



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

METASTATİK KÜÇÜK HÜCRE DİŞİ AKCİĞER KANSERLİ HASTALARIN
İKİNCİ BASAMAK TEDAVİSİNDE TÜMÖR MİKRODAMAR
YOĞUNLUĞUNUN TEDAVİ YANITINA ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ
DR. EMİR ÇERME

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ZEYNEP HANDE TURNA

İSTANBUL - 2021

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**METASTATİK KÜÇÜK HÜCRE DİŞİ AKCİĞER KANSERLİ HASTALARIN
İKİNCİ BASAMAK TEDAVİSİNDE TÜMÖR MİKRODAMAR
YOĞUNLUĞUNUN TEDAVİ YANITINA ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. EMİR ÇERME

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ZEYNEP HANDE TURNA

İSTANBUL - 2021

ÖNSÖZ

İç Hastalıkları uzmanlık tezime olan desteklerinden ötürü İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hulusi Fuat Demirelli'ye,

Tezin ortaya çıkmasında en az benim kadar emeği olan Uz. Dr. Cansu Yol, Uz. Öğr. Üyesi. Şebnem Batur ve Prof. Dr. Ayşim Büge Öz'e,

Teze olan katkıları ve bize öğrenciyken neden ve nasıl bilim yapmamız gerektiğini öğrettiği için Prof. Dr. Akif Turna'ya,

İnsanlık, etik ve iş ahlakı anlamında her zaman kendime örnek alacağım sayın tez hocam Doç. Dr. Zeynep Hande Turna'ya,

Bana her zaman destek olan başta sevgili eşim Dr. Melis Dila Özer Çerme olmak üzere tüm aileme,

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nin tarihsel konumunun farkında olup burayı bilim ve aydınlanma anlamında öncü kurum haline getirmek için emek vermiş olan tüm hocalarıma en içten teşekkürlerimle...

SİMGE VE KISALTMALAR.....	i
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ETİK KURUL ONAYI.....	viii
DESTEK BİLDİRİMİ.....	ix
ÖZET (TÜRKÇE).....	x
ÖZET (İNGİLİZCE).....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri.....	3
2.1.1 KHDak'de Evrelere Göre Tedavi.....	8
2.1.2 Metastatik KHDak Tedavisi.....	9
2.2 Tümör Anjiyogenezi ve Mikroçevre Kavramı.....	11
2.2.1 Anjiyogenezi ve Büyüme Faktörleri.....	13
2.2.2 Anjiyogenezi ve Hipoksi.....	13
2.2.3 Anjiyogenezi ve İmmün Sistem.....	14
2.3 Tümör Kaçış Mekanizmaları ve İmmünoterapiler.....	16
2.4 İmmün Sistemin Kontrol Noktası İnhibitörleri.....	18
2.5 Dokuda Anjiyogenezinin Belirlenmesi ve Anjiyogenezi Paterni.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
3.1 İstatistiksel Analiz.....	23
4. BULGULAR.....	24
5. TARTIŞMA.....	45
6. SONUÇ.....	49
7. KAYNAKLAR.....	50
8. ÖZGEÇMİŞ.....	58
9. İNTİHAL RAPORU.....	59

SİMGE VE KISALTMALAR

ALK: Anaplastic lymphoma kinase (Anaplastik Lenfoma Kinaz)

ANG: Angiogenic (Anjiyogenik)

ANG1: Angiopoetin 1 (Anjiyopoetin 1)

ANG-ALV: Angiogenic-Alveolar (Anjiyogenik-Alveoler)

ANJ: Anjiyogenik

ANJ-ALV: Anjiyogenik-Alveoler

ATP: Adenozin trifosfat

BRAF: B-Raf Proto-Oncogene (B-Raf Proto-Onkojen)

BT: Bilgisayarlı Tomografi

CCL2: C-C Motif Chemokine Ligand 2 (C-C Motif Kemokin Ligand 2)

CCL5: C-C Motif Chemokine Ligand 5 (C-C Motif Kemokin Ligand 5)

CDH5: Vascular endothelial cadherin (Vasküler Endotelyal Kaderin)

CTLA-4: Cytotoxic T Lymphocyte Antigen-4 (Sitotoksik T Lenfosit Antijen-4)

CXCL5: C-X-C Motif Chemokine Ligand 5 (C-X-C Motif Kemokin Ligand 5)

CXCR3: C-X-C Motif Chemokine Receptor 3 (C-X-C Motif Kemokin Reseptör 3)

EGFR: Epidermal Growth Factor Reseptor (Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü)

FDG-PET: Fluorodeoxyglucose- Positron Emission Tomography (Florodeoksiglukoz Pozitron Emisyon Tomografisi)

FGF: Fibroblast Growth Factor (Fibroblast Büyüme Faktörü)

FLT-1: Fms Related Receptor Tyrosine Kinase 1 (Fms İlişkili Reseptör Tirozin Kinaz 1)

G-CSF: Granulocyte Colony-Stimulating Factors (Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör)

GSK: Genel Sağ Kalım

H&E : Hemotoksilen Eozin

HIF: Hypoxia-Inducible Factor (Hipoksi indüklenebilir Faktör)

HMGB1: High Mobility Group Protein 1 (Yüksek Mobilite Grup Protein 1)

ICAM: Intercellular adhesion molecule-1 (İnterselüler adezyon molekülü 1)

IDO: İndolamin 2-3 Dioksijenaz

IL-13: İnterlökin-13

IL-17: İnterlökin-17

IL-22: İnterlökin-22

IL-5: İnterlökin-5

IL-8: İnterlökin-8

ILC: Innate lymphoid cells (Doğal Lenfosit Hücreler)

ILC-1: Innate lymphoid cells-1 (Doğal Lenfosit Hücreler-1)

ILC-2: Innate lymphoid cells-2 (Doğal Lenfosit Hücreler-2)

ILC-3: Innate lymphoid cells-3 (Doğal Lenfosit Hücreler-3)

İHK: İmmünohistokimya

KHDAK: Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri

LAG-3: Lenfosit-aktivasyon gen 3 protein

MDSC: Myeloid Derive Supresör Hücre

MDY: Mikrodamar yoğunluğu

MHC-I: Major histocompatibility complex I (Majör Histokompabilite Kompleks I)

NET: Nötrofil Ekstraselüler Tuzak

NK: Doğal Öldürücü Hücre

NSCLC: Non small cell lung cancer (Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri)

OS: Overall Survival (Genel Sağ Kalım)

PD1: Progressive Death Reseptor 1 (Progresif Ölüm Reseptörü 1)

PDGF: Platelet Derived Growth Factor (Platelet Derive Büyüme Faktörü)

PD-L1: Progressive Death Reseptor Ligand 1 (Progresif Ölüm Reseptör Ligandı 1)

PD-L2: Progressive Death Reseptor Ligand 2 (Progresif Ölüm Reseptör Ligandı 2)

PFS: Progression Free Survival (Progresyonsuz Sağ Kalım)

PHD2: Prolyl Hydroxylase Domain Protein 2 (Prolil Hidroksilaz Domain Protein 2)

PIGF: Placental Growth Factor (Plasental Büyüme Faktörü)

PSK: Progresyonsuz Sağ Kalım

RECIST: Response Evaluation Criteria in Solid Tumours (Solid Tümörlerde Yanıt Belirleme Kriterleri)

ROC: Receiving Operating Curves

ROS1: ROS proto-oncogene 1 (ROS proto-onkojen 1)

STAT3: Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (Transkripsiyon 3'ün Sinyal Dönüştürücü ve Aktivatörü)

TGF-Beta: Transforming Growth Factor Beta (Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta)

TIGIT: T cell immunoreceptor with ig and immunoreceptor tyrosine based inhibitory motif (T hücre tirozin bazlı inhibitör motif immünoresptör ve immünoglobülin içeren immünoresptör)

TIM-3: T cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein 3 (T hücre immünglobülin ve müsin içeren domain-3)

TİM: Tümör İlişkili Makrofaj

TİN: Tümör İlişkili Nötrofil

TKI: Tirozin Kinaz İnhibitörü

TNF-alfa: Tumor necrosis factor alpha (Tümör Nekroz Faktör Alfa)

TNM: Tümör-Nod-Metastaz

Treg: Regulator T lenfosit

VCAM-1: Vascular cell adhesion molecule-1 (Vasküler Hücre Adezyon Molekülü 1)

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü)

vWF: Von Willebrand Factor (Von Willebrand Faktör)



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1. Lobektomi Materyalinde Mikrodamar Görünümü, Anjiyogenik Patern X200	26
Şekil 2. Lobektomi Materyali MDY Anjiyogenik-Alveolar Patern X200.....	27
Şekil 3. Lobektomi Materyali Mikrodamar Görünümü X100.....	28
Şekil 4. Akciğer Dışı Dokuda Anjiyogenik-Alveolar Patern X200.....	28
Şekil 5. Güçlü %PD-L1 Eksprese Eden Bir Olgu X200.....	29
Şekil 6. Düşük %PD-L1 Eksprese Eden Bir Olgu X200.....	29
Şekil 7. Tüm Olgular Genel Sağ Kalım.....	30
Şekil 8. Tüm Olgular Progresyonsuz Sağ Kalım.....	30
Şekil 9. MDY ≤ 15 ile >15 olan hastaların progresyonsuz sağ kalımlarının Kaplan-Meier eğrisi (Kırmızı Çizgi: MDY > 15 , Yeşil Çizgi: MDY ≤ 15).....	32
Şekil 10. MDY ≤ 15 ile >15 olan hastaların genel sağ kalım eğrisi (Kırmızı Çizgi: MDY > 15 , Yeşil Çizgi: MDY ≤ 15).....	33
Şekil 11. MDY paternine göre progresyonsuz sağ kalım analizi (Mavi Çizgi:Anjiyogenik, Kırmızı Çizgi: Anjiyogenik-Alveolar).....	34
Şekil 12. MDY Paternine Göre Genel Sağ Kalım Analizi (Mavi Çizgi:Anjiyogenik, Kırmızı Çizgi: Anjiyogenik-Alveolar).....	34
Şekil 13. Genel Tedavi Yanıtı ile MDY İlişkisi ROC Analizi.....	36
Şekil 14. İmmünoterapi Yanıtı ile MDY İlişkisi ROC Analizi.....	36
Şekil 15. İmmünoterapi grubunda MDY İle Genel Sağ Kalım İlişkisi (Kırmızı Çizgi: MDY > 15 , Mavi Çizgi: MDY ≤ 15).....	37
Şekil 16. İmmünoterapi Grubunda MDY İle Progresyonsuz Sağ Kalım İlişkisi (Kırmızı Çizgi: MDY > 15 , Mavi Çizgi: MDY ≤ 15).....	38

Şekil 17. Tedavi Tiplerine Göre Progresyonsuz Sağ Kalım (Mavi Çizgi: Kemoterapi, Kırmızı Çizgi: İmmünoterapi).....	39
Şekil 18. Tedavi Tiplerine Göre Genel Sağ Kalım (Mavi Çizgi: Kemoterapi, Kırmızı Çizgi: İmmünoterapi).....	39
Şekil 19. Histolojik Tipe Göre Genel Sağ Kalım.....	40
Şekil 20. Histolojik Tipe Göre Progresyonsuz Sağ Kalım (Mavi Çizgi: Adenokanser, Kırmızı Çizgi: Skumöz Hücreli Karsinom).....	41
Şekil 21. İmmünoterapi alanlarda histolojik tip Genel Sağ Kalım ilişkisi (Mavi Çizgi: Adenokarsinom Kırmızı Çizgi: Skumöz Hücreli Karsinom).....	42
Şekil 22. İmmünoterapi alanlarda histolojik tip Progresyonsuz Sağ Kalım (Mavi Çizgi: Adenokanser, Kırmızı Çizgi: Skumöz Hücreli Karsinom).....	42
Şekil 23. KT grubunda histolojik tipe göre Progresyonsuz Sağ Kalım (Mavi Çizgi: Adenokarsinom, Kırmızı Çizgi: Skumöz Hücreli Karsinom).....	43
Şekil 24. KT Grubunda Histolojik Tipe Göre Genel Sağ Kalım (Mavi Çizgi: Adenokarsinom, Kırmızı Çizgi: Skumöz Hücreli Karsinom).....	43
Şekil 25. İmmünoterapi Grubunda %PD-L1 Düzeyinin GSK ilişkisi (Kırmızı Çizgi: PD-L1% ≥ 1 , Mavi Çizgi: PD-L1% <1).....	44
Şekil 26. İmmünoterapi Grubunda %PD-L1 Düzeyinin PSK ile ilişkisi (Kırmızı Çizgi: PD-L1% ≥ 1 , Mavi Çizgi: PD-L1% <1).....	44

TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1. KHDak TNM Evreleme.....7

Tablo 2. Hastaların Demografik Özellikleri, Tümör Histolojileri
ve Biyopsi Yerleri24

Tablo 3. Olguların Metastatik Durumları.....25

Tablo 4. Anjiyogenezis Skoru, Anjiyogenezis Paterni, PD-L1% Düzeyi ve Tedavi
Rejimi.....26

Tablo 5. Genel Tedavi Grubunda Alt Gruplara Göre GSK ve PSK Süreleri.....31

Tablo 6. İmmünoterapi Kolunda Alt Gruplara Göre GSK ve PSK Süreleri.....31

Tablo 7. Her İki Terapi Kolunda Tedavi Yanıtı Değerlendirmesi.....35

ETİK KURUL ONAYI

Çalışmamız ile ilgili 17.01.2020 tarihli 89403766-604.01.02-9846 sayılı etik kurul başvurusuna Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 4 Şubat 2020 tarihinde etik açıdan uygunluk onayı verilmiştir.



FİNANSAL DESTEK BİLDİRİMİ

Bu tez çalışması İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince 34995 proje numarası ile finansal açıdan desteklenmiştir.



ÖZET

METASTATİK KÜÇÜK HÜCRE DİŞİ AKCİĞER KANSERLİ HASTALARIN İKİNCİ BASAMAK TEDAVİSİNDE TÜMÖR MİKRODAMAR YOĞUNLUĞUNUN TEDAVİ YANITINA ETKİSİ

Amaç: Çalışmanın amacı metastatik KHDAK’de tümör mikrodamar yoğunluğunun (MDY) ikinci basamak tedavide kullanılan immünoterapi ve kemoterapi yanıtına etkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: 2012-2021 yılları arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Onkoloji Bilim Dalı’nda takibi olan metastatik KHDAK tanılı ve tümör materyali incelemeye uygun olan 49 olgu çalışmaya dahil edildi. MDY CD34 antikoru kullanılarak ilgili patoloji uzmanı tarafından değerlendirildi. Yoğun boyanan alanlarda bütün mikrodamarlar sayıldı ve mikrodamar paternleri anjiyogenik(ANJ) ve anjiyogenik-alveoler(ANJ-ALV) olarak sınıflandırıldı. MDY sınır değeri olarak olguların ortalama değeri belirlendi. Preparatlar PD-L1 ekspresyonu yönünden değerlendirildi. İstatistiksel analizler için SPSS 25.0 (for machintosh-IBM USA) kullanıldı. MDY’nin tedavi yanıtına etkisi ROC(receiving operating curves) analiziyle; MDY, PD-L1 ekspresyonu, histolojik alt tipin olguların genel sağ kalım(GSK) ve progresyonsuz sağ kalım(PSK) sürelerine etkisi Kaplan-Meier Analizi ve log-rank testiyle hesaplandı.

Bulgular: Hastaların 26’sının tümör histolojik tipi adenokarsinom, 19’unun skuamöz hücreli karsinomdu. İkinci basamak tedavide olguların 26’sı immünoterapi, 23’ü kemoterapi almıştı. MDY ortalama değeri 15 olarak hesaplandı. Tüm olgularda MDY paternine göre medyan PSK ve medyan GSK süresinin ANJ grubunda ANJ-ALV olanlara göre daha iyi olduğu saptanmıştır. İmmünoterapi kolunda MDY > 15 olan grubun medyan GSK ve PSK’nin ≤ 15 olan gruba göre daha iyi olduğu gözlenmiştir. İmmünoterapi alan grupta adenokanser olgular skuamöz hücreli karsinom olanlara göre anlamlı derecede daha iyi GSK ve PSK süresine sahiptir. PD-L1% oranı immünoterapi yanıtında anlamlı bir ölçüt olarak bulunmamıştır.

Sonuç: Metastatik KHDAK’de MDY lm ve MDY paterninin belirlenmesi ikinci basamak immünoterapi yanıtını öngörmede yararlı olabilir.

Anahtar Sözcükler: Akciğer kanseri, anjiyogenezis, immünoterapi, mikrodamar yoğunluğ, tümör mikroevresi



ABSTRACT

IMPACTS OF TUMOR MICROVESSEL DENSITY ON SECOND LINE TREATMENT RESPONSE IN METASTATIC NON SMALL CELL LUNG CANCER PATIENTS

Aim: Aim of study is to investigate impacts of microvessel density (MVD) on second line chemotherapy and immunotherapy response in metastatic non small cell lung cancer(NSCLC).

Material and Methods: 49 patients, with a diagnosis of metastatic NSCLC in Cerrahpasa Faculty of Medicine Medical Oncology Department since 2012 and whose tumor materials were appropriate, were included. MVD was evaluated by using anti-CD34 antibody by an expert pathologist. All the hot spots were counted and MVD patterns were classified as angiogenic(ANG) and angiogenic-alveolar(ANG-ALV). MVD mean value was calculated. Specimens were also analyzed for %PD-L1 expression. SPSS 25.0(for machintosh-IBM USA) was used for statistical analysis. To demonstrate impacts of MVD in treatment response, ROC(receiving opperating curves) analysis was used. Effects of histologic subtype, %PD-L1 expression and MVD on overall survival(OS) and progression free survival(PFS) were estimated by Kaplan-Meier curves and long-rank test.

Results: 26 patients had adenocarcinoma, 19 patients had squamous cell carcinoma. Among 49 patients; 26 of them received immunotherapy and 23 had received chemotherapy. Mean MVD was 15 and cases were classified according to mean value. Based on MVD pattern; ANG group had better median OS and median PFS than ANG-ALV. Among immunotherapy receiving patients, those with MVD>15 had better OS and PFS than those with MVD≤15. Patients with adenocarcinoma had better response to immunotherapy, PFS and OS than squamous cell. No correlation was found between %PD-L1 expression and immunotherapy response.

Conclusion: MVD count and MVD pattern may be useful in predicting second line immunotherapy response in metastatic NSCLC.

Key Words: Angiogenesis, immunotherapy, lung cancer, microvessel density, tumor microenvironment

GİRİŞ

Akciğer kanseri, kansere bağlı ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır [1]. Genellikle ileri evrede teşhis edildiği için küratif cerrahi tedavilerin uygulanamadığı hastalarda kullanılan sistemik kemoterapiler kısıtlı etkileri ve toksisitelerinin fazla olması nedeniyle yüz güldürücü sonuçlar sağlayamamaktadır. Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri(KHDAK)'nin bir alt histolojik tipi olan adenokarsinomlarda ve sigara ilişkisi daha az olan akciğer kanserlerinde daha yüksek oranda saptanan onkojenik sürücü mutasyonlara (EGFR, ALK, ROS, BRAF...) karşı geliştirilmiş olan tirozin kinaz inhibitörleri ile daha olumlu sonuçlar elde edilmektedir [2]. Ancak bu spesifik genetik değişiklikleri içeren olgu sayısı oldukça sınırlıdır [3]. İmmün sistemin kontrol noktalarından olan PD-1 ve ligandı PD-L1' e karşı geliştirilen monoklonal antikorlar Nivolumab, Pembrolizumab ve Atezolizumab metastatik KHDAK'nin birinci ve ikinci basamak tedavisinde standart kemoterapiye göre sağ kalım yararı sağlamıştır [4-7]. İmmünoterapilerin yüksek maliyetleri, hastalardaki yanıt düzeylerinin aynı olmaması ve hayatı tehdit edici olabilen otoimmün yan etkileri nedeniyle tedavi yanıtını öngördürücü ölçütlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Tümör mikroçevresindeki dinamik değişiklikler ve tümöral kaçış mekanizmalarının immünoterapi yanıtı üzerine etkisi olduğuna dair görüşler mevcuttur [8]. Tümör mikroçevresindeki bu değişikliklerden biri de anjiyogenezistir. Anjiyogenezis tümör dokusunun metastaz yeteneği kazanmasında önemli bir basamaktır [9]. Bunun yanında anjiyogenezis tümöral immünite ile yakından ilişkilidir. Artmış anjiyogenezis sonucu oluşan inflamasyon immün sistem hücrelerini tümör dokusuna çekerken tümör dokusundaki immün hücrelerin salgıladığı sitokinler anjiyogenezisin artışına neden olur [10].

Artmış anjiyogenezisi göstermede VEGF ölçümü dışında kullanılan yöntemlerden biri de tümör mikrodamar yoğunluğu ölçümüdür.

Erken evre KHDAK'de küratif operasyon sonrası tümör dokusunda anjiyogenezis ile mikrodamar yoğunluğu ölçümü değerlendirilmiş ve artmış mikrodamar yoğunluğunun kötü prognostik değeri olduğu gösterilmiştir [11-16].

Mikrodamar yoğunluğunu belirlemede kullanılmış başlıca immünohistokimya (İHK) antikorları CD34, CD31, FVIII ve vWF'dir. Hangi antikorun daha sensitif olduğu ile ilgili net bir konsensüs oluşturulamamıştır.

Anjiyogenezis ve mikrodamar yoğunluğunun prognostik önemi gösterilmesine karşın immünoterapi yanıtını etkileyip etkilemediği ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır. Çalışmamızın amacı mikrodamar yoğunluğu incelemesiyle belirlenen anjiyogenezisin tümör mikroçevresindeki rolünün metastatik akciğer kanserinin ikinci basamak tedavisinde kullanılan immünoterapi ve kemoterapi yanıtlarına ve progresyonsuz sağ kalım süresine etkisini araştırmaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri

Akciğer kanseri, kansere bağlı ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır [1]. Yeni tanı alan akciğer kanserlerinin yaklaşık %85'ini küçük hücre dışı akciğer kanseri (KHDAK); %15'ini ise küçük hücreli akciğer kanseri oluşturmaktadır [17]. KHDAK'nin büyük çoğunluğunu skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinom oluşturmaktadır. Skuamöz hücreli karsinomun etyolojisinde sigara maruziyeti önemli bir rol oynar [18]. Sigaraya maruz kalan bronş epitelinde bazal hücre metaplazisi, displazisi, karsinoma in situ ve sonucunda karsinom ile sonuçlanan süreç tetiklenir. Adenokanserler ise yoğun karsinogen maruziyeti ile yakından ilişkilidir ve gelişiminde sigara, skuamöz hücreli karsinomdaki kadar önemli bir rol oynamaz [19]. Adenokanser gelişiminde onkojenik sürücü (driver) mutasyonların rolü diğer KHDAK tiplerinden daha fazla görülmektedir [19].

