscopic study. *Thorax* 1987;42: 183-189.
67. Edvinsson L. Calcitonin gene-related peptide (cgrp) and the pathophysiology of headache: therapeutic implications. *CNS Drugs*. 2001;15: 745–753.
68. Brain SD, Grant AD. Vascular Actions of Calcitonin Gene-Related Peptide and Adrenomedullin. *Physiol Rev*. 2004;84: 903-934.
69. Onuoha GN, Alpar K. Calcitonin gene-related peptide and other neuropeptides in the plasma of patients with soft tissue injury. *Life Sciences* 1999;65(13): 1351-58.
70. Onuoha GN, Alpar EK. Elevation of plasma CGRP and SP levels in orthopedic patients with fracture neck of femur. *Neuropeptides* 2000;34(2): 116–120.
71. Yallampalli C, Chauhan M, Thota CS, Kondapaka S, Wimalawansa SJ. Calcitonin gene-related peptide in pregnancy and its emerging receptor heterogeneity. *Trends Endocrinol Metab*. 2002;13(6): 263-9.
72. Glare P, Sinclair C, Downing M, Stone P, Maltoni M, Vigano A. Predicting survival in patients with advanced disease. *Eur J Cancer* 2008;44: 1146–1156.
73. Sasco AJ, Secretan MB, Straif K. Tobacco smoking and cancer: a brief review of recent epidemiological evidence. *Lung cancer* 2004;45: 53-59.
74. Yaren A, İlhan Ö. Küçük Hücreli Dışı Akciger Kanserinde Prognostik Faktörler. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2007;27: 72-78.
75. Buccheri G, Ferrigno D. Prognostic factors in non-small cell lung cancer. *Hematol Oncol Clin N Am* 2004;18: 187-201.
76. Hiraki A, Ueoka H, Takata L. Hypercalcemia-leukocytosis syndrome associated with lung cancer. *Lung Cancer* 2004;43: 301-307.
77. Luque GM., Millan MIP, Ornstein AM. Inhibitory effects of anti-VEGF strategies in experimental dopamine resistant prolactinomas. *JPET (Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics)* 2011;DOI: 10. 1124 / JPET . 110. 177790.

78. Aoe K, Hiraki A, Maeda T, Katayama H, Fujiwara K, Tabata M et al. Serum hemoglobin level determined at the first presentation is a poor prognostic indicator in patients with lung cancer. *Intern Med* 2005;44(8): 800-804.
79. Dunst J, Becker A, Lautenschlager C. Anemia and elevated systemic levels of vascular endothelial growth factor (VEGF). *Strahlenther Onkol.* 2002;178: 436-441.
80. Aoe K, Hiraki A, Ueoka H. Thrombocytosis as useful prognostic indicator in patients with lung cancer. *Respiration* 2004;71: 170-173.
81. Kasprzyk M, Dyszkiewicz W, Zwarun D. Assessment of acute phase proteins as prognostic factors in patients surgically treated for non-small cell lung cancer. *Pol Pneumonol Allergol* 2008;76: 321-326.
82. McKeown DJ, Brown DJ, Kelly A, Wallace AM, McMillan DC. The relationship between circulating concentrations of C-reactive protein, inflammatory cytokines and cytokine receptors in patients with non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 2004;91: 1993–1995.
83. Kasymjanova G, MacDonald N, Agulnik JS. The predictive value of pre-treatment inflammatory markers in advanced non-small-cell lung cancer. *Current Oncolog* 2010;17: 52-58.
84. Kemik Ö, Sümer A, Kemik AS. The relationship among acute-phase response proteins, cytokines and hormones in cachectic patients with colon cancer. *World Journal of Surgical Oncology* 2010;8: 85.
85. Kwon KA, Kim SH, Oh SY. Clinical significance of preoperative serum vascular endothelial growth factor, interleukin-6 and C-reactive protein level in colorectal cancer. *BMC Cancer* 2010;10: 203.
86. McMillan DC. An inflammation- based prognostic score and its role in nutrition-based management of patients with cancer. *Proceedings of the Nutrition Society* 2008;67: 257-262.