Küçük hücreli akciğer kanseri ve KHDAK'nin biyolojik davranışları ve klinik seyirleri birbirinden farklı olduğu için tedavi yaklaşımları da iki grup için farklılaşmaktadır. Hızlı büyüme ve uzak metastaz yapma özelliği olan Küçük Hücreli Akciğer Kanseri erken evrelerde teşhis etmek çoğu kez mümkün olmamaktadır. Bu nedenle Küçük Hücreli Akciğer Kanseri tedavisinde cerrahiden çok kemoterapi ve radyoterapi güncel tedavi yaklaşımını oluşturmaktadır. KHDAK ise tanı konulduğunda evrelemesi yapılarak erken evre olgularda en küratif tedavi yaklaşımı olan cerrahiye uygunluk açısından değerlendirilmelidir.

KHDAK tümör-nod-metastaz(TNM) durumuna göre sınıflandırılarak evrelere ayrılmıştır. Akciğer kanseri evrelemesinde 2017'de yayınlanan sekizinci edisyona göre TNM sınıflaması aşağıdaki gibidir [20]:

T: Primer tümör;

- TX: Tümörün kendisi görüntüleme yöntemleriyle saptanamamasına rağmen malign hücrelerin balgam örneği veya bronkoskopik yıkama ile görülebildiği durumları kapsar.
- T0: Primer tümörün saptanamadığı durumları tanımlar
- Tis: Karsinoma in situ demektir.
- T1: Tümörün en geniş yerinde 3 cm'den az olması, akciğer ve visseral plevra ile çevrili olup lobar bronkustan daha proksimali invaze etmemesi olarak tanımlanmıştır. 4 alt tipe ayrılır:
 - T1mi: Minimal invaziv adenokarsinom
 - T1a: Tümörün en geniş yerinde ≤ 1 cm olması
 - T1b: Tümörün en geniş yerinde 1 cm'den büyük ancak 2 cm'den küçük olması
 - T1c: Tümörün en geniş yerinde 2 cm'den büyük ve 3 cm'den küçük olması şeklinde tanımlanır
- T2: Tümörün 3 cm'den büyük olması ancak 5 cm'den küçük olması veya aşağıdaki özelliklerden birini taşıması durumunda bu sınıfa girer:
 - Karinayı infiltrate etmeden ana bronkusu kapsayacak şekilde kitle oluşturması
 - Visseral plevrayı invaze etmesi
 - Hiler bölgeye sınırlı atelektazi veya obstrüktif pnömonite neden olması

T2 evre 2 alt tipe ayrılır:

- T2a: Tümör boyutunun 3 cm ile 4 cm arasında olması
- T2b: Tümör boyutunun 4 ile 5 cm arasında olmasıdır.
- T3: Tümörün en geniş yerinde 5 cm'den büyük 7 cm'den küçük olması veya aşağıdaki yapılardan birini invaze etmesi:
 - Parietal plevra
 - Göğüs duvarı (Superior sulkus tümörleri dahil)
 - Frenik sinir
 - Parietal perikard
 - Primer tümör ile aynı akciğer lobunda ayrı bir tümör nodülü olması

➤ T4: Tümörün 7 cm'den büyük olması veya aşağıdakilerden birini invaze etmesi:

- Diyafram
- Mediastinum
- Kalp
- Büyük damar
- Trakea
- Rekürren laringeal sinir
- Özofagus
- Vertebra gövdesi
- Karina
- Primer tümör ile aynı tarafta ve farklı bir akciğer lobunda ayrı bir tümör nodülü olması

N: Bölgesel Lenf Nodu:

- NX: Saptanamayan lenf nodu
- N0: Metastatik lenf nodu olmaması
- N1: İpsilateral peribronşiyal ve/veya ipsilateral hiler lenf nodları ve intrapulmoner nodlarda metastaz saptanması
- N2: İpsilateral mediastinal ve/veya subkarinal lenf nodlarında metastaz görülmesi
- N3: Kontralateral mediastinal, kontralateral hiler, ipsilateral veya kontralateral skalen veya supraklaviküler lenf nodlarında metastaz görülmesi olarak tanımlanmıştır.

M: Uzak metastaz:

- M0: Uzak metastaz olmaması
- M1: Uzak metastaz olması şeklinde sınıflanıp M1 3 alt gruba ayrılır:
 - M1a: Karşı akciğer lobunda tümör nodül ya da nodülleri olması; tümörün plevral nodül yapması ya da malign plevral veya perikardiyal efüzyona sebep olması
 - M1b: Tek bir organda tek bir uzak metastazın olması ve tek bir uzak lenf nodu istasyonunda metastaz olması
 - M1c: Bir veya birden fazla organda çok sayıda metastatik lezyonun olması şeklinde tanımlanmıştır.

Tanımlanmış TNM alt sınıflarına göre evreleme tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. KHDAK TNM Evreleme

EVRE	T	N	M
Okült	TX	N0	M0
IA1	T1mi	N0	M0
	T1a	N0	M0
IA2	T1b	N0	M0
IA3	T1c	N0	M0
IB	T2a	N0	M0
IIB	T1a,b,c	N1	M0
	T2a,b	N1	M0
IIB	T3	N0	M0
IIIA	T1a,b,c	N2	M0
	T2a,b	N2	M0
	T3	N1	M0
	T4	N0	M0
IIIB	T4	N1	M0
	T1a,b,c	N3	M0
	T2a,b	N3	M0
	T3	N2	M0
	T4	N2	M0
IIIC	T3	N3	M0
	T4	N3	M0
IV	Herhangi T	Herhangi N	M1a, 1b, 1c

2.1.1 KHDAK'de Evrelere Göre Tedavi

KHDAK'nin TNM evrelemesi, hastaya verilecek tedaviyi belirleyen en önemli ölçüttür. Evre I ve II olan hastalarda tümörün cerrahi rezeksiyon önerilmektedir [2]. Opere olmuş evre II ve evre III hastalarda adjuvan kemoterapi önerilmektedir [21]. Kemoterapi ajanı olarak cisplatin bazlı ikili rejimlerin total sağkalım üzerine yararı olduğu gösterilmiştir. Opere olan ve tümör çapı 4 cm'den büyük; tümör grade'i yüksek; perinöral invazyon, damar invazyonu gibi kötü prognostik özelliğe sahip evre IB hastalarda da adjuvan kemoterapi düşünülmelidir [22]. Operasyonun uygun olmadığı, komorbiditeleri olan erken evre olgularda radyoterapi de bir tedavi seçeneğidir [23]. Operasyon sonrası cerrahi sınır pozitifliği veya göğüs duvarı infiltrasyonu olan hastalarda ise postoperatif radyoterapi de uygulanabilir.

Lokal ileri hastalık olarak tanımlanan evre III KHDAK'de standart tedavi kemoradyoterapi olmakla birlikte bazı seçilmiş olgularda cerrahi veya neoadjuvan tedavi sonrası cerrahi yaklaşım gündeme gelebilir. Lokal ileri KHDAK'de rezeksiyon aşağıdaki durumların varlığında önerilmektedir [2]:

- Tek istasyonda N2 hastalık olması ve diğer istasyonlarda hastalık olmadığının biyopsi ile ortaya konması
- T4N0 hastalıkta nodal hastalık olmadığı invaziv yöntemlerle kanıtlandıktan sonra rezeksiyon veya neoadjuvan tedavi sonrası rezeksiyon yapılabilir.

Günümüzde operabl lokal ileri KHDAK yönetiminde hala tartışmalı noktalar bulunmaktadır. Tek istasyonlu N2 nodal hastalık preoperatif olarak gösterilebildiyse rezeksiyon sonrası adjuvan kemoterapi, indüksiyon kemoterapi sonrası cerrahi rezeksiyon veya indüksiyon kemoradyoterapi sonrası cerrahi rezeksiyon seçenekler arasındadır. Hastanın nodal evrelemesi intraoperatif koşullarda yapıldıysa rezeksiyon sonrası adjuvan kemoterapi uygun bir seçenektir [2]. Rezektabl olmayan lokal ileri KHDAK, indüksiyon kemoterapisi sonrasında bile komplet rezeksiyona uygun olmayan hastaları kapsar. Rezeksiyona uygun olmayan evre IIIA ve evre IIIB KHDAK hastaların tedavisinde kemoradyoterapi uygulanır [24].

Multinodal N2 hastalık ve N3 hastalıkta definitif kemoradyoterapi tercih edilen tedavi yöntemidir. Hastanın komorbidite ve yaşına göre bu tedaviler eş zamanlı veya sıra ile uygulanabilir. Kemoradyoterapi sonrası bir anti-PD-L1 monoklonal antikor olan Durvalumab molekülü ile idame tedavisinin verilmesinin sağkalım üstünde yararlı etkileri gösterilmiştir [25].

2.1.2 Metastatik KHD AK Tedavisi

Evre IV KHD AK'nin tedavisi sistemik tedavidir. Radyoterapi palyatif amaçlı olarak sistemik tedaviye eklenebilir.

Metastatik KHD AK'de tedavi seçiminde tümörün "onkojenik sürücü mutasyon"larının belirlenmesi büyük öneme sahiptir. Başlıca bakılan mutasyonlar EGFR gen mutasyonu, ALK ve ROS genindeki yeniden düzenlenmeler ve BRAF mutasyonudur [26]. Bu mutasyonlar adenokanserlerde bulunabilirken skuamöz hücreli karsinomda nadiren görülür. Sigara öyküsü olmayan veya 15 paket/yıldan daha az sigara içmiş olan hastalarda bu mutasyonların görülme olasılığı artar [27]. EGFR ekzon 18-21'de aktive edici mutasyon bulunan hastalarda EGFR tirozin kinaz inhibitörü (TKI) tedavisi önerilmektedir [28,29]. TKI almamış olan hastalarda nadiren T790M ekzon 20 mutasyonu bulunabilmektedir ve bu mutasyonun TKI tedavisine direnç ile ilişkili olduğu görülmüştür [26]. ALK füzyon gen yeniden düzenlemesi adenokarsinomların %2-6'sında, ROS1 füzyon geni ise %1-4'ünde bulunur [26]. EGFR mutant KHD AK hastalarında erlotinib, afatinib, gefitinib, dacomitinib kullanılabilir. Bu tedaviler altında sistemik progresyonu olan hastalarda serumda veya yeniden biyopsi alınarak Ekzon 20 T90M mutasyonu bakılmalıdır. Mutasyon saptanan hastaların tedavisinde Osimertinib iyi bir seçenektir [30]. Tedavi öncesi mutasyon taramalarında ALK translokasyonu saptanan hastalarda Alektinib, Krizotinib ve Seritinib tedavi seçenekleri arasındadır [31-33]. ROS1 translokasyonu saptananlarda ise Krizotinib önemli bir tedavi ajanıdır [34].

Sürücü mutasyonların olmadığı olgularda metastatik KHD AK'nin birinci basamak tedavisinde platin bazlı bir kombinasyon rejimi kullanılmaktadır.

Cisplatin veya carboplatin ile birlikte taksanlar(paklitaksel ve dosetaksel), gemsitabin, vinorelbine ve non-skuamöz alt tiplerinde pemetrexed ile kombinasyonlar kullanılmaktadır [35-37].

Son yıllarda immün sistemin kontrol noktası inhibitörleri KHDAK'nin sistemik standart tedavisinde yerlerini almıştır. Bir antijene karşı oluşturulan immün yanıt fizyolojik olarak duraklatılmaz veya kontrol edilemez ise otoimmün olaylar meydana gelir. Sitotoksik T lenfositlerinin fizyolojik fren molekülleri kabul edebileceğimiz CTLA-4 ve PD-1, immün sistemin kontrol noktalarından ikisi olarak düşünülebilir.

T lenfositlerin aktif hale gelmesi için stimülasyon gereklidir. Antijen sunan hücrelerin yüzeyinde bulunan B7-1 ve B7-2 moleküllerinin T lenfositte ait CD28'e bağlanması lenfosit ko-stimülasyonunu sağlayacak IL-2 salınmasına ve daha güçlü bir T lenfosit uyarımına neden olur. Bir CD28 analogu olan CTLA-4'ün B7 molekülüne bağlanması, ko-stimülasyonun engellenmesine ve T hücre anerjisine neden olur [38]. T lenfosit yüzeyinde aynı anda hem B7-CD28 hem de B7-CTLA-4 etkileşimi olabilir ve bu durumda net etkinin ne olacağı stimülusun yoğunluğuna bağlıdır [38]. Söz gelimi zayıf bir stimülus T lenfosit ko-stimülasyonuna yol açarken uyarının daha yoğun olması B7-CTLA-4 bağlantısının daha güçlü olmasına yol açarak aşırı lenfosit aktivasyonunu engeller.

PD-1, B7/CD28 ailesine ait bir reseptör olur PD-L1 ve PD-L2 olmak üzere iki ligandı bulunmaktadır [39]. T lenfositlerin aşırı uyarılması durumunda veya CD4 yardımcı T lenfosit sayısı azaldığında yüzeyde beliren PD1, ligandına bağlandığında T uyarıcı reseptörlerini inaktive eder ve tükenmiş lenfosit görünümüne neden olur. Yani CTLA-4 T lenfosit uyarımının başlangıç fazında, PD-1 ise uyarılmadan sonraki efektör fazın düzenlenmesinde etkilidir [38]. Tümörler PD1 molekülüne bağlanan PD-L1 ligandlarını eksprese edebilirler. Bu malign hücreler kendilerine karşı oluşturulan inflamatuvar yanıt sonucu PD-L1 ekspresyonunu arttırarak immün sistemden kaçabilme özelliğine sahiptirler. PD-1 ile PD-L1 etkileşiminin CD4 T lenfositlerin immünsupresif özelliğe sahip regülatuar T hücrelerine (Treg) dönüşümüne neden olduğu gösterilmiştir [40].

CTLA-4 ve PD1 ile ligandlarının bağlanmasını engelleyen monoklonal antikorlar, immün sistemi frenleyen mekanizmaları ortadan kaldırarak tümöre karşı geliştirilen immün yanıtın göreceli olarak fazla olmasını sağlarlar. Günümüzde immün sistemin kontrol noktalarını inhibe eden monoklonal antikorlar melanom, akciğer kanseri, ürogenital kanserler, Hodgkin lenfoma ve birçok solid tümörün sistemik tedavilerinde yer almaktadır [41]. Bu amaçla kullanılan başlıca ajanlar Nivolumab, Atezolizumab ve Pembrolizumab'tır. Nivolumab ve Pembrolizumab PD-1'e karşı Atezolizumab ise anti-PD-L1'e karşı geliştirilmiş monoklonal antikorudur [41].

KHDAK'de sistemik tedavi kararını belirlemede bir diğer önemli ölçüt tümör hücrelerindeki PD-L1 ekspresyonunun ölçülmesidir. %PD-L1 > %50 olan metastatik KHDAK'nin ilk basamak tedavisinde Pembrolizumab'ın platin bazlı kombinasyon kemoterapisi ile karşılaştırıldığında daha etkin olduğu gösterilmiştir [42]. Herhangi bir PD-L1 ekspresyon düzeyinde ise birinci basamak tedavide platin bazlı kemoterapilerle birlikte Atezolizumab veya Pembrolizumab kullanılabilir [43,44]. Tümör mutasyon yükü yüksek olan hastalarda ilk basamak tedavide Nivolumab'ın etkin olduğuna dair çalışmalar mevcuttur [45]. İkinci basamak tedavide ise histolojik alt tiplerden bağımsız olarak Nivolumab ve Pembrolizumab veya Atezolizumab'ın monoterapi olarak kullanılması standart tedavi olarak önerilmektedir [46].

2.2 Tümör Anjiyogenezisi ve Mikroçevre Kavramı

Anjiyogenez dokularda premalign lezyonların malign hale gelme sürecinde, malign hücrelerin büyümesi, metastaz yapması ve mikrometastazların metastatik lezyon haline gelme süreçlerinde rol oynayan bir durumdur [9]. Tümör dokusunda anjiyogenezisi artışı, tümörün vücut dolaşımına katılabilmesi ve uzak metastazlar yapabilmesi için gerekli ve kolaylaştırıcı bir durumdur.

Tümör hücresi belli bir boyuta geldiğinde hipoksi ve nutrisyonel yetersizlikten dolayı anjiyogenezisi arttırmaya başlar [47].

Vücuttaki diğer anjiyogenez mekanizmalarından farklı olarak tümör dokusunda anjiyogenezi dengeleyecek inhibitör faktörler; hipoksi, asidik ortam, artmış inflamasyon gibi uyarıcı faktörlere göre oldukça az miktardadır. Bu durum anjiyogenezin sürekli devam etmesine yol açar. Anjiogenezin arttırılması ilk başta tümörün ihtiyaçlarını karşılarsa da oluşan neovasküler yapı fragil ve tortiyöz bir haldedir ve bu durum vasküler sızıntı oluşmasına, endotelial bazal membran hasarı sonucu platelet aktivasyonu ve diğer immün sistem hücrelerinin göçüne ve sonuç olarak artmış inflamasyona yol açar [10]. Tümör dokusundaki damarların vücuttaki diğer damarlardan farklı olarak endotel hücreleri arasındaki bağlantı bozulmuş, perisitler bazal membrandan ayrılmış durumdadır ve bunun sonucu olarak ve kan akımına karşı ciddi bir direnç vardır [10]. Bu mekanizmaların etkisiyle besin ve oksijen desteği azalmış, immün hücrelerin tümör dokusuna göçü kısmen engellenmiş ve verilecek kemoterapötiklerin etkinliği sınırlandırılmıştır [10]. Tümör hücrelerinin uzak metastazlar yapmasında kırılğan yeni mikrodamarların varlığı önem taşır. Bu damarlarda fiziksel bariyerin yok denecek kadar az olmasının yanında, endotelial hücrelerin salgıladıkları proteinazlar ve adezyon molekülleri tümör hücrelerinin diapedezini hızlandırır ve uzak metastazları mümkün kılar [48]. Tümör hücresi büyüdükçe mikroçevrede benzer durumlar tetiklenir.

Tümör dokusunda anjiyogenezisin başlıca 4 aşaması bulunmaktadır [49] :

- 1.Endotelial hücrelerin büyüme faktörleri ile uyarılmasıyla yeni tümöral damarları oluşturacak "ata damar"ların bazal membranlarında ayrışmalar meydana gelmesi
- 2.Endotelial hücrelerin ekstraselüler matrikse göçü
- 3.Endotelial hücrelerin proliferasyonu
- 4.Bu hücrelerin yeni bazal lamina ve tübüler yapılar oluşturacak şekilde organizasyonu.

2.2.1 Anjiyogenez ve Büyüme Faktörleri

Tümör dokusunda anjiyogenik özellikte olan başlıca büyüme faktörü aileleri Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF), Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF), Platelet Derive Büyüme Faktörü (PDGF) ve angiopoetinlerdir. VEGF, 6.kromozomda(6p21) genler tarafından kodlanan bir glikoproteindir [9]. Endotelial hücrelerinden, makrofajlardan, epitelyal hücrelerden ve malign hücrelerden salgılanır. VEGF-A, -B, -C, -D, -E olmak üzere 5 alt tipi bulunmakla birlikte tümör dokusunda anjiyogenezisin sağlanmasında ana rolü oynayan alt tipi VEGF-A'dır [9]. VEGF, anjiyogenezisin bütün aşamalarında etkin rol oynar. VEGF etkilerini tirozin kinaz aktivitesi olan iki reseptörü üzerinden gösterir, bunlar VEGFR-1 ve VEGFR-2'dir [50,51]. Bu iki reseptörün aktivasyonu farklı fonksiyonlara yol açar. VEGFR-2 aktivasyonu mitojenik ve anjiyogenik özellikler gösterirken VEGFR-1 aktivasyonu hematopoezi uyarır ve oluşan yeni damarların farklılaşması ve mimarisi üzerinde rol oynar [52]. VEGF, anjiyogenezisi arttırmanın yanında immunsupresif özellik de gösterir. Bu etkisini esas olarak regülatuar T lenfosit popülasyonunu arttırarak ve T lenfositlerin yüzeyindeki PD-1 reseptörlerini upregüle ederek gösterir [53]. VEGF damar endoteli üzerindeki etkilerini anjiyopoetin-1 (ANG1) ve PDGFR üzerinden gösterir [54]. ANG1 perisitlerden salınır ve endotel bütünlüğünü korur. PDGFR, perisitler için kemoatraktan özelliğe sahip olup damar bütünlüğünü korur [54].

FGF 4.kromozomda kodlanan genler tarafından sentezlenir. FGF-1 reseptörü üzerinden mitojenik ve anjiyogenik özellik gösterir [9].

PDGR; VEGF ve FGF'ye göre daha az potent olmakla birlikte, daha çok anjiyogenezisin "endotel hücrelerin göçü" aşamasına etkili olan büyüme faktörüdür [9,55]

2.2.2 Anjiyogenez ve Hipoksi

PHD2 (Prolil Hidroksilaz Domain Protein 2) oksijen duyarlı bir enzim olup ortamda yeterli oksijen varlığında hipoksi-indüklenebilir faktörleri (HIF) hidroksile ederek etkisizleştirir [56].

Hipoksik ortamda ise PHD2 inaktive olur ve HIF ilişkili kaskatlar devreye girer [56]. PHD2 eksikliği Vasküler Endotelial Kaderin (CDH5) artışına neden olur; CDH5 endotelial hücreler arası bağlantıları güçlendirir, soluble VEGF reseptör FMS-benzeri Tirozin Kinaz 1 (FLT1) seviyesini artırır. Artmış FLT1 reseptörleri VEGF'in endotel hücreleri üzerindeki etkinliğini azaltır [56]. Ayrıca yapılan çalışmalarda yüksek oksijenli ortamlarda T lenfositlerdeki PHD2'nin aktivasyonunun T hücrelerin sitotoksik etkilerinde baskılanmaya ve immünsüpresif karakterdeki Treg popülasyonunda artışa neden olduğu gösterilmiştir [10].

2.2.3 Anjiyogenez ve İmmün Sistem

Tümör anjiyogenezisinin arttırılmasında önemli rol oynayan bir diğer hücre grubu immün sisteme ait hücrelerdir. Bu hücreler proinflamatuvar karakterde sitokinler salgılayarak artmış tümör anjiyogenezisine neden olurlar.

Makrofajlar tümör anjiyogenezisinde rol oynayan temel hücrelerdendir. M1 ve M2 olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. M1 tipi, antijen işleme ve sunma görevleri ile edinisel T lenfosit aktivasyonunu arttırarak inflamatuvar bir yanıt oluşturur [57]. M2 tipi, Tümör ilişkili makrofaj (TİM) ile büyük benzerlik gösterir. TİM, tümör mikroçevresinde doku hasarı oluşturarak yeniden şekillenme ve anjiyogenezis süreçlerine katkıda bulunur. Tümör dokusuna infiltre olmuş lökositlerin büyük kısmı TİM'dir [58]. Makrofajların tümör dokusuna gelmesi CCL2, CCL5, CXCL12, VEGF ve diğer komplemanlar aracılığıyla olur [57]. Makrofaj ve monositler tümör dokusuna geldikten sonra tümör ilişkili makrofajlara dönüşürler [59]. TİM'e dönüşüm, geri çevrilebilir bir durumdur. Uygun tedaviler ile M2 benzeri TİM'lerin yeniden M1 makrofajlara dönüşümü sağlanabilir [60]. TİM; VEGF-A, EGF, FGF, TNF-alfa, IL-8 gibi proanjiyogenik sitokinler salgılayarak tümör dokusunda anjiyogenezise katkıda bulunur [59]. Anjiyogenik özelliklerinin dışında TİM'ler Treg hücrelerini uyararak tümör dokusunda immünsüpresif bir etki gösterir, böylece tümör hücrelerinin immün sistemden kaçışına neden olur [59].

Nötrofiller inflamasyonda ve tümör dokusunda anjiyogenezde rol oynayan bir diğer immün sistem hücreleridir. Fagositöz, oksijen radikalleri oluşumu ve nötrofil ekstraselüler tuzaklar (NET) oluşturarak fonksiyon gösterirler.

Uyaranın cinsine göre antimikrobiyal özellik gösteren N1 ve proanjiyogenik karakterdeki N2 (Tümör ilişkili nötrofil, TİN) şeklinde farklılaşabilirler [61]. Dokuda nötrofil çoğalması esas olarak Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör (G-CSF) etkisi ile gerçekleşir. Bu sitokinin etkisi ile artan nötrofiller, prokineticin-2 salgılayarak myeloid hücre mobilizasyonu ve myeloid hücre ilişkili anjiyogenezisi gerçekleştirir [62]. TİN ilişkili bu anjiyogenezde kanser inflamasyonunda da önemli rolü olan STAT3 sinyalizasyonunun çok önemli olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [63]. TİN'ler, TİM'ler gibi ekstraselüler matriksin yeniden şekillenmesinde de önemli rol oynarlar.

Doğal lenfoid hücreler (ILC), tümör mikroçevresinde önemli görevleri olan bir diğer hücre grubudur. Yüzey antijenleri, ürettikleri sitokinler ve lenfoid görünümüne göre 3 alt gruba ayrılır: ILC-1, ILC-2, ILC-3 [64]. ILC-1 hücrelerin tümör dokusunda büyümeyi hem indükleyici hem inhibe edici özellikleri bulunmaktadır. Interferon-gamma salgılayarak anti-tümöral etkiler gösterebilirler. Tümör üzerine indükleyici etkileri ise Myeloid Derive Supresör Hücreler (MDSC) tarafından düzenlenmektedir ve indolamin 2-3 dioksijenaz (IDO) aktivitesini arttırarak bu etkilerini gösterirler [65]. ILC-2, immünsupresif ve anjiyogenik özellikler gösterir. IL-5 ve IL-13 salgılayarak MDSC ile Treg popülasyonunu arttırırlar, TİM dönüşümünü indüklerler [65]. ILC-3 tümör üzerinde hem indükleyici hem inhibe edici özelliklere sahip bir alt gruptur. IL-22 salgılayarak epitel bütünlüğünü sağlarken IL-17 salgılayarak tümör büyümesi ve anjiyogenezise katkıda bulunur [65]. IL-8 ve TNF-alfa salgılama özelliği de olan ILC-3'ler, tümör dokusunda inflamasyonu arttırır [57].

Yapılan bir meta-analiz çalışmada evre 1-4 KHDAK olan 7006 hastada tümör dokusundaki CD8⁺ T lenfosit sayısının total sağ kalım ile körele olduğu gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada Treg sayısının sağ kalım üzerinde negatif etkisinin olduğu ve rekürrens riskini arttırdığı gözlemlenmiştir [66]. Sitotoksik T lenfositlerin tümör dokusuna göçünde rol oynayan bazı sitokinler ve büyüme faktörleri bulunmaktadır. Bunlardan biri olan interferon-gamma, lenfosit yüzeyindeki CXCR3 ekspresyonunu arttırarak tümöral göçü kolaylaştırır [67,68]. Tümörde VEGF salınımının artışı ise lenfosit diyapedezi için gerekli olan ICAM-1 ve VCAM-1'in inhibisyonuna yol açarak lenfositlerin tümör dokusuna göçünü engeller [69].

VEGF ayrıca tümörü infiltre eden CD8⁺ T lenfositlerin Fas ligand aracılı apoptozisine ve Treg hücrelerin predominant hale gelmesine neden olur [70]. Sitotoksik T lenfositler tümör dokusuna başarılı bir şekilde ulaşmış olsa bile kanser ilişkili fibroblastlar ve immünsüpresif karakterdeki lenfositlerin engellemeleri ile yeniden doku dışına uzaklaştırılabilirler [71]. Bu durum üretilen matriks proteinleri ve migrasyon ilişkili kemokinler aracılığı ile gerçekleşir [71].

CD8⁺ T lenfositlerin yüzeyinde bulunan bazı reseptörler inhibitör etkiye sahiptir. Bunlardan başlıcaları PD-1, CTLA-4, Lenfosit-aktivasyon gen 3 protein (LAG-3), T hücre immünglobülin ve müsin içeren domain-3 (TIM-3) ve T hücre immünoglobülin ve immunoreseptör tirozin-bazlı inhibitör motif domain (TIGIT)dir [72]. LAG-3, TIM-3 ve TIGIT'in ekspresyonunun T hücre disfonksiyonuna yol açtığı ve tükenmiş bir T lenfosit görünümüne neden olduğu gösterilmiştir [73].

Doğal öldürücü (NK) hücreler tümör mikroçevresinde düzenleyici rolü olan bir diğer hücre grubudur. CD56^{dim} CD16⁺ ve CD56^{bright} CD16⁻ ya da düşük olmak üzere iki formu olup büyük çoğunluğunu CD56^{dim} CD16⁺ oluşturmaktadır [57]. CD56^{dim} CD16⁺ hücreler MHC-I ligandlarıyla bağlanarak ya da antikor-antijen kompleksi ile etkileşerek perforin ve granzim salgırlar. Bu yolla sitotoksikite gösterirler. CD56^{bright} CD16⁻ alt tipi ise sitotoksik özellik göstermeyip Interferon-gamma, TNF-alfa gibi inflamatuvar sitokinler salgılamaktadır. Matür NK hücreler PD-1 ligandı taşırlar ve bu ligandın tümör hücrelerindeki PD-L1 reseptörü ile etkileşimi NK hücrelerin antitümör etkinliğini sınırlar. Tümör mikroçevresi NK hücrelerin anjiyogenik özelliklerini şekillendirmede önemli bir yere sahiptir [74]. KHDAK'de tümör dokusundaki CD56^{bright} CD16⁻ popülasyonunun VEGF, PlGF ve IL-8 salgıladığı, endotel kemotaksisini indüklediği ve tümör anjiyogenezi arttırdığı gösterilmiştir.

2.3 Tümör Kaçış Mekanizmaları ve İmmünoterapiler

Tümör mikroçevresindeki dinamik değişiklikler tedavi yanıtını belirlemede önemli bir yere sahiptir. Tümör dokusunda lenfosit aracılı anti-tümöral yanıtı karşı geliştirilmiş adaptasyonlar mevcuttur. Tümör hücrelerinde bulunan PD-L1'in , tümör dokusuna göç eden T lenfositlerin yüzeyindeki PD-1 ile etkileşimi lenfositlerin sitotoksik etkisinde azalmaya neden olur [75].

PD-L1 ayrıca antijen sunucu hücrelerdeki B7 yüzey antijeni ile etkileşerek sitotoksik T lenfositlerine antijen sunumunu engeller ve bu yolla lenfosit yanıtını azaltır [76].

CTLA-4 sitotoksik T lenfositlerin yüzeyinde bulunan ve T lenfosit etkinliğini sınırlayıcı bir reseptördür. T lenfosit aktif hale geldiğinde CTLA-4 eksprese eder. CTLA-4; bir ko-stimülan molekül olan CD28 ile, antijen sunan hücrelerin yüzeyindeki B7-1 ve B7-2 ligandlarına bağlanma yönünden yarışır [8]. Bu durum immün yanıtın dengede kalmasını sağlar. Akciğer kanserinde tümör hücreleri T lenfositler üzerindeki CTLA-4 ekspresyonunu stimüle edebilir, bu durum anerjik bir T lenfosit görüntüsüne yol açar [77].

Tümörde yeni mutasyonların meydana gelmesi, yani tümör mutasyon yükünün artışı genelde inflamasyonun arttığı yani "inflame" görünümdeki tümör dokularında mevcuttur ve bu durum T lenfositleri uyarıcı yeni antijenlerin oluşumuna neden olup immünoterapi etkinliğinde artışı sağlar [78].

Tümör hücrelerinin sitotoksik etkiden kaçış mekanizmalarından biri "hasar ilişkili moleküler patern" denilen ve ölmekte olan kanser hücrelerinden salınarak antijen sunucu dendritik hücre matürasyonunu sağlayan moleküllerin (ATP, HMGB1) salınımını azaltılmasıdır [71]. Dendritik hücreler T lenfositlerin ko-stimülasyonunda rol oynadığından bu hücrelerin matürasyonunu tamamlayamaması T lenfositlerin proliferasyon ve farklılaşmasında aksamaya ve T hücre anerjisine neden olur [79].

T lenfositler proliferasyon arttığında CTLA-4 olarak adlandırılan negatif düzenleyici bir molekül salgırlar. Dolayısıyla CTLA-4'e karşı geliştirilen antikorların T hücre aktivitesini arttırdığı ve non-inflame görünümdeki bir tümörü inflame hale getirebildiği gösterilmiştir [71].

T lenfositler bütün kaçış mekanizmalarına rağmen tümör dokusuna infiltre olduklarında(tümör dokusunu inflame hale getirdiklerinde) dahi birtakım tuzaklara maruz kalabilirler. Bu tuzaklardan biri tümör hücrelerinin yüzeyinde bulunan ve T lenfositler tarafından tanınmalarını sağlayan MHC-I ekspresyonunu azaltarak sitotoksik etkiden kaçmalarıdır [71]. Bir diğer mekanizma tümör hücreleri indolamin 2,3 dioksijenaaz (IDO), STAT-3, IL-10 ve TGF-Beta salgılayarak immünsupresif etki göstermesidir [8].

IDO bir immünotolerans mekanizması olarak makrofaj ve antijen sunan dendritik hücrelerde eksprese edilir. Triptofan yoksunluğuna yol açarak T hücrelerin fonksiyonları üzerinde supresif etki gösterir [80]. Ayrıca IDO Treg ve MDSC hücre sayısını arttırarak immünsupresif bir rol oynar [81].

2.4 İmmün Sistemin Kontrol Noktası İnhibitörleri

Tümöre karşı immünolojik yanıtta tümör antijenlerini tanıyıp spesifik yanıt geliştirebilen Sitotoksik CD8 pozitif T lenfositlerinin aktivasyonunu durduran moleküller olan CTLA-4 ile PD-1'e veya PD-1 ligandına karşı geliştirilmiş monoklonal antikorlar, immün sistemin fizyolojik kontrol noktalarını inhibe ederler. Bu yolla göreceli bir immün aktivasyon sağlarlar. CTLA-4 erken dönemde antijenlerin lenf nodlarında lenfositlerle ilk karşılaştığı dönemde, PD-1 ise tümör mikroçevresinde rol oynayan kontrol noktalarıdır.

İpilimumab CTLA-4'e karşı, Nivolumab ve Pembrolizumab PD-1'a karşı, Atezolizumab ise PD-L1'e karşı geliştirilmiş monoklonal antikorlardır [41]. Bu monoklonal antikorlar immün sistemin fizyolojik kontrol noktalarına bağlandıklarında inhibitör kontrol mekanizmasını ortadan kaldırarak tümöre karşı oluşmuş immün yanıtın devam etmesini sağlarlar.

Nivolumab PD-1'e karşı geliştirilmiş IgG4 yapıda bir monoklonal antikordur. İki randomize prospektif çalışmada birinci basamak tedavide platin bazlı kemoterapi almış evre 3B ile evre 4 ve cerrahi rezeksiyon veya radyoterapi sonrası nüks ya da progresyon gelişen skuamöz olmayan ve skuamöz küçük hücre dışı akciğer kanserli hastalarda, ikinci basamak tedavide nivolumab ile dosetakselin etkinliği karşılaştırılmıştır [4,5]. Genel sağ kalım süresi ve objektif cevap oranları nivolumab alanlarda dosetaksel alanlara göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha iyi bulunmuştur.

Pembrolizumabın KHDAK'de etkinliğinin araştırıldığı çok merkezli randomize KEYNOTE-010 çalışmasında, ileri evre olup daha önce bir veya iki sıra platin bazlı kemoterapi alan 1034 hastada pembrolizumab ile dosetaksel karşılaştırılmıştır [42].

PD-L1 düzeyi %1-49 ve >%50 olan iki grupta yapılan karşılaştırmada >%50 olup pembrolizumab alanların dosetaksel alanlara göre total sağ kalım süreleri ve progresyonsuz sağ kalımlarının daha uzun olduğu gösterilmiştir. PD-L1 oranı %1-49 olan hastalarda ise pembrolizumabın total sağ kalım üzerine olumlu etkisi istatistiksel olarak anlamlı görülmüşken, progresyonsuz sağkalım yönünden dosetaksel ile karşılaştırıldığında anlamlı fark gözlenmemiştir.

Atezolizumab PD-L1 reseptörüne karşı geliştirilmiş IgG1 yapısında monoklonal antikordur. Atezolizumab, PD-L1 PD-1 etkileşiminin inhibisyonuna ek olarak PD-L1 ve B7 ligandı arasındaki bağı da inhibe eder. OAK çalışmasında evre IIIB ve IV olan ve daha önce bir veya iki sıra kemoterapi almış olan KHDAK'de atezolizumab ve dosetaksel tedavisi karşılaştırılmıştır [6]. Tümör histolojik tipinden ve PD-L1 ekspresyon düzeyinden bağımsız olarak atezolizumabın total sağ kalım üzerine dosetaksele göre anlamlı derecede olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir.

Nivolumab, pembrolizumab ve atezolizumab daha önce platin bazlı bir kombinasyon kemoterapisi görmüş KHDAK'de standart tedavi olarak kabul edilen dosetaksel ile karşılaştırıldığında sağ kalım avantajı sağlamıştır. Fakat her hastada immün sistem kontrol noktası inhibitörlerine yanıt oranları aynı düzeyde olmamaktadır. KEYNOTE-010 çalışmasında pembrolizumab alan hastalardan 2 mg/kg dozunda tedavi alan 344 hastanın 266'sında (%77); 10 mg/kg 346 hastanın 254'ünde (%73) exitus veya hastalık progresyonu gözlemlendi. Bir yıllık sağ kalım ise 10 mg/kg grubunda %52.3, 2 mg/kg grubunda ise %43.2 olarak bulundu. OAK çalışmasında atezolizumab alan ve PD-L1 pozitif olan 241 hastanın 102'sinde (%42) progresif hastalık gözlemlenmiştir. "Intention to treat" grubundaki progresyon oranı da benzer şekilde %44 (187 hasta) olarak bulunmuştur. Nivolumabın etkinliği ile ilgili yayınlanan çalışmada ise tedavi alan 292 hastanın 111'inde (%38) progresyon gelişmiştir [4,5].

KHDAK'ın ikinci basamak tedavisinde immünoterapi yanıt oranları PD-L1 düzeylerinden bağımsız olarak görülmektedir. Maliyetleri yüksek olan bu tedavilerden kimlerin daha çok yarar göreceğini belirleyebilmek önemlidir.

Günümüzde immün sistemin kontrol noktası inhibitörlerinden fayda görecektir. Olguları belirlemek için FDA onaylı olarak kullanılan biyobelirteçler tümördeki PD-L1 düzeyleri, tümör mutasyon yükü ve mikrosatellit instabilitedir. Bu biyobelirteçlerin hiçbirisi ideal bir biyobelirteç değildir. Tümör heterojenitesi, immünolojik yanıtın ve kişinin immün sisteminin karmaşık yapısı; tümör ve konağın immün sistemi arasındaki etkileşimin değişkenliği çok farklı yanıt oranlarına sebep olabilmektedir.

İmmünoterapilerin akciğer kanserinde total yaşam süresine olumlu etkisinin yanı sıra bazı hastalarda önemli morbidite ve mortalite oluşturacak otoimmün yan etkileri ve tedavi etkisizliği göz önüne alındığında, hangi hastaların tedaviye daha iyi yanıt vereceğinin ölçütleri ne yazık ki net olarak belirlenememiştir.

Bu açıdan özellikle tümör mikroçevresindeki değişiklikler ile ilgili çalışmalar immünoterapiye yanıt verecek hasta grubunun daha net bir şekilde belirlenmesini mümkün kılabilir. Tümörün kendisine karşı oluşan immün yanıtın kaçışında rol oynayabilen anjiyogenezin belirlenmesi ve bu anjiyogenezin inhibe edecek tedaviler ile daha önce bahsedilen immün sistemin kontrol noktası inhibitörlerinin kombine kullanılması, üzerinde çalışmaların sürdüğü bir konudur.

2.5 Dokuda Anjiyogenezin Belirlenmesi ve Anjiyogenezis Paterni

Tümör dokusunda artmış anjiyogenezin gösterilmesinde serum ve dokuda VEGF gibi büyüme faktörlerinin ölçümü dışında tümör dokusunda mikrodamar yoğunluğunun sayılması konusunda da çalışmalar yapılmıştır. İlk olarak Weidner'in 1991'de invaziv duktal meme kanseri vakalarında anjiyogenezis derecesi ve miktarı ile metastaz olasılığı arasında ilişki olup olmadığını karşılaştırdığı çalışmasında tümör dokusunda anti-FVIII ile boyanan en yoğun yerler(hot spot) baz alınarak anjiyogenezis değerlendirilmiştir [11]. Hem derecelendirme, hem sayılan antikor pozitif alanların varlığı metastaz olasılığının artışı ile doğru orantılı bulunmuştur.

Akciğer kanserinde ilk olarak 1992'de P.Macchiarini ve ark.'ın yaptığı çalışmada T1N0M0 evresindeki KHDAK hastalarında primer tümör dokusundaki anjiyogenezin post operatif dönemdeki metastaz sıklığı ile ilişkisi incelenmiştir [12]. Artmış MDY'nin metastaz olasılığını arttırdığı gösterilmiştir.

Fontanini ve ark. 1997’de KHDAK olgularının tümör dokusunda CD34 antikoruna ile yaptıkları anjiyogenezis tayininde “Hot spot” yöntemi olarak bilinen, tümör dokusunda CD34 ile en yoğun boyalı alanları tespit edip mikrodamarların gözlemci tarafından sayılması esasına dayanan yöntemi kullanmışlardır [13].

Matsuyama ve ark. 1998’de küçük hücre dışı akciğer kanserli 101 hastada CD34 ile İHK boyama yaparak belirledikleri mikrodamar yoğunluğunun total sağ kalıma ve hematojen metastaz yapma olasılığına etkisini araştırmışlardır [14].

Cox ve ark.’ın 2000 yılında yaptıkları evre I-IIIa olup opere olmuş KHDAK 181 hastayı kapsayan çalışmada CD34 antikorları kullanılarak mikrodamar yoğunluğu Chalkley yöntemi ile sayılmıştır [15].

Offersen ve ark. KHDAK’de anjiyogenezis paterni kavramını ve mikrodamar yoğunluğu ölçmede mikroskopik mercek aparatı kullanılarak tümör alanını kadrantlara bölüp sayım yöntemi olan Chalkley ile “hot spot” sayım yöntemi arasında fark olup olmadığını araştırmıştır [16]. Tümör dokusunda anjiyogenezis tipi (alveolar tip, anjiyogenik tip, mikst tip), CD34 boyanma oranı, dokuda VEGF oranı ve mikrodamar sayım yönteminin (Hot spot ve Chalkley yöntemi) total sağ kalıma etkisi incelenmiştir. Hot spot ve Chalkley yöntemleri ile yapılan skorlamalar arasında ise anlamlı fark saptanmamıştır.

Çalışmamızda metastatik KHDAK’li olguların tümör dokularında anti CD34 antikorlarının hot spot bölgelerdeki sayısı ile hesaplanan MDY’nin ikinci basamak tedavide kullanılan immün sistemin kontrol noktası inhibitörleri ve sitotoksik kemoterapiye yanıt oranlarını ve progresyona kadar geçen süre ve sağ kalımları nasıl etkilediğini belirlemeyi amaçladık.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Medikal Onkoloji Bilim Dalı'nda 2012-2020 yılları arasında metastatik Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri tanısı alan hastalar retrospektif olarak tarandı. Bu hastalardan bir veya iki sıra kemoterapi sonrası hastalık progresyonu olan ve sonraki basamakta Atezolizumab, Nivolumab veya standard sitotoksik kemoterapi alan hastalar belirlendi. Bu hastaların ilk tedavi öncesine ait patoloji preparatları , primer dokudan veya metastatik lezyondan alınan biyopsiler ile rezeksiyon materyalleri fakültemiz Patoloji Ana Bilim Dalı ilgili öğretim üyesi tarafından değerlendirildi. Tümör dokusu içeren preparatlar belirlendi ve bu hastalardan tümör dokusu çalışmaya uygun olan, immünoterapi almış olan 26 hasta ile kemoterapi almış olan 23 hasta çalışmaya dahil edildi.