87. Forrest LM, McMillan DC, McArdle CS. Evaluation of cumulative prognostic scores based on the systemic inflammatory response in patients with inoperable non-small cell lung cancer. *British Journal of Cancer* 2003;89: 1028-1030.
88. Kinoshita Y, Kasaoka S, Fujita M. Growth Factor During the Clinical Course of Chronic Systemic Capillary Leak Syndrome. *Inter Med* 2010;49: 791-794.
89. Hercbergs A. The thyroid gland as an intrinsic biologic response modifier in advanced neoplasia—a novel paradigm. *In Vivo* 1996;10: 245–247.
90. Hellevik AI, Asvold BO, Bjoro T. Thyroid Function and Cancer Risk: A Prospective Population Study. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2009;18: 570-574.
91. Cristofanilli M, Yamamura Y, Kau SW. Thyroid hormone and breast carcinoma. Primary hypothyroidism is associated with a reduced incidence of primary breast carcinoma. *Cancer* 2005;103: 1122 – 1128.
92. Shirahama T, Ashitani J, Kodama T, Kyoraku Y, Sano A, Matsumoto N et al. A case of lung cancer with hyperthyroidism. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi* 2008;46(4): 308-313.
93. Miyakawa M, Sato K, Hasegawa M, Nagai A, Sawada T, Tsushima T et al. Severe thyrotoxicosis induced by thyroid metastasis of lung adenocarcinoma: a case report and review of the literature. *Thyroid.* 2001;11(9): 883-8.
94. Tosovic A, Bondeson AG, Bondeson L, Ericsson UB, Malm J, Manjer J. Prospectively measured triiodothyronine levels are positively associated with breast cancer risk in postmenopausal women. *Breast Cancer Res* 2010;12(3): 33.
95. Turken O, Narin Y, Demirbas S, Onde ME, Sayan O, Kandemir EG et al. Breast cancer in association with thyroid disorders. *Breast Cancer Res* 2003;5: 110-113.
96. Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E, Bougioukas G, Didilis V, Gatter KC, Haris AL. Lactate dehydrogenase-5 (LDH-5) overexpression in non-small-cell lung cancer tissues is linked to tumour hypoxia, angiogenic factor production and poor prognosis. *British Journal of Cancer* 2003;89: 877 – 885.

97. Van Zandwijk N, Jassem E, Bonfrer JM, Mooi WJ, van Tinteren H. Serum neuron-specific enolase and lactate dehydrogenase as predictors of response to chemotherapy and survival in non-small cell lung cancer. *Semin Oncol.* 1992;19: 37-43.
98. Turna A, Solak O, Çetinkaya E, Kılıçgün A, Metin M, Sayar A, Gürses A. Lactate dehydrogenase levels predict pulmonary morbidity after lung resection for non-small cell lung cancer. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 2004;26: 483–487.
99. Tas F, Duranyıldız D, Çamlıca H. Serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and bcl-2 levels in advanced stage non-small cell lung cancer. *Cancer Invest* 2006;24: 576-580.
100. Dudek AZ, Mahaseth H. Circulating angiogenic cytokines in patients with advanced non-small lung cancer: correlation with treatment response and survival. *Cancer Invest* 2005;23: 193-200.
101. Delmotte P, Martin B, Paesmans M. VEGF and survival of patients with lung cancer: a systematic literature review and meta-analysis. *Rev Mal Respir* 2002;19: 577—584.
102. Fontanini G, Vignati S, Bodrini L. Vascular endothelial growth factor is associated with neovascularization and influence progression of non-small cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res* 1997;3: 861-865.
103. Yuan A, Yu CJ, Chen WJ. Correlation of total VEGF mRNA and protein expression with histologic type, tumor angiogenesis, patient survival and timing of relapse in non-small cell lung cancer. *Int J Cancer (Pred. Oncol.)* 2000;89: 475-483.
104. Gasparini G, Toi M, Gion M, Verderio P, Dittadi R, Hanatani M et al. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein in node-negative breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1997;89(2): 139-47.
105. Linderholm B, Grankvist K, Wilking N, Johansson M, Tavelin B, Henriksson R. Correlation of vascular endothelial growth factor content with

recurrences, survival, and first relapse site in primary node-positive breast carcinoma after adjuvant treatment. *J Clin Oncol* 2000;18(7): 1423-1431.

106. Foekens JA, Peters HA, Grebenchtchikov N, Look MP, Meijer-van Gelder ME, Geurts-Moespot A et al. High tumor levels of vascular endothelial growth factor predict poor response to systemic therapy in advanced breast cancer. *Cancer Res.* 2001;61(14): 5407-5414.

107. Kumar S, Guleria R, Singh V. Efficacy of plasma vascular endothelial growth factor in monitoring first-line chemotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer. *BMC Cancer* 2009;9: 421.