CD34 çalışmasında Monoklonal Mouse Anti-human CD34 class-II antikoruna QBEnd 10 (Ready-to-use/DAKO) klonu, DAB IHC detection kit kullanıldı. Bu antikorlar için çevre damar endotelleri internal kontrol olarak kullanıldı. Eksternal kontrol dokusu kullanılmadı. İmmunhistokimyasal boyamalar otomatik boyama cihazında (Ventana Benchmark XT, Ventana Medical Systems, Tucson, Arizona) gerçekleştirildi. Tüm lamalar taranarak CD34 ile boyanmanın en yaygın (hot spot) olduğu alanlar, x400 büyütmede sayıldı. Her tümör için en az iki alan analiz edildi. Nekroz, iltihap alanlarının yanı sıra çevre normal dokular değerlendirme dışında bırakıldı.

PD-L1 çalışması için ticari antikorlardan 22C3 pharmDx (Dako, Carpinteria, CA), Optiview DAB IHC detection kit kullanıldı. Eksternal kontrol dokusu olarak tonsil dokusu kullanıldı. İmmunhistokimyasal PD-L1 boyamasında boyanma yoğunluğuna bakılmaksızın, tümör hücrelerinde komplet membranöz boyanma varlığı değerlendirildi. Sitoplazmik boyanmalar ya da membranda inkomplet boyanmalar negatif kabul edildi. Olgular, tümör hücrelerinin boyanma oranlarına göre negatif (boyanma görülmeyenler ve %1'in altında boyanma), zayıf pozitif (%1-49), kuvvetli pozitif (≥ 50) olarak gruplandı.

Hastaların demografik özellikleri (Yaş, cinsiyet, sigara) kaydedildi. Tümör dokusunun alındığı yer, histolojik alt tipi, diferansiyasyon derecesi, hastanın ilk tanı anındaki metastaz yerleri ve tanı anında kraniyal metastaz olup olmadığı araştırıldı.

Birinci sıra tedavi rejimi ve ikinci basamak tedaviler belirlendi. Tedavi sonrası ulaşılmış en iyi yanıt BT ya da FDG-PET görüntülemeleri kullanılarak RECIST kriterlerine göre belirlendi. İmmünoterapi alan hastalar için kemoterapilerin bitiş tarihi ve immünoterapinin başlangıç tarihi not edildi. İmmünoterapi sonrası en iyi yanıt ve en iyi yanıtı ulaşma süresi belirlendi. Hastaların progresyonsuz sağ kalım ve total sağ kalım süreleri hesaplandı. EGFR mutasyonu ve ALK, ROS gen yeniden düzenlenmesi olan ve tedavide daha önce TKI kullanılmış olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. RECIST kriterleri kullanılarak ikinci sıra tedaviye olan yanıt belirlendi.

3.1 İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel değerlendirmesinde SPSS 25.0 (for Macintosh IBM USA) programı kullanıldı. MDY ve tedavi yanıtı arasındaki ilişkiyi belirlemede ROC (Receiver Operating Curves), progresyonsuz sağ kalım ve genel sağ kalım sürelerini belirlemede Kaplan-Meier yöntemi kullanıldı. Değişkenler ile progresyonsuz ve genel sağ kalım arasındaki ilişkiyi belirlemede log-rank regresyon analizi yapıldı, p değerinin 0,05'in altında olması istatistiksel anlamlılık olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışmamıza immünoterapi almış olan 26 hasta ve kemoterapi almış olan 23 hasta dahil edildi. Hastaların demografik özellikleri, tümör histolojik alt tipleri ve tümör örnek alınma yeri tablo-2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Hastaların Demografik Özellikleri, Tümör Histolojileri ve Biyopsi Yerleri

	İmmünoterapi (n=26)	Kemoterapi (n=23)
Ortalama Yaş	60	63
Cinsiyet	Erkek (n=25)	Erkek (n=20)
	Kadın (n=1)	Kadın (n=3)
Sigara		
Histoloji	Adenokanser (n=14)	Adenokanser (n=12)
	Skuamöz (n=9)	Skuamöz (n=10)
	Berrak hücreli (n=1)	NOS (N=1)
	Büyük Hücreli (n=1)	
	Pleomorfik (n=1)	
Biyopsi Yeri	Akciğer (n=14)	Akciğer (n=8)
	Lenf Nodu (n=5)	Lenf Nodu (n=5)
	Beyin (n=3)	Beyin (n=5)
	Plevra (n=2)	Perikard (n=2)
	Sürrenal (n=1)	Kemik (n=2)
	Dil Kökü (n=1)	Kolon (n=1)

Akciğer biyopsileri immünoterapi kolundaki 14 hastanın 8’inde Lobektomi rezeksiyon materyali, 3’ünde tru-cut biyopsi, 3’ünde pnömonektomi materyali şeklindeydi. Kemoterapi kolundaki 8 hastanın 3’ünde lobektomi rezeksiyon materyali, 4’üde tru-cut biyopsi ve 1 hastada kama rezeksiyon şeklindeydi.

Olguların metastatik durumları tablo-3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Olguların Metastatik Durumları

	İmmünoterapi (n=26)	Kemoterapi (n=23)
Tanı Anında Metastatik	Evet (n=21)	Evet (n=17)
	Hayır (n=5)	Hayır (n=6)
Visseral Metastatik Yer Sayısı	3 (n=2)	3 (n=4)
	2 (n=5)	2 (n=4)
	1 (n=16)	1 (n=13)
Metastaz Yerleri	Kemik (n=10)	Kemik (n=10)
	Akciğer (n=6)	Beyin (n=7)
	Sürrenal (n=7)	Akciğer (n=5)
	Beyin (n=6)	Sürrenal (n=4)
	Karaciğer (n=4)	Karaciğer (n=3)
	Dil (n=1)	Pankreas (n=1)
	Böbrek (n=1)	Kolon (n=1)

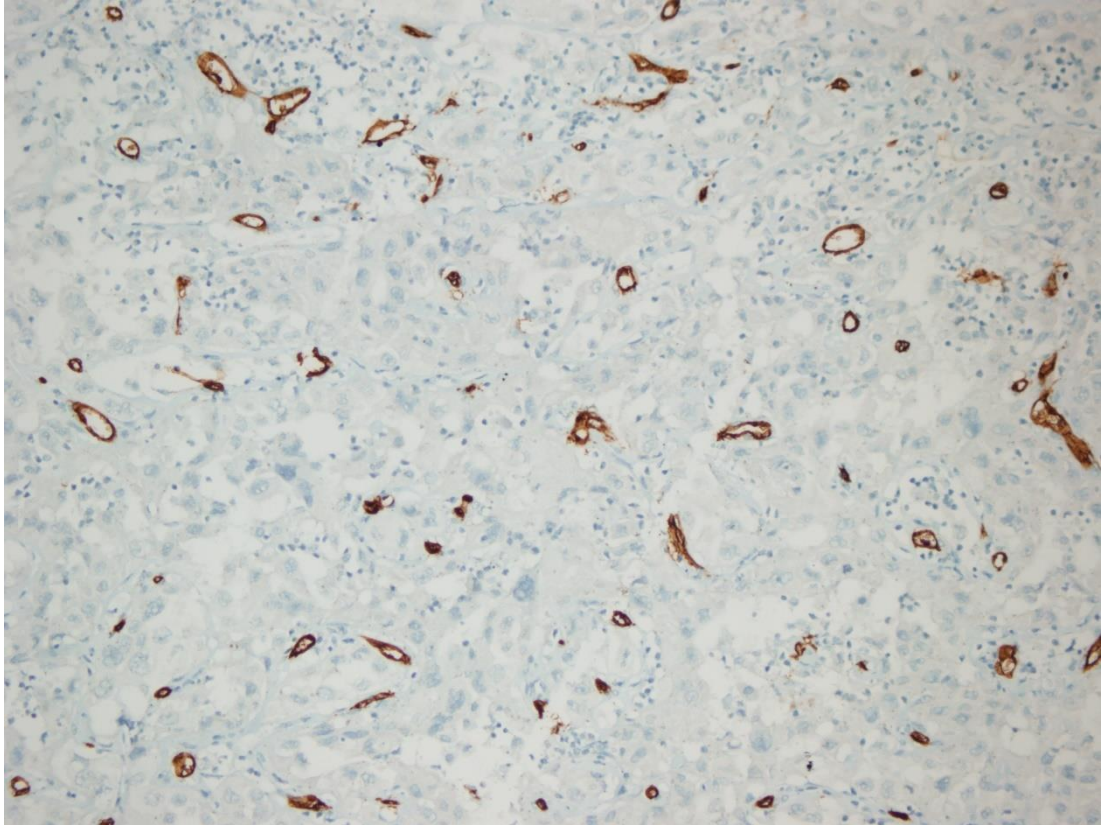
İmmünoterapi kolundaki 2 hastada visseral metastaz olmayıp plevra invazyonu nedeni ile ikinci sıra tedavi verilmiştir. Bir hastada ise operasyon yerinde tümör nüksü nedeni ile, immünoterapi verilmiştir. Kemoterapi kolundaki 4 hastada ise ilk sıra tedavi sonrası primer tümörün ve lenf nodu tutulumunun progresyonu nedeni ile ikinci sıra tedavi verilmiştir. Anjiyogenezis durumunu belirlemede olguların mikrodamar yoğunluğu sayımlarının toplamının ortalama değeri sınır olarak belirlendi. Buna göre olgular ortalama değer olan 15'in üstünde mikrodamar yoğunluğu olanlar ile 15 ve altında değere sahip olanlar şeklinde iki gruba ayrıldı

Ayrıca hastaların anjiyogenezis paternleri anjiyogenik (ANJ) ve anjiyogenik ile alveoler (ANJ-ALV) olarak gruplandırıldı. PD-L1% düzeyleri <%1, %1-49 ve ≥%50 olmak üzere üç grupta incelendi. Her iki tedavi grubundaki hastaların anjiyogenezis dereceleri, anjiyogenezis paternleri, ikinci sıra tedavi rejimleri ve immünoterapi kolundaki hastaların %PD-L1 düzeyleriyle ilgili bilgiler Tablo 4.'te verilmiştir.

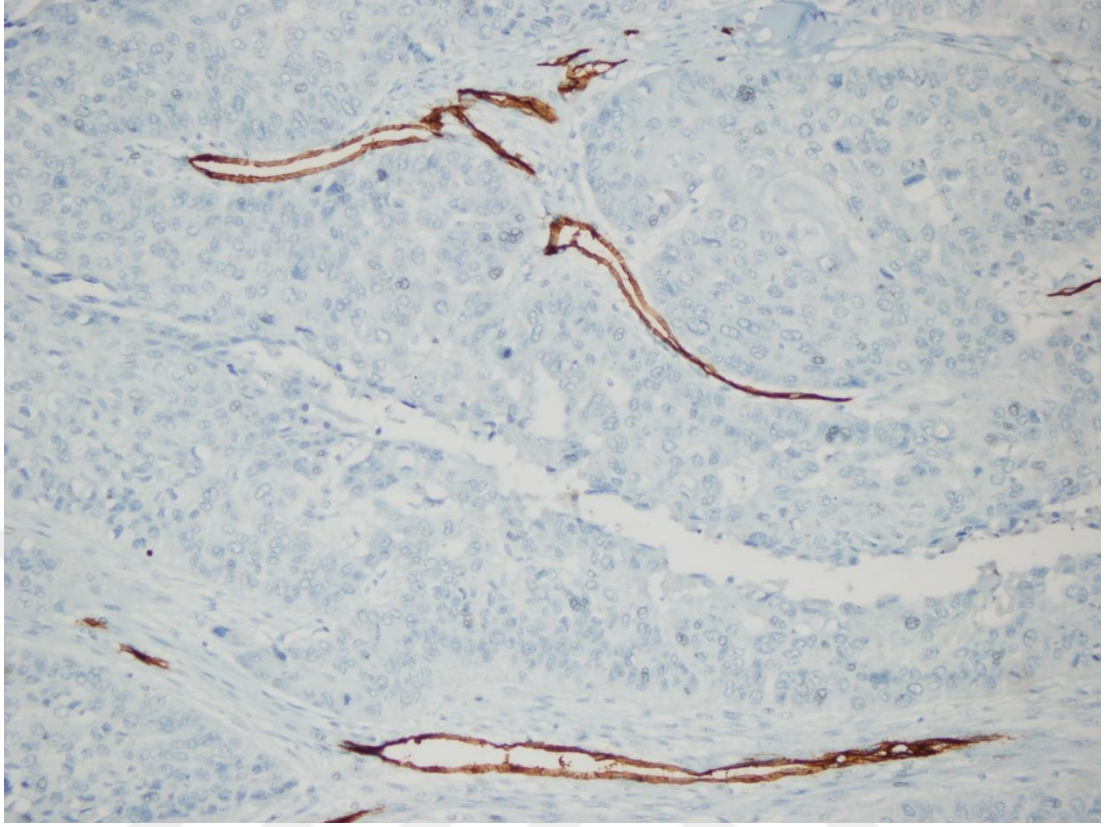
Tablo 4. Anjiyogenezis Skoru, Anjiyogenezis Paterni, PD-L1% Düzeyi ve Tedavi

	İmmünoterapi (n=26)	Kemoterapi (n=23)
Anjiyogenezis Paterni	ANJ (n=18)	ANJ (n=16)
	ANJ-ALV (n=8)	ANJ-ALV(n=7)
Mikrodamar Yoğunluğu (MVD)	≤15 (n=16)	≤15 (n=14)
	>15 (n=10)	>15(n=9)
%PD-L1	<%1 (n=16)	N/A
	=%1-49 (n=7)	
	≥%50 (n=3)	
İkinci Basamak Tedavi	Nivolumab (n=21)	Dosetaksel (n=10)
	Atezolizumab (n=5)	Pemetrekset (n=11)
		Platin Bazlı (n=2)

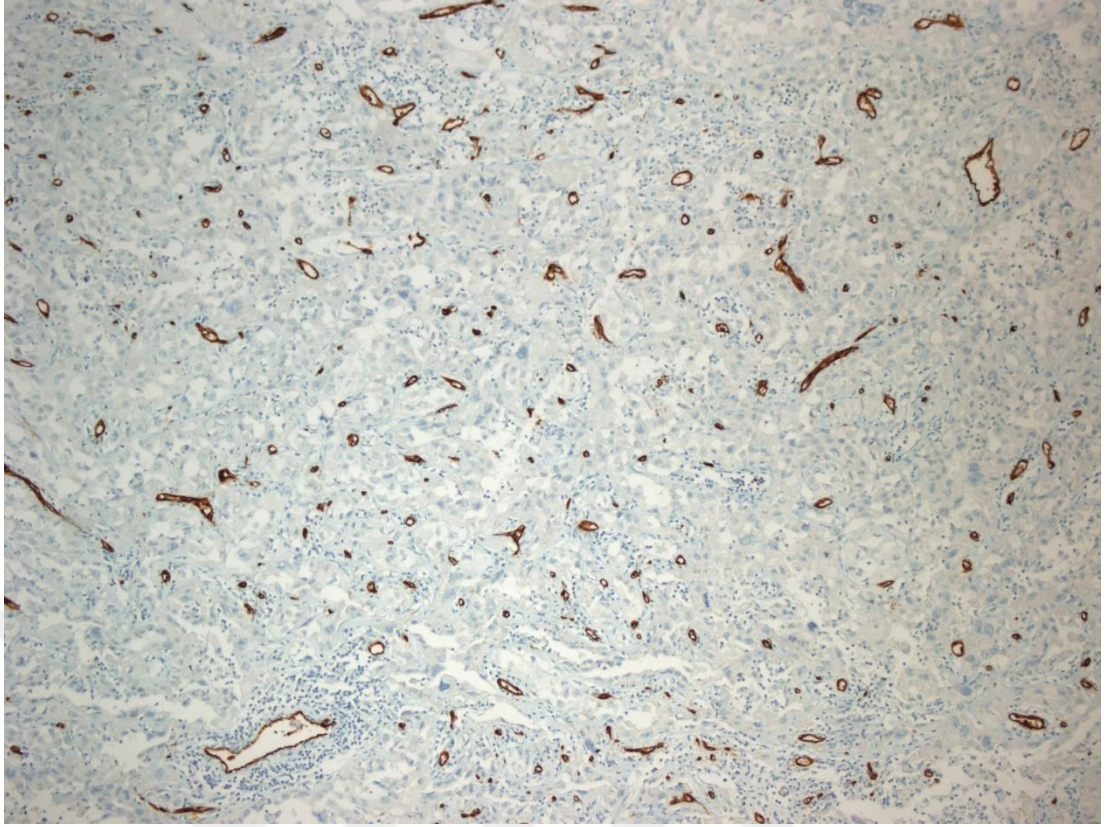
Seçilmiş olguların mikroskopik olarak MDY ve MDY paterni görüntüsü, %PD-L1 boyanma alanları ilgili şekillerde verilmiştir.



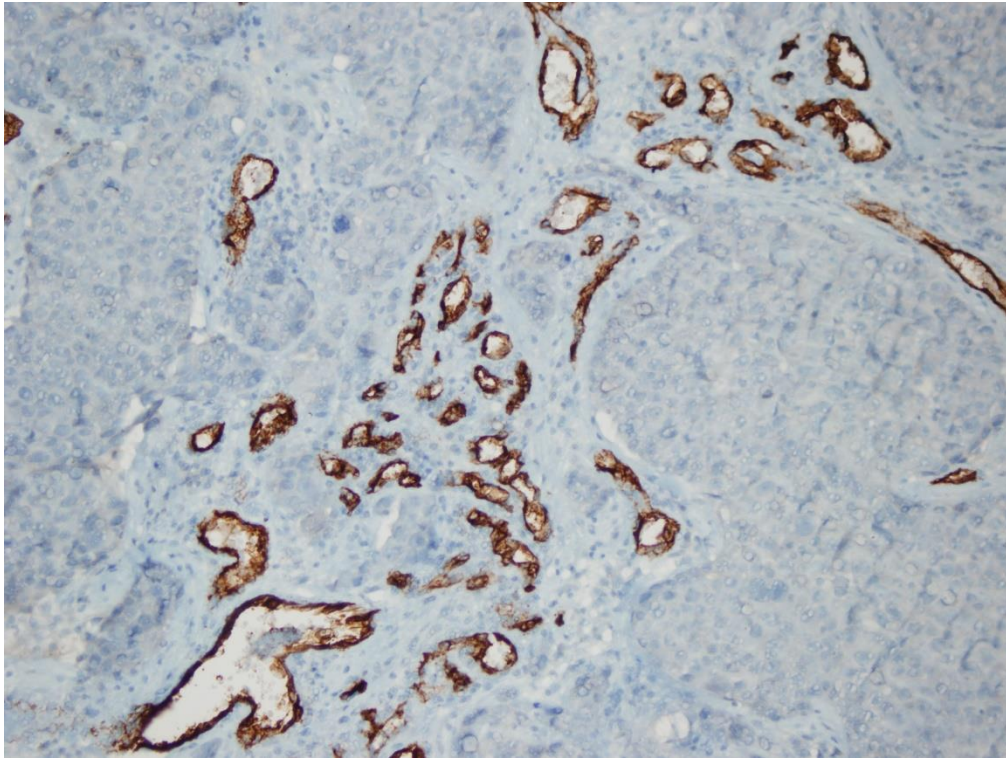
Şekil 1. Lobektomi Materyalinde Mikrodamar Görünümü, Anjiyogenik Patern,X200 Büyütme



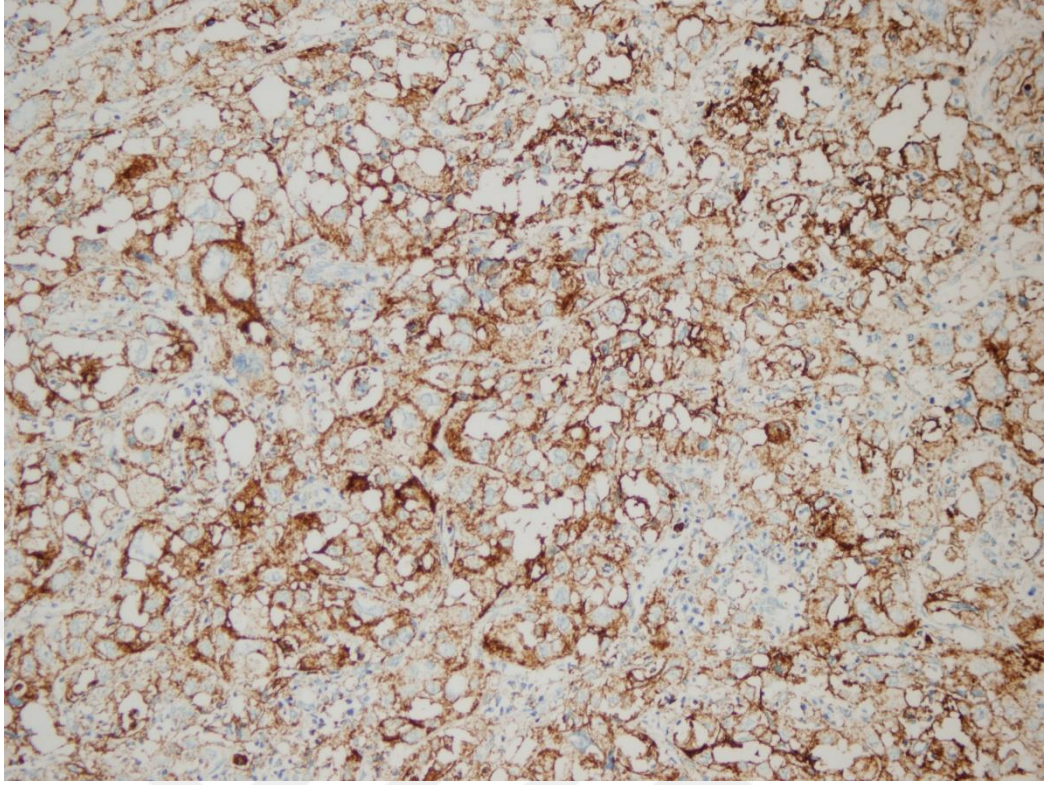
Şekil 2. Lobektomi Materyali MDY Anjiyogenik-Alveolar Patern, X200 Büyütme



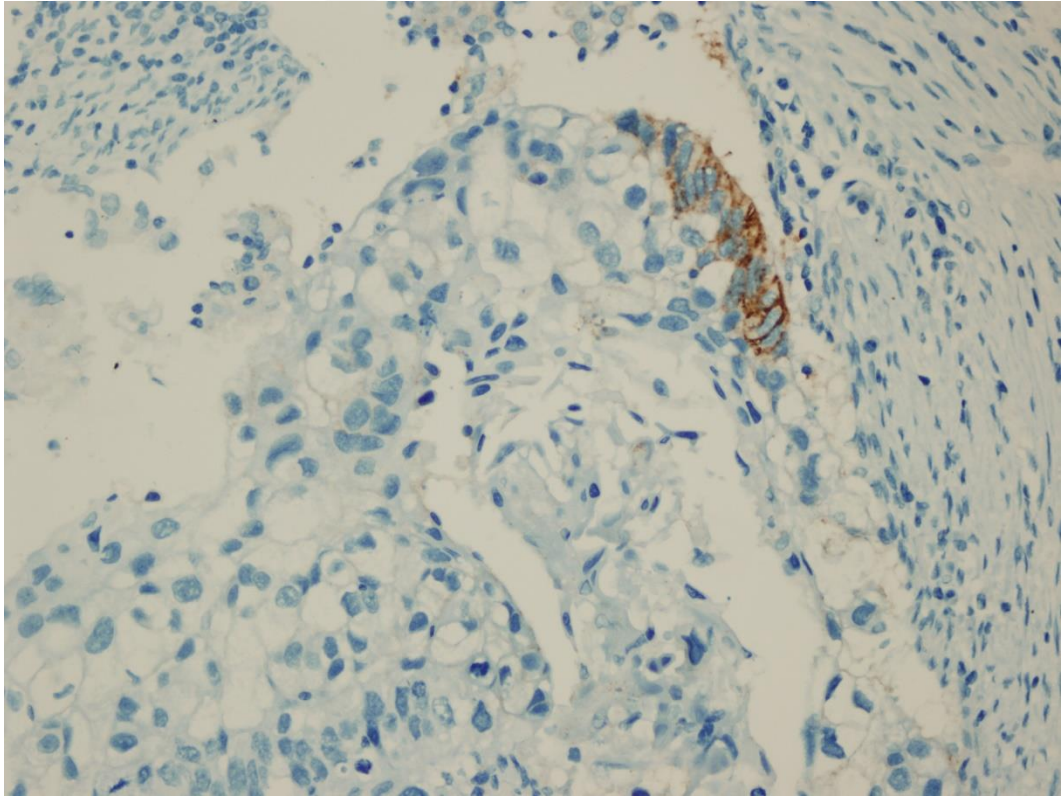
Şekil 3. Lobektomi Materyali Mikrodamar Görünümü, X100 Büyütme



Şekil 4. Akciğer Dışı Dokuda Anjiyogenik-Alveoler Patern X200 Büyütme

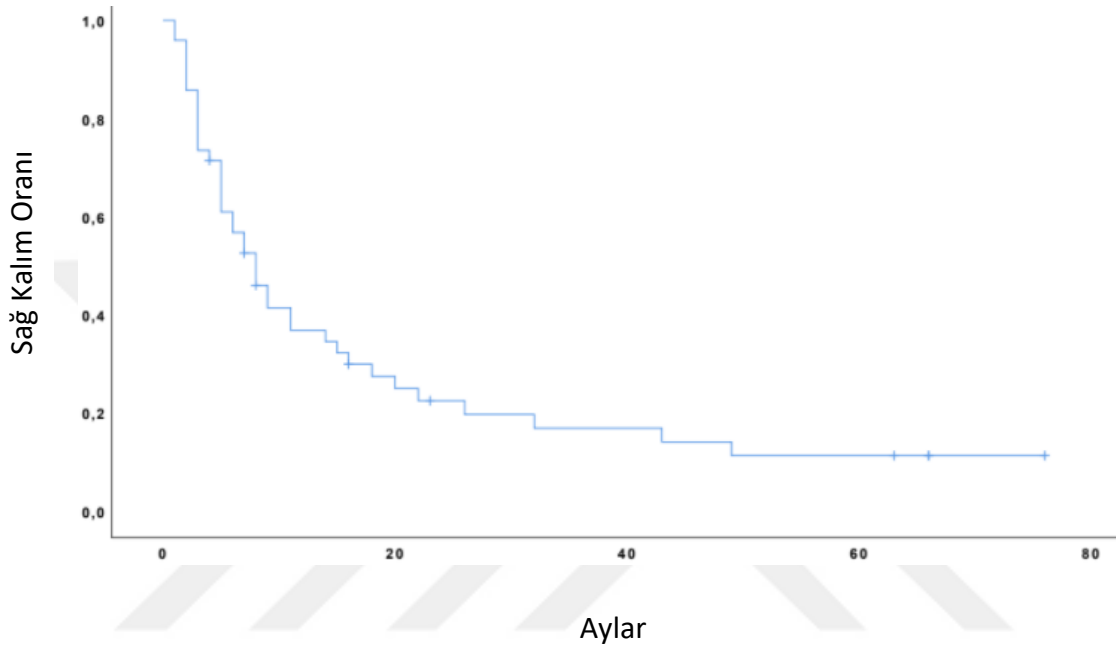


Şekil 5. Güçlü %PD-L1 Eksprese Eden Bir Olgu X200 Büyütme

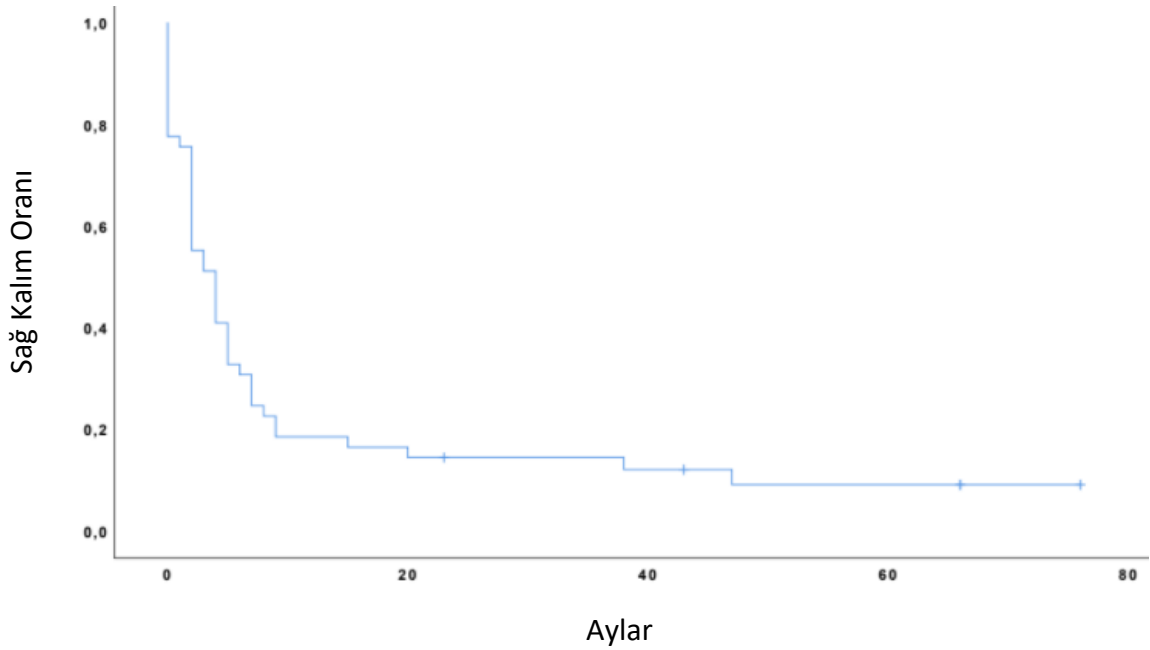


Şekil 5.Düşük %PD-L1 Eksprese Eden Bir Olgu X200

Tüm olgularda medyan genel sağ kalım 8 ay (%95 CI: 5,2 – 10,7) olarak bulunmuştur. Medyan progresyonsuz sağ kalım 4 ay (%95 CI: 2 – 5,9) şeklinde hesaplanmıştır (Şekil-7 ve Şekil-8)



Şekil 7. Tüm Olgular Genel Sağ Kalım



Şekil 8. Tüm Olgular Progresyonsuz Sağ Kalım

Genel tedavi grubu ve immünoterapi kolundaki olguların MVD sayısı, MVD paterni tümör histolojik alt tipi ve %PD-L1'e göre tedavi yanıtları tablo 5 ve tablo 6'da özetlenmiştir.

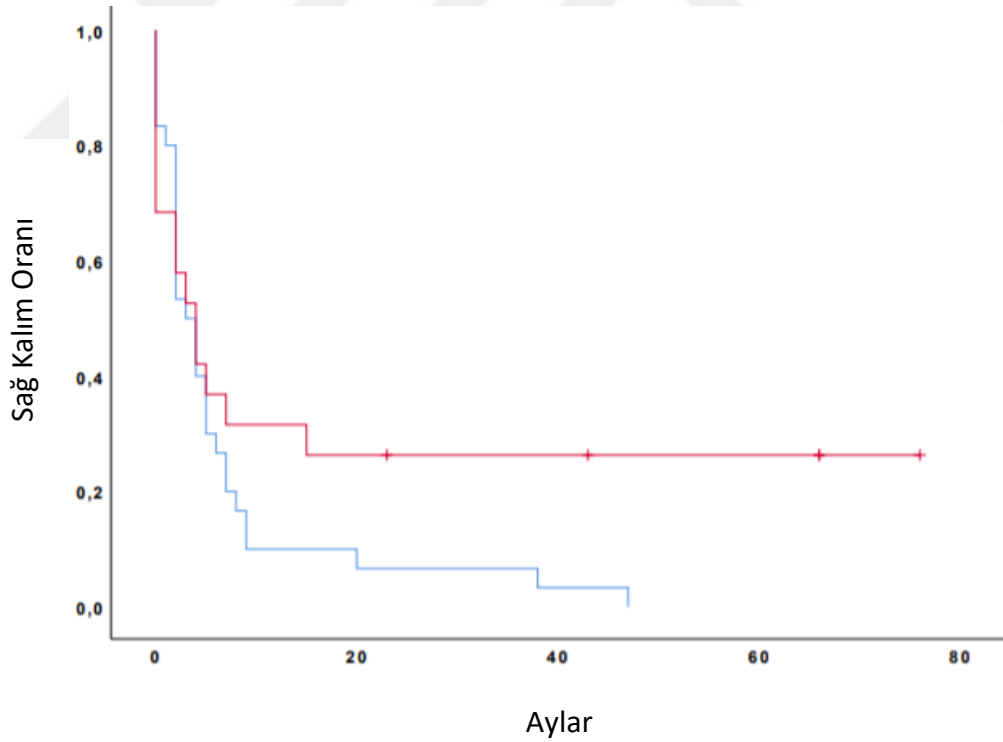
Tablo 5. Genel Tedavi Grubunda Alt Gruplara Göre GSK ve PSK Süreleri

		Medyan GSK	Medyan PSK
MDY Sayısı	>15 (n=19)	22 ay	4 ay
	≤15 (n=30)	8 ay	3 ay
p değeri		= 0,06	= 0,11
MDY Paterni	ANJ (n=34)	11 ay	4 ay
	ANJ-ALV (n=15)	6 ay	2 ay
p değeri		= 0,07	= 0,04
Histoloji	Adenokanser (n=26)	15 ay	4 ay
	Skuamöz H.K (n=19)	5 ay	2 ay
p değeri		= 0,007	= 0,034

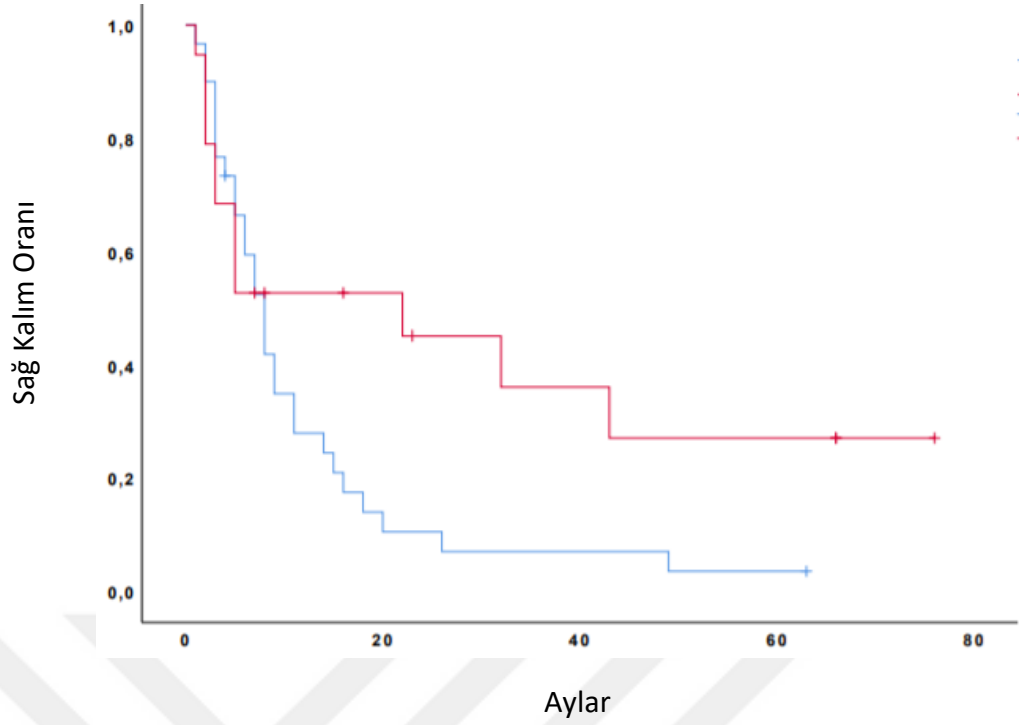
Tablo 6. İmmünoterapi Kolunda Alt Gruplara Göre GSK ve PSK Süreleri

		Medyan GSK	Medyan PSK
MDY Sayısı	>15 (n=10)	43 ay	15 ay
	≤15 (n=16)	9 ay	5 ay
p değeri		= 0,045	= 0,025
Histoloji	Adenokanser (n=14)	18 ay	4 ay
	Skuamöz H.K (n=9)	7 ay	2 ay
p değeri		= 0,005	= 0,034
%PD-L1	≥ %1 (n=10)	15 ay	7 ay
	< %1 (n=16)	11 ay	4 ay
p değeri		>0,05	>0,05

Olguların mikrodamar yoğunluğuna göre genel sağ kalım ve progresyonsuz sağ kalım süreleri hesaplanmıştır. MDY ≤ 15 olan 30 hastanın tamamında progresyon görülmüştür. MDY > 15 olan 19 hastanın 14'ünde progresyon gözlenmiştir. Medyan progresyonsuz sağ kalım MDY > 15 olgular için 4 ay (%95 CI: 1,18 – 6,81) MDY ≤ 15 olan olgular için 3 ay (%95 CI: 1,65 – 4,34) bulunmuştur. Long rank analizi ile $p=0,11$ bulunmuştur. Genel sağ kalım analizlerinde MDY ≤ 15 olan 30 hastanın 28'inin vefat ettiği, >15 olan grupta ise 12'sinin vefat ettiği görülmüştür. Medyan genel sağ kalım MDY >15 grubu için 22 ay (%95 CI: 0,8 – 43,1), MDY ≤ 15 olanlar için 8 ay (%95 CI: 5,9 – 10) olarak bulunmuştur. Long rank analizi ile $p=0,06$ hesaplanmıştır. MDY'ye göre analiz edilen iki grubun progresyonsuz sağ kalım ve genel sağ kalım süreleri şekil 9 ve şekil 10'da gösterilmiştir.

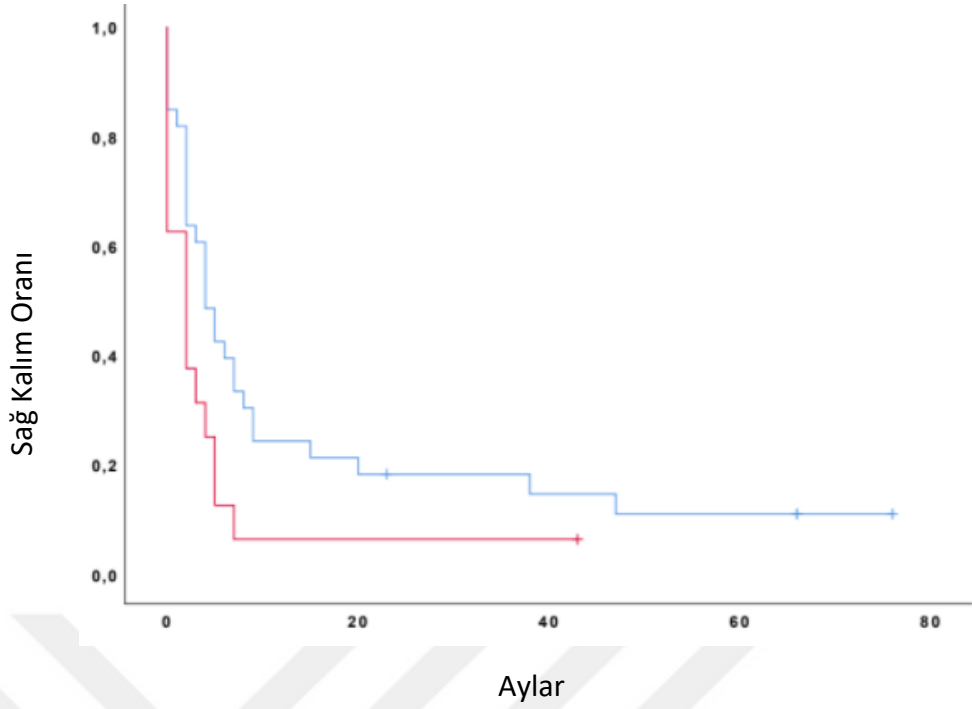


Şekil 9. MDY ≤ 15 ile >15 olan hastaların progresyonsuz sağ kalımlarının Kaplan-Meier eğrisi (Kırmızı Çizgi: MDY > 15 , Yeşil Çizgi: MDY ≤ 15)

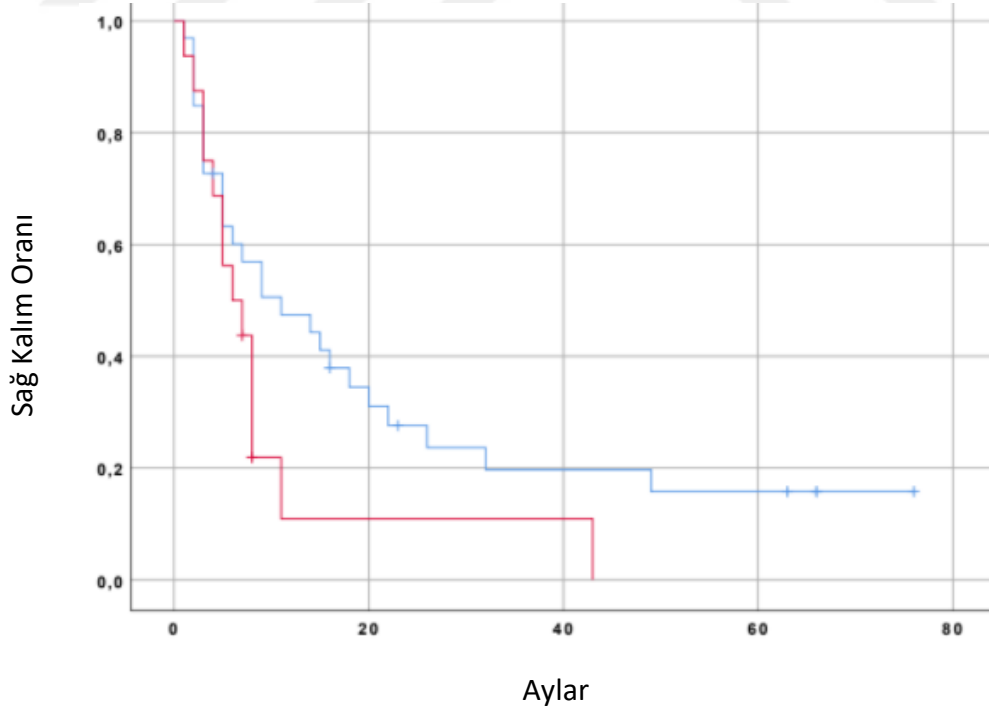


**Şekil 10. MDY ≤15 ile >15 olan hastaların genel sağ kalım eğrisi
(Kırmızı Çizgi: MDY > 15, Yeşil Çizgi: MDY ≤ 15)**

MDY paternine göre olgular anjiyogenik ve anjiyogenik-alveoler olarak sınıflandırıldı. Anjiyogenik paterndeki 34 hasta ile anjiyogenik-alveoler özellik gösteren 15 hastanın genel sağ kalım ve progresyonsuz sağ kalım süreleri hesaplandı. Medyan progresyonsuz sağ kalım anjiyogenik-alveoler patern için 2 ay (%95 CI: 0,1 – 3,89), anjiyogenik patern için 4 ay (%95 CI: 2,1 – 5,8) olarak gözlemlendi ($p= 0,04$). Medyan genel sağ kalım süresi anjiyogenik patern için 11 ay (%95 CI: 1,4 – 20,5), anjiyogenik-alveoler patern için 6 ay (%95 CI: 2,0 – 9,9) olarak hesaplandı ($p= 0,07$). Progresyonsuz sağ kalım ve genel sağ kalım ile ilgili analizler şekil-11 ve şekil-12’de verilmiştir.