108. Kido Y. Vascular endothelial growth factor (VEGF) serum concentration changes during chemotherapy in patients with lung cancer. *Kurume Med J* 2001;48: 43-47.

109. Mihaylova Zh, Ludovini V, Gregorg V, Floriani I, Pistola L, Toffaneti F et al. Serum level changes of matrix metalloproteinases 2 and 9, vascular endothelial growth factor and epidermal growth factor receptor during platinum-based chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer patients. *J BUON* 2007;12: 105-111.

110. Colakogullari M, Ulukaya E, Yilmaztepe A, Ocakoglu G, Yilmaz M, Karadag M et al. Higher serum nitrate levels are associated with poor survival in lung cancer patients. *Clin Biochem* 2006;39: 898-903.

111. Yoshimoto A, Kasahara K, Nishio M, Hourai T, Sone T, Kimura H et al. Changes in angiogenic growth factor levels after gefitinib treatment in non-small cell lung cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2005;35: 233-238.

112. Yıldırım Y, Günel N, Coşkun U. Serum big endothelin-1 levels in female patients with breast cancer. *International Immunopharmacology* 2008;8: 1119-1123.

113. Arun C, DeCatris M, Hemingway DM. Endothelin-1 is a novel prognostic factors in non-small cell lung cancer. *The International Journal of Biological Markers* 2004;19: 262-267.

114. Wülfing P, Diallo R, Kersting C, Wülfing C, Poremba C, Rody A et al. Expression of endothelin-1, endothelin-A, and endothelin-B receptor in human breast cancer and correlation with long-term follow-up. *Clin Cancer Res* 2003;9(11): 4125-4131.
115. Kojima K, Nihei Z. Expression of endothelin-1 immunoreactivity in breast cancer. *Surg Oncol* 1995;4(6): 309-315.
116. Abdel-Gawad IA, Hassanein HM, Bahgat NA, Abdel Sattar MA, El-Sissy AH, Altaweel MA et al. Study of endothelin-1 and vascular endothelial growth factor in patients with cancer colon. *J Egypt Natl Canc Inst* 2008;20(3): 216-223.
117. Kandalaft LE, Facciabene A, Buckanovich RJ. Endothelin B Receptor, a New Target in Cancer Immune Therapy. *Clin Cancer Res* 2009;15: 4521-4528.
118. Boldrini L, Gisfredi S, Ursino S. Expression of endothelin-1 is related to poor prognosis in non-small cell lung carcinoma. *European Journal of Cancer* 2005;41: 2828-2835.
119. Schifter S, Johannsen L, Bunker C, Brickell P, Bork E, Lindeberg H et al. Calcitonin gene-related peptide in small cell lung carcinomas. *Clin Endocrinol* 1993;39(1): 59-65.
120. Papantoniou V, Tsiouris S, Sotiropoulou M. The Potential Role of Calcitonin Gene related Peptide (CGRP) in Breast Carcinogenesis and Its Correlation with Tc-99m (V) DMSA Scintimammography. *Am J Clin Oncol* 2007;30: 420-427.
121. Suzuki K, Kobayashi Y, Morita T. Serum calcitonin gene-related peptide levels in untreated prostate cancer patients. *International Journal of Urology* 2006;13: 781-784.
122. Kelly K, Huang C. Biological Agents in Non-Small Cell Lung Cancer: A Review of Recent Advances and Clinical Results with a Focus on Epidermal Growth Factor Receptor and Vascular Endothelial Growth Factor. *Journal of Thoracic Oncology*. 2008;3: 664-673.



123. Okamoto T, Maruyama R, Shoji F. Long-term survivors in stage IV non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2005;47: 85-91.

124. Bozzetti F, Mariani L. Defining and classifying cancer cachexia: a proposal by the Scrino Working Group. *J Parenter Enteral Nutr* 2009;33: 361-367.

125. Douillard JY, Shepherd FA, Hirsh V, Mok T, Socinski MA, Gervais R et al. Molecular predictors of outcome with gefitinib and docetaxel in previously treated non-small-cell lung cancer: data from the randomized phase III INTEREST trial. *J Clin Oncol* 2010 Feb 10;28(5):744-52.

126. Ramalingam SS, Dahlberg SE, Langer CJ. Outcomes for elderly, advanced-stage non-small-cell lung cancer patients treated with bevacizumab in combination with carboplatin and paclitaxel: analysis of eastern cooperative oncology group trial 4599. *J Clin Oncol* 2008;26: 60–65.