Şekil 11. MDY paternine göre progresyonsuz sağ kalım analizi (Mavi Çizgi:Anjiyogenik, Kırmızı Çizgi: Anjiyogenik-Alveoler)



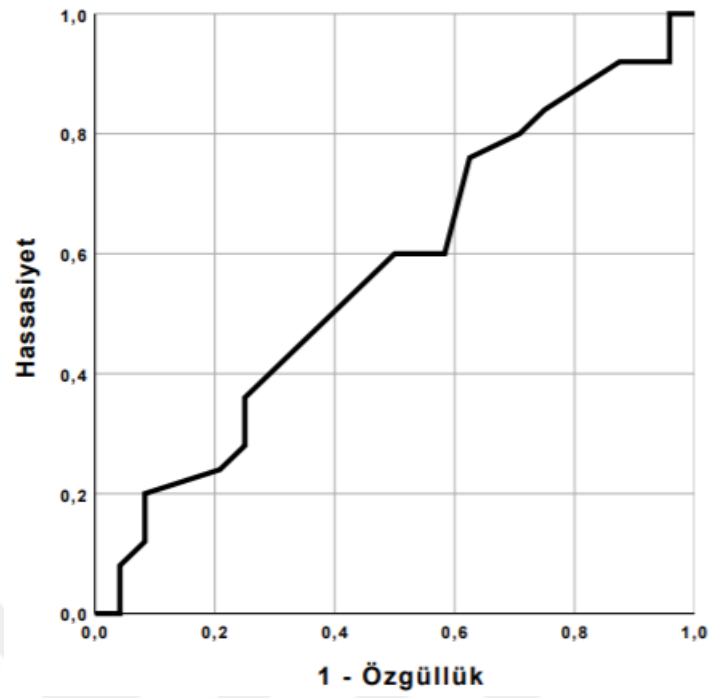
Şekil 12. MDY Paternine Göre Genel Sağ Kalım Analizi (Mavi Çizgi:Anjiyogenik, Kırmızı Çizgi: Anjiyogenik-Alveoler)

İmmünoterapi ve kemoterapi kolundaki olguların RECIST kriterlerine göre yanıtları tablo-7’de özetlenmiştir

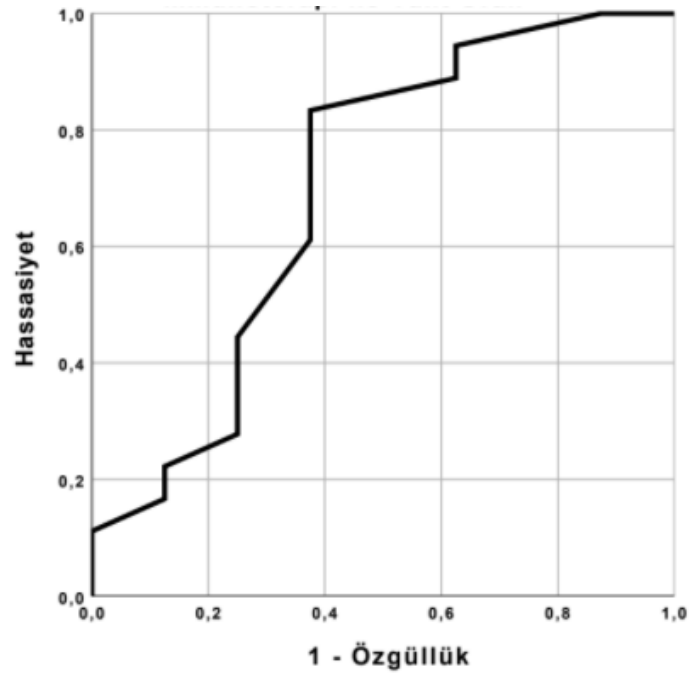
Tablo 7. Her İki Terapi Kolunda Tedavi Yanıtı Değerlendirmesi

RECIST Kriterleri	İmmünoterapi (n=26)	Kemoterapi (n=23)
Tama Yakın Yanıt	%11 (n=3)	Yok
Parsiyel Yanıt	%38 (n=10)	%13 (n=3)
Stabil Hastalık	%19 (n=5)	%17 (n=4)
Tüm Yanıt Oranı	%68 (n=18)	%30 (n=7)

MDY sayısının genel tedavi yanıtı ve immünoterapi yanıtı ile ilişkisinin belirlenmesi amacıyla ROC analizi yapılmıştır. Eğri altında kalan alan genel tedavi için 0,56; immünoterapi yanıtı açısından 0,69 bulunmuştur (%95 CI: 0,45 – 0,94, p=0.11). İlgili ROC analiz grafikleri şekil-13 ve şekil-14’te verilmiştir.

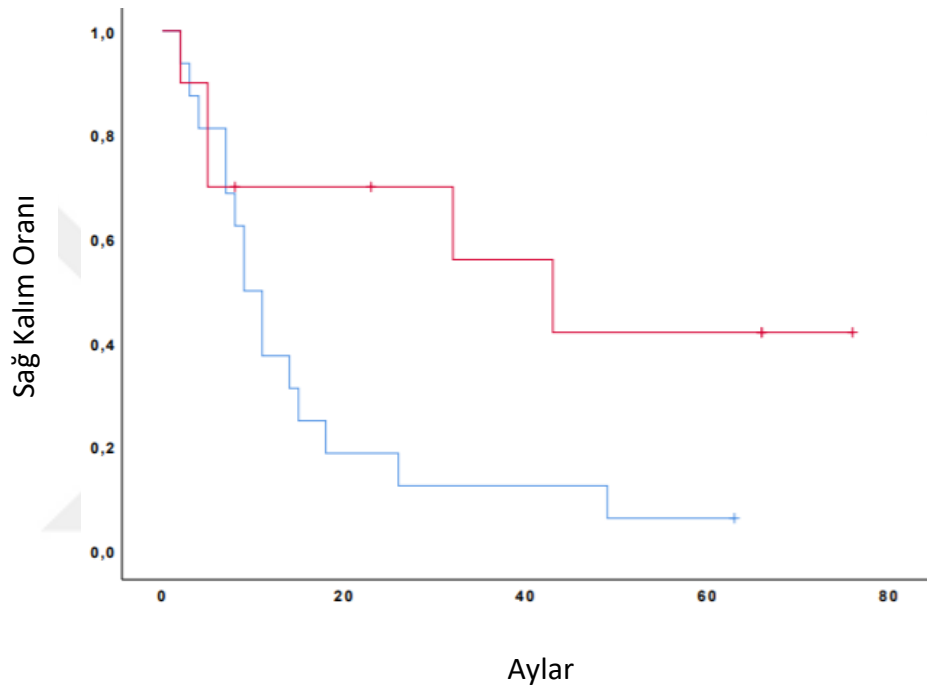


Şekil 13. Genel Tedavi Yanıtı ile MDY ilişkisi ROC Analizi

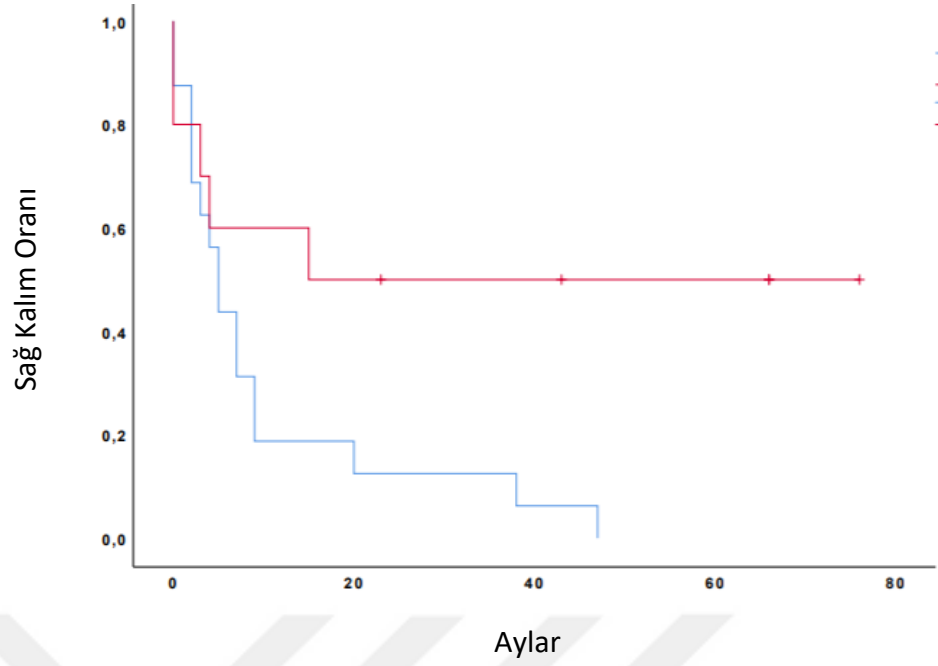


Şekil 14. İmmünoterapi Yanıtı ile MDY ilişkisi ROC Analizi

İmmünoterapi alanlarda MDY'nin genel sağ kalım ve progresyonsuz sağ kalıma etkisi araştırılmıştır. MDY > 15 olan grubun medyan genel sağ kalımı 43 ay (%95 CI: 15,8 – 70,1); MDY ≤ 15 grubun ise 9 ay (%95 CI: 6 – 11,9) bulunmuştur. MDY > 15 olan grubun medyan progresyonsuz sağ kalımı 15 ay, MDY ≤ 15 grubun ise 5 ay olarak hesaplanmıştır (şekil-15 ve şekil-16).

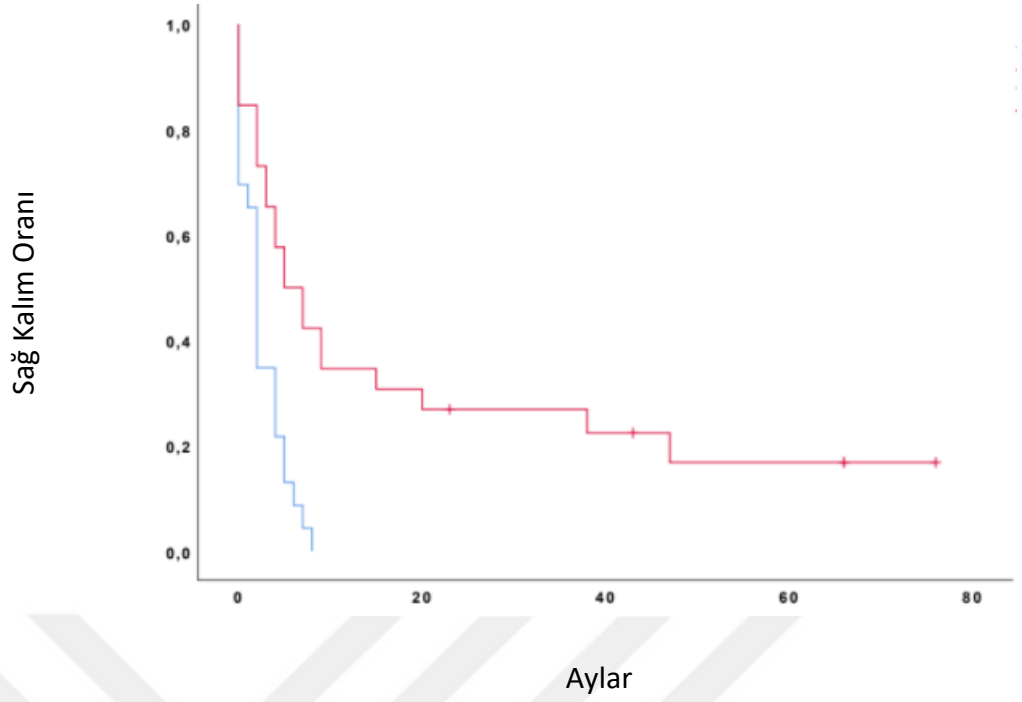


Şekil 15. İmmünoterapi grubunda MDY İle Genel Sağ Kalım İlişkisi
(Kırmızı Çizgi: MDY > 15, Mavi Çizgi: MDY ≤ 15)

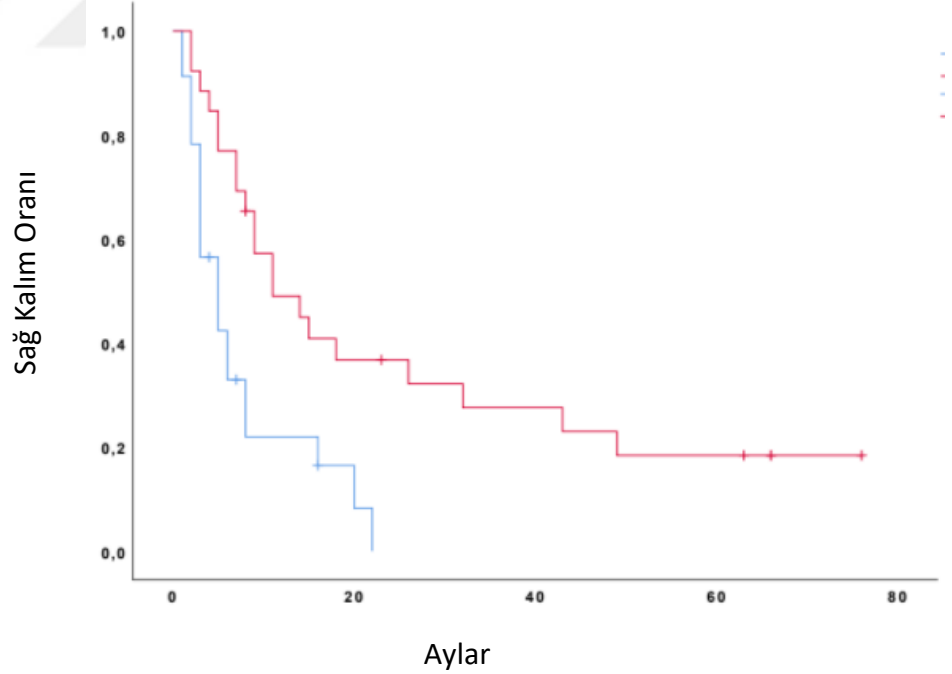


Şekil 16. İmmünoterapi Grubunda MDY İle Progresyonsuz Sağ Kalım İlişkisi
(Kırmızı Çizgi: MDY > 15, Mavi Çizgi: MDY ≤ 15)

Progresyonsuz sağ kalım ve genel sağ kalım immünoterapi kolunda kemoterapi koluna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (Progresyonsuz sağ kalım için $p < 0,001$; genel sağ kalım için $p = 0,002$) (Şekil-17 ve Şekil-18.).

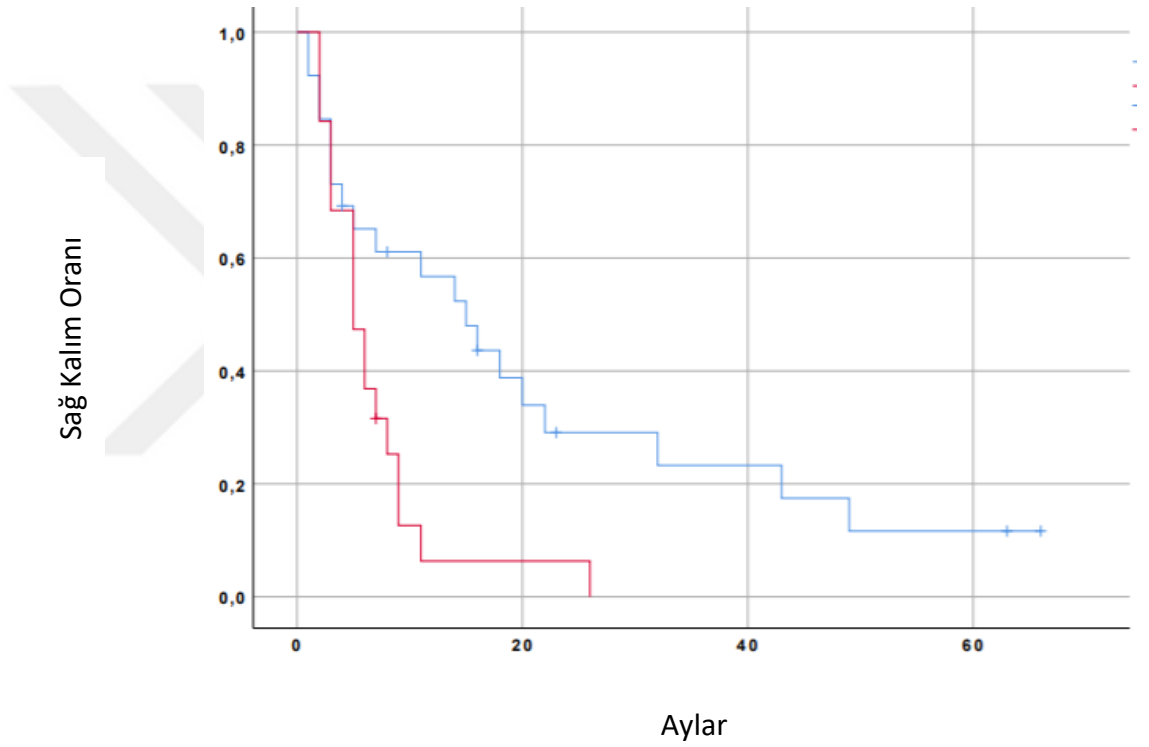


Şekil 17. Tedavi Tiplerine Göre Progresyonsuz Sağ Kalım (Mavi Çizgi: Kemoterapi, Kırmızı Çizgi: İmmünoterapi)

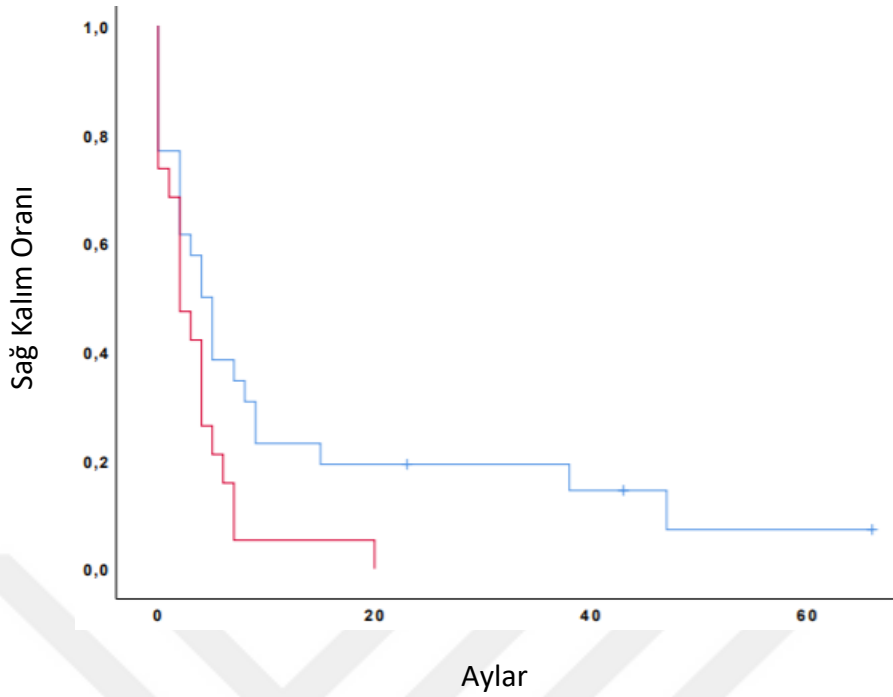


Şekil 18. Tedavi Tiplerine Göre Genel Sağ Kalım (Mavi Çizgi: Kemoterapi, Kırmızı Çizgi: İmmünoterapi)

Olguların histolojik alt tiplerine göre genel sağ kalım ve progresyonsuz sağ kalımları incelenmiş olup Kaplan-Meier eğrileri şekil-19 ve şekil-20’de sunulmuştur. Medyan genel sağ kalım adenokanser grubu için 15 ay (%95 CI: 7,4 – 22,5); skuamöz hücreli karsinom için ise 5 ay (%95 CI: 2,8 – 7,1) olarak bulunmuştur ($p=0,007$). Medyan progresyonsuz sağ kalım adenokanser kolunda 4 ay (%95 CI: 2 – 5,9); skuamöz hücreli kanser kolunda 2 ay (%95 CI: 0 – 3,7) olarak gözlenmiştir ($p=0,034$)

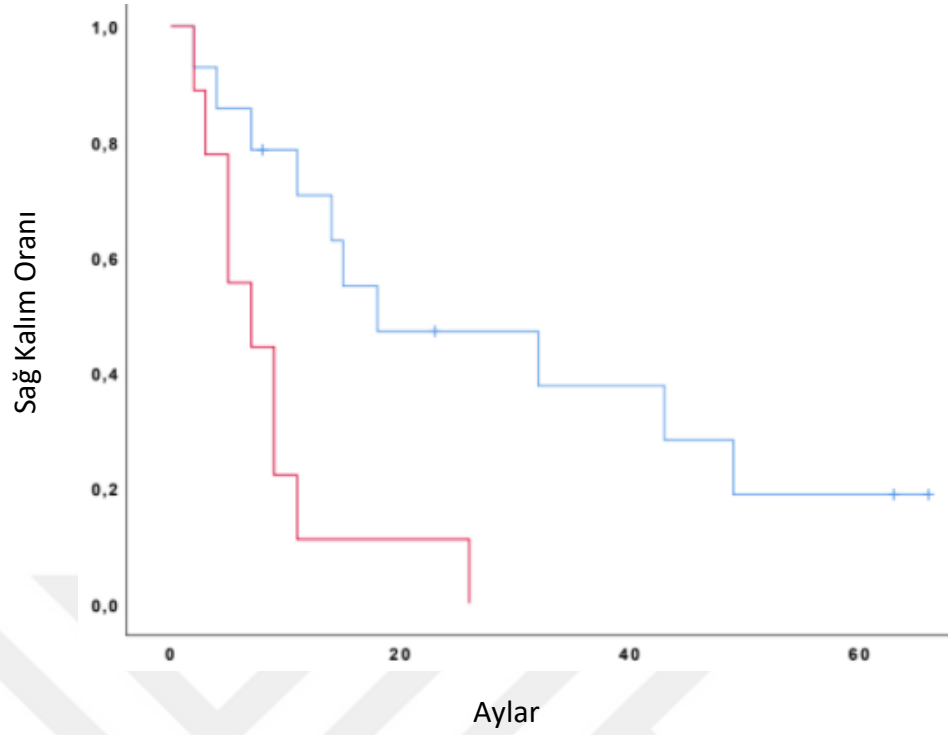


Şekil 19. Histolojik Tipe Göre Genel Sağ Kalım

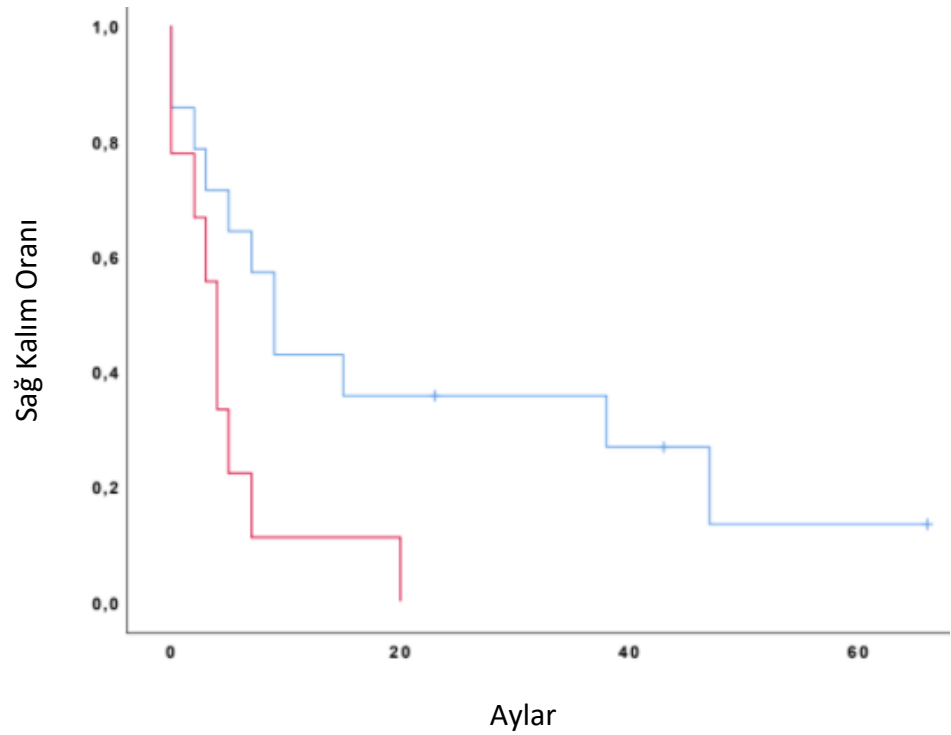


Şekil 20. Histolojik Tipe Göre Progresyonsuz Sağ Kalım
(Mavi Çizgi: Adenokanser, Kırmızı Çizgi: Skumöz Hücreli Karsinom)

İmmünoterapi kolundaki olguların histolojik alt tiplerine göre genel sağ kalım ve progresyonsuz sağ kalımları alt grup analizleri ile incelenmiştir. İmmünoterapi kolundaki olgulardan adenokanser histolojisine sahip olanların medyan genel sağ kalımı 18 ay (%95 CI: 0 – 44); skuamöz hücreli karsinom olanların medyan genel sağ kalımı 7 ay (%95 CI: 1 – 12,8) bulunmuştur ($p=0,005$). Medyan progresyonsuz sağ kalım adenokanser grubunda 4 ay (%95 CI: 2 – 5,9); skuamöz hücreli karsinomda 2 ay (%95 CI: 0 – 3,7) bulunmuştur ($p=0,034$). İlgili analizler şekil-21 ve şekil-22’de gösterilmiştir.

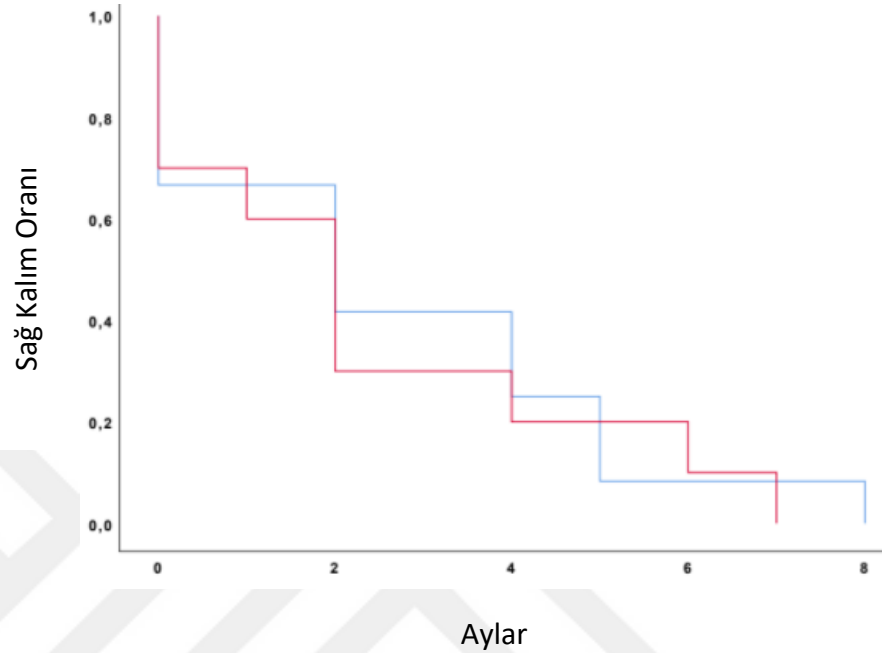


Şekil 21. İmmünoterapi alanlarda histolojik tip Genel Sağ Kalım ilişkisi
(Mavi Çizgi:Adenokarsinom Kırmızı Çizgi: Skuamöz Hücreli Karsinom)

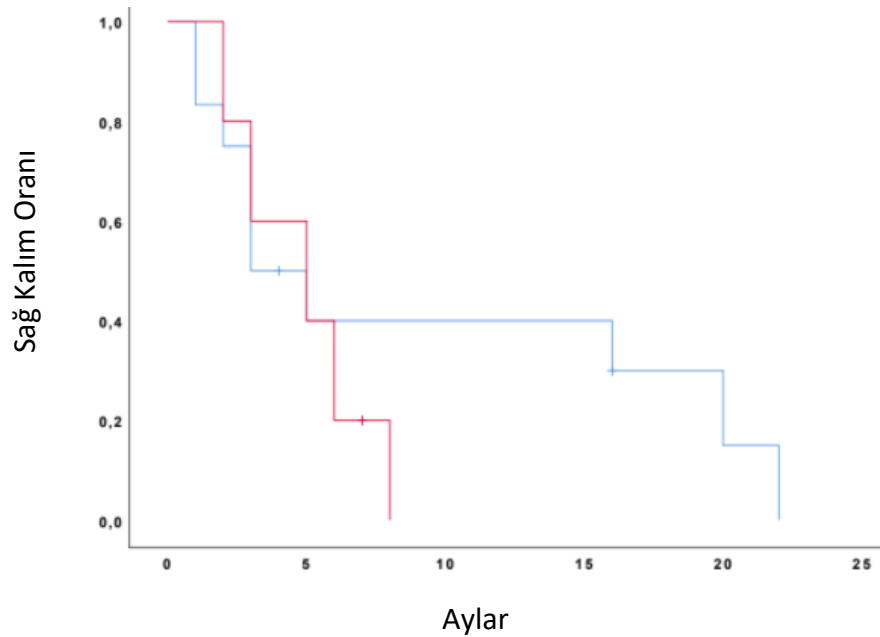


Şekil 22. İmmünoterapi alanlarda histolojik tip Progresyonsuz Sağ Kalım
(Mavi Çizgi: Adenokanser, Kırmızı Çizgi:Skuamöz Hücreli Karsinom)

Kemoterapi kolunda histolojik alt tipe göre sağ kalım analizleri yapıldığında adenokanser ve skuamöz hücreli karsinom grupları arasında progresyonsuz sağ kalım ve genel sağ kalım açısından anlamlı fark izlenmedi (Genel sağ kalım için $p=0,43$, progresyonsuz sağ kalım için $p=0,72$). (Şekil-23 ve şekil-24)

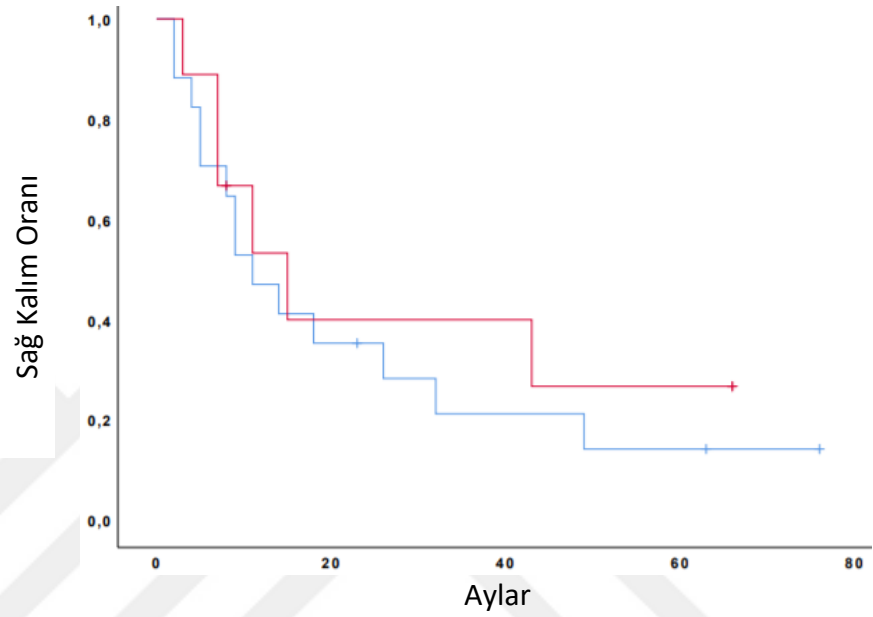


Şekil 23. KT grubunda histolojik tipe göre Progresyonsuz Sağ Kalım
(Mavi Çizgi:Adenokarsinom, Kırmızı Çizgi:Skuamöz Hücreli Karsinom)

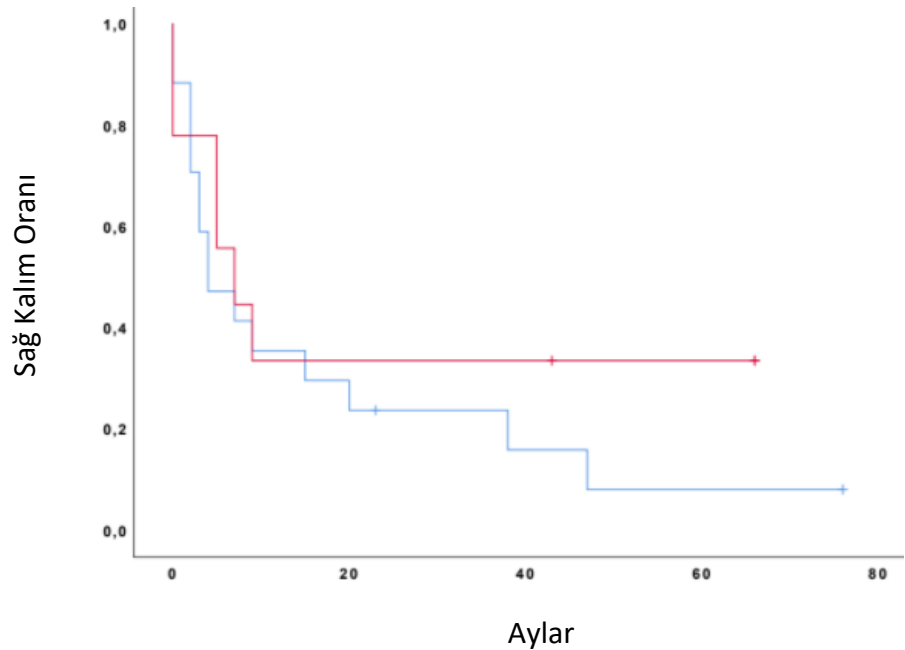


Şekil 24. KT Grubunda Histolojik Tipe Göre Genel Sağ Kalım
(Mavi Çizgi:Adenokarsinom, Kırmızı Çizgi:Skuamöz Hücreli Karsinom)

PD-L1% düzeyi ile immünoterapi açısında genel sağ kalım ve progresyonsuz sağ kalım açısından anlamlı fark gözlenmemiştir. %PD-L1 düzeyi <1 ve ≥ 1 olarak iki alt grupta incelenip medyan genel sağ kalım ≥ 1 olan grupta 15 ay, < 1 olan grupta ise 11 ay bulunmuştur. Medyan progresyonsuz sağ kalım ise ≥ 1 olan grupta 7 ay, < 1 olan grupta 4 ay olarak gözlenmiştir. (Şekil-25 ve Şekil-26)



Şekil 25. İmmünoterapi Grubunda %PD-L1 Düzeyinin GSK ilişkisi (Kırmızı Çizgi: PD-L1% ≥ 1 , Mavi Çizgi: PD-L1% < 1)



Şekil 26. İmmünoterapi Grubunda %PD-L1 Düzeyinin PSK ile ilişkisi (Kırmızı Çizgi: PD-L1% ≥ 1 , Mavi Çizgi: PD-L1% < 1)

5.TARTIŞMA

KHDAK hastalarında immünoterapi yanıtını öngörmeye PD-L1 düzeyi ve tümör mutasyon yükü gibi belirteçler kullanılmaktadır. Tümör heterojenitesi ve konağın immün sistemindeki değişkenlikler herkes için ideal ve standart bir biyobelirteç olmasını zorlaştırmaktadır. Bu durum tümör mikroçevresinin dinamik olarak değişmesi ve konak immün sistemi ile arasındaki ilişkiler ağının çok kompleks bir süreç olmasından kaynaklanmaktadır.

Anjiyogenezis, tümör dokusundaki immün hücrelerin etkinlikleri ile yakından ilişkili dinamik bir süreçtir. Küçük hücre dışı akciğer kanserinin %30-40'ında artmış VEGF düzeyi gösterilmiştir [82]. VEGF düzeyi ölçümü dışında anjiyogenezis için kullanılmış olan bir diğer yöntem mikrodamar yoğunluğu ölçümüdür. Bu amaçlar çalışmalarda birçok farklı antikor ile boyama denenmiştir.

Mikrodamar yoğunluğunu ölçmede hangi antikor ile boyama yapılması gerektiği konusunda net bir konsensüs bulunmamaktadır.

Tümör anjiyogenezisini göstermede CD34 boyamanın FVIII'e göre daha sensitif ve spesifik olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Yano ve ark.'ın çalışmasında KHDAK olgularında tümör materyalleri CD34 ve vWF antikorları ile boyanarak mikrodamar yoğunluğu ve VEGF antikorları ile immünhistokimyasal boyama yapılarak anjiyogenezis belirlenmiştir [83]. Bu çalışmada VEGF ekspresyonu da bakılmış ve düzeyinin CD34 boyanma oranı ile korele olduğu gözlenmiştir. vWF ile böyle bir korelasyon gösterilememiştir.

Mineo ve ark.'ın yaptığı bir çalışmada Evre 1B ve 2A olup operasyon geçiren 51 KHDAK hastada tümör mikrodamar yoğunluğunun CD34, CD31 ve CD105 antikorları ile ölçümünün total sağ kalım açısından predikte edici özellikleri karşılaştırılmıştır [84]. CD34 antikorları ile İHK olarak boyama sonucu yüksek bulunan değerlerin CD31 ve CD105 antikorlarına göre kötü prognozu belirlemede daha iyi bir prediktif belirteç olduğu gözlemlenmiştir.

2002'de A-P.Meert ve ark.'ın yaptıkları meta-analizde küçük hücre dışı akciğer kanserinde CD34, FVIII ve CD31 ile immünhistokimyasal boyanma sonucu belirlenen mikrodamar yoğunluğu ölçümlerinin prognostik önemi araştırılmıştır [85]. Bu amaçla

o zamana kadar yapılmış olan çalışmalar incelenerek tümör mikrodamar yoğunluğunun total yaşam süresine olan etkisi incelenmiştir. CD34, CD31 ve FVIII için hazard oranları sırası ile 1.99, 1.80 ve 1.88 bulunmuştur.

Tanaka ve ark.'ın yaptığı çalışmada ise 236 hastadan oluşan opere edilebilir KHDAK tanılı seride mikrodamar yoğunluğu belirlemede CD105 ile boyamanın CD34 ile boyamaya göre prognostik olarak daha iyi bir belirteç olduğu gösterilmiştir [86].

Teorik olarak CD34 immatür hematopoetik prekürsör hücrelerde bulunmakta olup matürasyon arttıkça ekspresyonu azalmaktadır [85]. Bunun dışında lüminal endotelyal membranda da bulunmaktadır [85]. CD34 antikorları perivasküler stromal boyanmayı da gösterebildiği için spesifitesi yüksek bir yöntemdir [85]. Bu açıdan özellikle iyi kanlanan organlarda anjiyogenezisi normal damarlanmadan ayırabilmede iyi bir seçenek olarak gözükmektedir. Öte yandan tümör dokusunda bulunan lenfatik damarların da CD34 ile pozitif boyanabilmesi sensitiviteyi düşüren bir faktördür.

Faktör VIII genellikle Weidel-Palate cisimciklerini daha yoğun içeren büyük endotelyal damarlarda bulunmaktadır. Bu durumun mikrodamar yoğunluğu ölçmedeki rolünü kısıtladığı ile ilgili görüşler mevcuttur [85]. CD31 myelomonositik hücre farklılaşmasında eksprese edildiği için birçok farklı hücre ile çapraz reaksiyon verebilmektedir; bu durumun testin güvenilirliğini azalttığı ile ilgili düşünceler bulunmaktadır [85].

KHDAK'de MDY ölçümü ile ilgili çalışmalar opere edilebilir evredeki hastalarda akciğer dokusundaki tümörde anjiyogenezisin prognostik önemi bakımından yapılmıştır. Bizim çalışmamızda metastatik hastalar dahil edildiğinden tümör içeren preparatlar minimal invaziv yöntemlerle ve hem primer dokudan hem metastazlardan elde edilmiştir. Bu durum bazı tümör parçalarında daha az "hot spot" sayılmasına ve önceki çalışmalardan daha farklı sayıda mikrodamar yoğunluğu ölçümüne neden olmuştur.

KHDAK'de artmış MDY'nin genel sağ kalım üzerine kötü prognostik etkileri gösterilmiş olup tedavi yanıtına etkisi araştırılmamıştır. Çalışmamızda artmış MDY'nin immünoterapi yanıtı üzerine olumlu etkisi gözlenmiştir. Bu durum tümör dokusunda artmış anjiyogenezisin neden olduğu "inflammation görünüm" ve tümöral immünite

hücrelerinin sitokin salgısı ile anjiyogenezi daha da arttırdığı hipotezi ile uyumlu olabilir.

Zheng ve ark. hayvan tümör modellerinde yaptıkları çalışmada immün kontrol noktası inhibitörlerinin tümör kan akımı perfüzyonunu arttırarak immün yanıtı arttırdıklarını ve Doppler USG ile tümör damar perfüzyon artışının immün yanıtı belirlemede klasik radyolojik yöntemlerle belirlenen tümör çapı değişikliklerinden daha erken bir prediktör olabileceğini belirtmişlerdir [87]. Tümör damar perfüzyon artışının CD8⁺ T lenfositlerinin tümöre ulaşmasının ve IFN-gama'nın anti tümöral modülasyonunun arttığını saptamışlardır. Tümör çevresinde lenfositlerin bölgeye ulaşmasını sağlayacak bir damarlanma ağının ve lenfositlerin endotel hücreleri ile integrasyonunun artmasının tümöre karşı gelişecek immün yanıt artışına yardımcı olabileceği bu çalışmada gösterilmiştir. Aktif bir endotel yardımıyla lenfositlerin tümör çevresine ulaşması, tümöre spesifik yanıt geliştirmesini kolaylaştırabilir.

Çalışmamızda MDY paterni ile ilgili alveoler komponenti olan alt tipin daha kötü bir progresyonsuz sağ kalım ve genel sağ kalım süresine sahip olduğu görüldü. Bu sonuç Offersen ve ark.'ın yaptığı çalışmadaki sonuçlarla uyumlu değildir. Söz edilen çalışmada alveoler veya alveoler ve anjiyogenik patern gösteren olguların sadece anjiyogenik patern gösterenlere göre sağ kalım süresinin daha uzun olduğu gözlenmiştir [16]. Pezzella ve ark.'ın yaptığı çalışmada ise olguların anjiyogenezi paterni anjiyogenik ve alveoler tip olarak iki gruba ayrılmıştır. Alveoler patern gösteren hastalarda anjiyogenik paterne göre metastaz olasılığının istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksek olduğu ve hastalıklı sağ kalım üzerine olumsuz etkilerinin alveoler olmayanlara göre daha belirgin olduğu gözlenmiştir [88].

Çalışmamızda gözlenen bir diğer önemli sonuç immünoterapi kolundaki olgulardan adenokanser histolojisinde olanların skumöz hücreli karsinom alt grubuna göre progresyonsuz sağ kalım ve genel sağ kalım sürelerinin anlamlı derecede yüksek olmasıdır. İkinci basamak tedavide kemoterapi alan olgularda histolojik tipin sağ kalım üzerine etkisi saptanmamıştır. İkinci basamak tedavide Nivolumab ile Dosetakselin karşılaştırıldığı çalışmalar sadece skumöz ya da sadece skuamöz dışı küçük hücre dışı akciğer kanserli olgularda değerlendirme yapılmıştır [4,5].

Nivolumab'ın adenokanser ve skuamöz hücreli karsinomda aynı çalışmada etkinliği araştırılmamıştır. Her iki histolojinin alındığı OAK çalışmasında ise skuamöz ve non-skuamöz histolojilerin immünoterapiden aynı ölçüde yarar gördüğü gösterilmiştir [6]. Çalışmamızdaki bu sonuç olgu sayımızın azlığı nedeniyle dikkatle yorumlanmalıdır. Kemoterapi alan grupta histolojik alt tipe göre bir farklılık saptanmamıştır

Çalışmamızda %PD-L1 ekspresyonunun immünoterapinin progresyonsuz sağ kalım ve genel sağ kalım üzerindeki etkisine anlamlı bir istatistiksel fark oluşturmadığı gözlemlendi. Nivolumab'ın KHDAK'de Dosetaksel ile karşılaştırıldığı çalışmada, %PD-L1 ekspresyonunun skuamöz hücreli karsinom olgularında tedavi yanıtını etkilemediği, non skuamöz histolojideki vakalarda ise %PD-L1 ekspresyonu ile genel sağ kalım ve progresyonsuz sağ kalımın korele olduğu belirtilmiştir [4,5].

Çalışmamızda analiz edilecek hastalar en az iki sıra tedavi almış KHDAK'li olguların patoloji preparatlarının ulaşılabilirliği, materyallerin ön bakı ile MDY açısından ilgili patoloji uzmanı tarafından değerlendirilmesi esasına göre seçilmiştir. Hastalar retrospektif tarandığından birçok hastanın uygun patoloji materyaline ulaşamamıştır. Hastalar seçilirken seçim yanlılığından uzak durulmuştur. Hastaların çalışılan biyopsi materyellerinin primer tümör veya metastaz bölgesinden alınmış olması ve biyopsinin alınma zamanındaki farklılıklar da çalışmamızın sonuçlarını etkileyecek faktörlerdir

Çalışmamızla ilgili önemli bir kısıtlayıcı faktör tedaviye olan radyolojik yanıtların aynı radyoloji uzmanı tarafından değerlendirilmemesi ve sonuçların gözlemciler arası değişkenlik durumundan etkilenmiş olmasıdır.

6.SONUÇ

Çalışmamızda MVD sayımı yüksek olan grubun ikinci basamak immünoterapiye daha iyi yanıtının olduğu ancak sitotoksik kemoterapi yanıtı açısından MVD sayımı düşük olanlara göre anlamlı fark olmadığı gösterilmiştir. Bu, artmış MVD'nin tümöre karşı yanıt verecek lenfositlerin damar endoteli ile etkileşiminin artıp bu yolla tümör mikroçevresine geçişlerinin kolaylaşması ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle tümördeki MVD yoğunluğunun belirlenmesi immünolojik yanıtın belirlenmesinde bir belirteç olarak kullanılabilir. Bu durumun daha çok sayıda olguda araştırılması olgu sayımızın kısıtlılığı nedeniyle gereklidir.

Çalışmamızda adenokanser histolojisine sahip olguların sayısı skuamöz hücreli karsinom sayısı ile eşit dağılmamakla birlikte adenokanser histolojisinde olanların ikinci basamakta immünoterapiden daha fazla yarar görmüş olmaları araştırmaya açık bir konu olabilir. MDY ölçümünün histolojik alt tipe göre farklılık gösterip göstermediği de aydınlatılması gereken bir başka nokta olabilir.

7.KAYNAKLAR

- [1] https://www.cdc.gov/cancer/lung/basic_info/ [Internet] Centers for Disease Control and Prevention, Lung Cancer. (Erişim Tarihi 10 Mart 2021).
- [2] Postmus, P., K. Kerr, M. Oudkerk, S. Senan, D. Waller, J. Vansteenkiste et al. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up *Annals of Oncology*. 2017; 28: iv1-iv21.
- [3] Brunelli, A., G. Varela, M. Salati, M. F. Jimenez, C. Pompili, N. Novoa et al. Recalibration of the revised cardiac risk index in lung resection candidates. *The Annals of thoracic surgery* 2010; 90(1): 199-203.
- [4] Brahmer, J., K. L. Reckamp, P. Baas, L. Crinò, W. E. Eberhardt, E. Poddubskaya et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced squamous-cell non–small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*. 2015;373(2): 123-135.
- [5] Borghaei H, P.-A. L., Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015 Oct 22;373(17):1627-39.
- [6] Rittmeyer, A., F. Barlesi, D. Waterkamp, K. Park, F. Ciardiello, J. von Pawel et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *The Lancet*. 2017; 389(10066): 255-265.
- [7] Garon, E. B., N. A. Rizvi, R. Hui, N. Leighl, A. S. Balmanoukian, J. P. Eder et al. Pembrolizumab for the treatment of non–small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*. 2015; 372(21): 2018-2028.
- [8] Creelan, B. C. Update on immune checkpoint inhibitors in lung cancer. *Cancer Control*. 2014; 21(1): 80-89.
- [9] Bremnes, R. M., C. Camps and R. Sirera. 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(2): 143-158.
- [10] Carmeliet, P. and R. K. Jain. Principles and mechanisms of vessel normalization for cancer and other angiogenic diseases. *Nature reviews Drug discovery*. 2011; 10(6): 417-427.

- [11] Weidner, N., J. P. Semple, W. R. Welch and J. Folkman. Tumor angiogenesis and metastasis—correlation in invasive breast carcinoma. *New England Journal of Medicine*. 1991; 324(1): 1-8.
- [12] Macchiarini, P., G. Fontanini, F. Squartini, C. Angeletti and M. Hardin. Relation of neovascularisation to metastasis of non-small-cell lung cancer. *The Lancet*. 1992; 340(8812): 145-146.
- [13] Fontanini, G., S. Vignati, F. Basolo, G. Bevilacqua, M. Lucchi, A. Mussi et al. Angiogenesis as a prognostic indicator of survival in non-small-cell lung carcinoma: a prospective study. *Journal of the National Cancer Institute*. 1997; 89(12): 881-886.
- [14] Matsuyama, K., Y. Chiba, M. Sasaki, H. Tanaka, R. Muraoka and N. Tanigawa. Tumor angiogenesis as a prognostic marker in operable non-small cell lung cancer. *The Annals of thoracic surgery*. 1998; 65(5): 1405-1409.
- [15] Cox, G., R. Walker, A. Andi, W. Steward and K. J. O'Byrne. Prognostic significance of platelet and microvessel counts in operable non-small cell lung cancer. *Lung cancer*. 2000; 29(3): 169-177.
- [16] Offersen, B. V., P. Pfeiffer, S. Hamilton-Dutoit and J. Overgaard. Patterns of angiogenesis in nonsmall-cell lung carcinoma. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*. 2001; 91(8): 1500-1509.
- [17]. Molina, J. R., P. Yang, S. D. Cassivi, S. E. Schild and A. A. Adjei. Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship. *Mayo clinic proceedings, Elsevier*. 2008; 83(5): 584-594
- [18] Hackshaw, A. K., M. R. Law and N. J. Wald. The accumulated evidence on lung cancer and environmental tobacco smoke. *Bmj*. 1997; 315(7114): 980-988.
- [19] Herbst, R. S., D. Morgensztern and C. Boshoff. The biology and management of non-small cell lung cancer. *Nature*. 2018; 553(7689): 446-454.
- [20] Rami-Porta, R., H. Asamura, W. D. Travis and V. W. Rusch. Lung cancer—major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2017; 67(2): 138-155.
- [21] Artal Cortes A, Calera Urquizu L, Hernando Cubero J. Adjuvant chemotherapy in non-small cell lung cancer: state-of-the-art. *Transl Lung Cancer Res* 2015; 4: 191–197
- [22] Salazar, M. C., J. E. Rosen, Z. Wang, B. N. Arnold, D. C. Thomas, R. S. Herbst, A. et al. Association of delayed adjuvant chemotherapy with survival after lung cancer surgery *JAMA oncology* 2017; 3(5): 610-619.

- [23] Lindberg, K., J. Nyman, V. Riesenfeld Källskog, M. Hoyer, J. Å. Lund, I. Lax, P. et al. Long-term results of a prospective phase II trial of medically inoperable stage I NSCLC treated with SBRT—the Nordic experience. *Acta Oncologica*. 2015; 54(8): 1096-1104.
- [24] Auperin A, Le Pechoux C, Rolland E et al. Meta-analysis of concomitant versus sequential radiochemotherapy in locally advanced non–small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2181–2190
- [25] Hui, R., M. Özgüroğlu, A. Villegas, D. Daniel, D. Vicente et al. Patient-reported outcomes with durvalumab after chemoradiotherapy in stage III, unresectable non-small-cell lung cancer (PACIFIC): a randomised, controlled, phase 3 study. *The Lancet Oncology*. 2019; 20(12): 1670-1680.
- [26] Kerr, K. M., L. Bubendorf, M. J. Edelman, A. Marchetti, T. Mok, S. Novello, K. et al. Second ESMO consensus conference on lung cancer: pathology and molecular biomarkers for non-small-cell lung cancer. *Annals of Oncology*. 2014; 25(9): 1681-1690.
- [27] Planchard, D., S. Popat, K. Kerr, S. Novello, E. Smit, C. Faivre-Finn et al. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2018; 29: iv192-iv237.
- [28] Mok, T. S., Y.-L. Wu, S. Thongprasert, C.-H. Yang, D.-T. Chu, N. Saijo et al. Gefitinib or carboplatin–paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *New England Journal of Medicine*. 2009; 361(10): 947-957.
- [29] Rosell, R., E. Carcereny, R. Gervais, A. Vergnenegre, B. Massuti, E. Felip et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial." *The Lancet Oncology*. 2012; 13(3): 239-246.
- [30] Soria, J.-C., Y. Ohe, J. Vansteenkiste, T. Reungwetwattana, B. Chewaskulyong, K. H. Lee et al. Osimertinib in untreated EGFR-mutated advanced non–small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*. 2018; 378(2): 113-125.
- [31] Soria, J.-C., D. S. Tan, R. Chiari, Y.-L. Wu et al. First-line ceritinib versus platinum-based chemotherapy in advanced ALK-rearranged non-small-cell lung cancer (ASCEND-4): a randomised, open-label, phase 3 study. *The Lancet*. 2017; 389(10072): 917-929.
- [32] Camidge, D. R., Y.-J. Bang, E. L. Kwak, A. J. Iafrate et al. Activity and safety of crizotinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer: updated results from a phase 1 study. *The Lancet Oncology*. 2012; 13(10): 1011-1019.
- [33] Peters, S., D. R. Camidge, A. T. Shaw, S. Gadgeel, J. S. Ahn et al. Alectinib versus crizotinib in untreated ALK-positive non–small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*. 2017; 377(9): 829-838.

- [34] Mazières, J., G. Zalcman, L. Crinò, P. Biondani et al. Crizotinib therapy for advanced lung adenocarcinoma and a ROS1 rearrangement: results from the EUROS1 cohort. *Journal of Clinical Oncology*. 2015; 33(9): 992-999.
- [35] Schiller, J. H., D. Harrington, C. P. Belani, C. Langer et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*. 2002; 346(2): 92-98.
- [36] Pujol, J.-L., F. Barlesi and J.-P. Daurès. Should chemotherapy combinations for advanced non-small cell lung cancer be platinum-based? A meta-analysis of phase III randomized trials. *Lung Cancer*. 2006;51(3): 335-345.
- [37] Wozniak, A. J., J. J. Crowley, S. P. Balcerzak, G. R. Weiss et al. Randomized trial comparing cisplatin with cisplatin plus vinorelbine in the treatment of advanced non-small-cell lung cancer: a Southwest Oncology Group study. *Journal of Clinical Oncology*. 1998; 16(7): 2459-2465.
- [38] Buchbinder, E. I. and A. Desai. CTLA-4 and PD-1 pathways: similarities, differences, and implications of their inhibition. *American Journal of Clinical Oncology*. 2016; 39(1): 98.
- [39] Keir, M. E., M. J. Butte, G. J. Freeman and A. H. Sharpe. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu. Rev. Immunol.* 2008; 26: 677-704.
- [40] Francisco, L. M., V. H. Salinas, K. E. Brown, V. K. Vanguri et al. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. *Journal of Experimental Medicine*. 2009; 206(13): 3015-3029.
- [41] Medina, P. J. and V. R. Adams. PD-1 pathway inhibitors: immuno-oncology agents for restoring antitumor immune responses. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 2016; 36(3): 317-334.
- [42] Herbst, R. S., P. Baas, D.-W. Kim, E. Felip, J. L. Pérez-Gracia, J.-Y. Han et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *The Lancet*. 2016; 387(10027): 1540-1550.
- [43] Horn, L., A. S. Mansfield, A. Szczesna, L. Havel, M. Krzakowski, M. J. Hochmair, et al. First-line atezolizumab plus chemotherapy in extensive-stage small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*. 2018; 379(23): 2220-2229.
- [44] Gandhi, L., D. Rodríguez-Abreu, S. Gadgeel, E. Esteban, E. Felip, F. De Angelis, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy in metastatic non-small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*. 2018; 378(22): 2078-2092.

- [45] Hellmann, M. D., T.-E. Ciuleanu, A. Pluzanski, J. S. Lee, G. A. Otterson, C. Audigier-Valette et al. Nivolumab plus ipilimumab in lung cancer with a high tumor mutational burden. *New England Journal of Medicine*. 2018; 378(22): 2093-2104.
- [46] Ettinger, D. S., D. E. Wood, W. Akerley, L. A. Bazhenova, H. Borghaei, D. R. Camidge et al. NCCN guidelines insights: non–small cell lung cancer, version 4.2016. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2016; 14(3): 255-264.
- [47] Folkman, J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *New England Journal of Medicine*. 1971; 285(21): 1182-1186.
- [48] Sullivan, R. and C. H. Graham. Hypoxia-driven selection of the metastatic phenotype. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2007; 26(2): 319-331.
- [49] Shinkaruk, S., M. Bayle, G. Lain and G. Deleris. Vascular endothelial cell growth factor (VEGF), an emerging target for cancer chemotherapy. *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents*. 2003; 3(2): 95-117.
- [50] De Vries, C., J. A. Escobedo, H. Ueno, K. Houck, N. Ferrara and L. T. Williams. The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor. *Science*. 1992; 255(5047): 989-991.
- [51] Millauer, B., S. Witzmann-Voos, H. Schnürch, R. Martinez, N. P. H. Møller, W. Risau et al. High affinity VEGF binding and developmental expression suggest Flk-1 as a major regulator of vasculogenesis and angiogenesis. *Cell*. 1993; 72(6): 835-846.
- [52] Ferrara, N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocrine reviews*. 2004; 25(4): 581-611.
- [53] Voron, T., O. Colussi, E. Marcheteau, S. Pernot, M. Nizard, A.-L. Pointet et al. VEGF-A modulates expression of inhibitory checkpoints on CD8⁺ T cells in tumors. *Journal of Experimental Medicine*. 2015; 212(2): 139-148.
- [54] Greenberg, J. I., D. J. Shields, S. G. Barillas, L. M. Acevedo, E. Murphy, J. Huang et al. A role for VEGF as a negative regulator of pericyte function and vessel maturation. *Nature*. 2008; 456(7223): 809-813.
- [55] Moghaddam, A., H.-T. Zhang, T. Fan, D.-E. Hu, V. C. Lees, H. Turley et al. Thymidine phosphorylase is angiogenic and promotes tumor growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1995; 92(4): 998-1002.
- [56] Majmundar, A. J., W. J. Wong and M. C. Simon. Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress. *Molecular cell*. 2010; 40(2): 294-309.
- [57] Albini, A., A. Bruno, D. M. Noonan and L. Mortara. Contribution to tumor angiogenesis from innate immune cells within the tumor microenvironment: implications for immunotherapy. *Frontiers in immunology*. 2018; 9: 527.

- [58] Sica, A. and V. Bronte. Altered macrophage differentiation and immune dysfunction in tumor development. *The Journal of Clinical Investigation*. 2007; 117(5): 1155-1166.
- [59] Mantovani, A., F. Marchesi, A. Malesci, L. Laghi and P. Allavena. Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2017; 14(7): 399.
- [60] Noy, R. and J. W. Pollard. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy. 2014; *Immunity* 41(1): 49-61.
- [61] Fridlender, Z. G., J. Sun, S. Kim, V. Kapoor, G. Cheng, L. Ling, G. S. Worthen et al. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF- β : "N1" versus "N2" TAN. *Cancer Cell*. 2009; 16(3): 183-194.
- [62] Shojaei, F., X. Wu, C. Zhong, L. Yu, X.-H. Liang, J. Yao et al. Bv8 regulates myeloid-cell-dependent tumour angiogenesis. *Nature*. 2007; 450(7171): 825-831.
- [63] Kujawski, M., M. Kortylewski, H. Lee, A. Herrmann, H. Kay and H. Yu. Stat3 mediates myeloid cell-dependent tumor angiogenesis in mice. *The Journal of Clinical Investigation*. 2008; 118(10): 3367-3377.
- [64] Mjösberg, J. and H. Spits. Human innate lymphoid cells. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2016; 138(5): 1265-1276.
- [65] Van Beek, J. J., A. W. Martens, G. Bakdash and I. J. M. De Vries. Innate lymphoid cells in tumor immunity. *Biomedicines*. 2016; 4(1): 7.
- [66] Zeng, D.-Q., Y.-F. Yu, Q.-Y. Ou, X.-Y. Li, R.-Z. Zhong, C.-M. Xie et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes for clinical therapeutic research in patients with non-small cell lung cancer. *Oncotarget*. 2016; 7(12): 13765.
- [67] Slaney, C. Y., M. H. Kershaw and P. K. Darcy. Trafficking of T cells into tumors. *Cancer Research*. 2014; 74(24): 7168-7174.
- [68] Groom, J. R. and A. D. Luster. CXCR3 ligands: redundant, collaborative and antagonistic functions. *Immunology and cell biology*. 2011; 89(2): 207-215.
- [69] Griffioen, A. W., C. A. Damen, S. Martinotti, G. H. Blijham and G. Groenewegen. Endothelial intercellular adhesion molecule-1 expression is suppressed in human malignancies: the role of angiogenic factors. *Cancer Research*. 1996; 56(5): 1111-1117.
- [70] Motz, G. T., S. P. Santoro, L.-P. Wang, T. Garrabrant, R. R. Lastra, I. S. Hagemann et al. Tumor endothelium FasL establishes a selective immune barrier promoting tolerance in tumors. *Nature Medicine*. 2014; 20(6): 607-615.

- [71] Kim, J. and D. S. Chen. Immune escape to PD-L1/PD-1 blockade: seven steps to success (or failure). *Annals of Oncology*. 2016; 27(8): 1492-1504.
- [72] Chen, D. S. and I. Mellman. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity*. 2013; 39(1): 1-10.
- [73] Johnston, R. J., L. Comps-Agrar, J. Hackney, X. Yu, M. Huseni, Y. Yang et al. The immunoreceptor TIGIT regulates antitumor and antiviral CD8⁺ T cell effector function. *Cancer Cell*. 2014; 26(6): 923-937.
- [74] Baginska, J., E. Viry, J. Paggetti, S. Medves, G. Berchem, E. Moussay et al. The critical role of the tumor microenvironment in shaping natural killer cell-mediated anti-tumor immunity. *Frontiers in immunology*. 2013; 4: 490.
- [75] Chen, D. S., B. A. Irving and F. S. Hodi. Molecular pathways: next-generation immunotherapy—inhibiting programmed death-ligand 1 and programmed death-1. *Clinical cancer research*. 2012; 18(24): 6580-6587.
- [76] Keir, M. E., M. J. Butte, G. J. Freeman and A. H. Sharpe. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu. Rev. Immunol.* 2008; 26: 677-704.
- [77] Erfani, N., S. M. Mehrabadi, M. A. Ghayumi, M. R. Haghshenas, Z. Mojtahedi, A. Ghaderi et al. Increase of regulatory T cells in metastatic stage and CTLA-4 over expression in lymphocytes of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung cancer*. 2012;77(2): 306-311.
- [78] Hegde, P. S., V. Karanikas and S. Evers. The where, the when, and the how of immune monitoring for cancer immunotherapies in the era of checkpoint inhibition. *Clinical Cancer Research*. 2016; 22(8): 1865-1874.
- [79] Ghiringhelli, F., P. E. Puig, S. Roux, A. Parcellier, E. Schmitt, E. Solary et al. Tumor cells convert immature myeloid dendritic cells into TGF- β -secreting cells inducing CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cell proliferation. *The Journal of experimental medicine*. 2005; 202(7): 919-929.
- [80] Prelaj, A., R. Tay, R. Ferrara, N. Chaput, B. Besse and R. Califano. Predictive biomarkers of response for immune checkpoint inhibitors in non-small-cell lung cancer. *European journal of cancer*. 2019; 106: 144-159.
- [81] Holmgaard, R. B., D. Zamarin, D. H. Munn, J. D. Wolchok and J. P. Allison. Indoleamine 2, 3-dioxygenase is a critical resistance mechanism in antitumor T cell immunotherapy targeting CTLA-4. *Journal of Experimental Medicine*. 2013; 210(7): 1389-1402.
- [82] Barr, M. P., S. G. Gray, K. Gately, E. Hams, P. G. Fallon, A. M. Davies et al. Vascular endothelial growth factor is an autocrine growth factor, signaling through neuropilin-1 in non-small cell lung cancer. *Molecular cancer*. 2015; 14(1): 1-16.

[83] Yano, T., S. Tanikawa, T. Fujie, M. Masutani and T. Horie. Vascular endothelial growth factor expression and neovascularisation in non-small cell lung cancer. *European Journal of Cancer*. 2000; 36(5): 601-609.

[84] Mineo, T., V. Ambrogi, A. Baldi, C. Rabitti, P. Bollero, B. Vincenzi et al. Prognostic impact of VEGF, CD31, CD34, and CD105 expression and tumour vessel invasion after radical surgery for IB–IIA non-small cell lung cancer. *Journal of clinical pathology*. 2004; 57(6): 591-597.

[85] Meert, A.-P., M. Paesmans, B. Martin, P. Delmotte, T. Berghmans, J.-M. Verdebout et al. The role of microvessel density on the survival of patients with lung cancer: a systematic review of the literature with meta-analysis. *British Journal of Cancer*. 2002; 87(7): 694-701.

[86] Tanaka, F., Y. Otake, K. Yanagihara, Y. Kawano, R. Miyahara, M. Li et al. Evaluation of angiogenesis in non-small cell lung cancer: comparison between anti-CD34 antibody and anti-CD105 antibody. *Clinical Cancer Research*. 2001; 7(11): 3410-3415.

[87] Zheng, X., Z. Fang, X. Liu, S. Deng, P. Zhou, X. Wang et al. Increased vessel perfusion predicts the efficacy of immune checkpoint blockade. *The Journal of Clinical Investigation*. 2018; 128(5): 2104-2115.

[88] Pezzella, F., U. Pastorino, E. Tagliabue, S. Andreola, G. Sozzi, G. Gasparini et al. Non-small-cell lung carcinoma tumor growth without morphological evidence of neo-angiogenesis. *The American journal of pathology*. 1997; 151(5): 1417.