

T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KÜÇÜK HÜCRE DIŞI AKCİĞER KANSERLERİ TANISINDA  
TÜMÖR BELİRTECİ OLARAK GRANÜLOSİT KOLONİ  
UYARAN FAKTÖR (G-CSF) VE MAKROFAJ KOLONİ UYARAN  
FAKTÖR (M-CSF) KULLANIMI

UZMANLIK TEZİ  
Dr. BURAK BAHAR

TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. BANU ÇAYCI

ANKARA  
MART 2010

T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KÜÇÜK HÜCRE DIŞI AKCİĞER KANSERLERİ TANISINDA  
TÜMÖR BELİRTECİ OLARAK GRANÜLOSİT KOLONİ  
UYARAN FAKTÖR (G-CSF) VE MAKROFAJ KOLONİ UYARAN  
FAKTÖR (M-CSF) KULLANIMI

UZMANLIK TEZİ  
Dr. BURAK BAHAR

TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. BANU ÇAYCI

ANKARA  
MART 2010

<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>ii</b>
<b>Teşekkür</b>	<b>iv</b>
<b>Kısaltmalar</b>	<b>v</b>
<b>Şekil, tablo ve grafik listeleri</b>	<b>vi</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>2</b>
<b>2.1. Akciğer kanserleri</b>	<b>2</b>
<b>2.1.1. Nedenleri</b>	<b>4</b>
<b>2.1.2. Belirti ve bulgular</b>	<b>5</b>
<b>2.1.3. Moleküler genetik ve patogenez</b>	<b>8</b>
<b>2.1.4. Tanı ve evrelendirme</b>	<b>8</b>
<b>2.1.5. Sınıflandırma</b>	<b>11</b>
<b>2.1.5.1. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK)</b>	<b>11</b>
<b>2.1.5.2. Küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK)</b>	<b>13</b>
<b>2.1.5.3. Diğer kanserler</b>	<b>13</b>
<b>2.1.6. Prognoz</b>	<b>13</b>
<b>2.2. Hematopoetik büyüme faktörleri</b>	<b>14</b>
<b>2.2.1. Granülosit koloni uyaran faktör (G-CSF)</b>	<b>15</b>
<b>2.2.1.1. Granülositler</b>	<b>17</b>
<b>2.2.1.2. Nötropeni ve G-CSF kullanımı</b>	<b>20</b>
<b>2.2.2. Makrofaj koloni uyaran faktör (M-CSF)</b>	<b>21</b>
<b>2.2.2.1. Makrofaj</b>	<b>22</b>
<b>2.3. Tümör belirteçleri</b>	<b>23</b>

2.3.1. Akciğer kanserinde tümör belirteçleri	25
3. GEREÇ ve YÖNTEM	27
3.1. Deney grupları	27
3.2. Kullanılan aletler	28
3.3. Yöntemin uygulanması	28
3.3.1. G-CSF ölçümü	29
3.3.2. M-CSF ölçümü	30
3.4. İstatistiksel değerlendirme	32
4. BULGULAR	33
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ	50
7. KAYNAKLAR	51
8. ÖZET	62
9. SUMMARY	64
10. ÖZGEÇMİŞ	66

## **Teşekkür**

Tüm hayatım boyunca beni daima destekleyen aileme teşekkürü bir borç bilirim, onlar olmasaydı bu noktada olamaz, bu tezi yazamazdım.

Gazi Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında görevli tüm hocalarıma, özellikle tez tanışmanım Doçent Doktor Banu Çaycı'ya, eğitimimde gösterdiği sabır ve bana olan inancı için teşekkür ediyor saygılarımı sunuyorum.

İyisiyle kötüsüyle dört buçuk yıl birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ediyorum, beni güzel anılarla hatırlamalarını diliyorum.

Asistanlık sırasında tanıdığım ve dostluklarının baki olduğunu bildiğim doktor arkadaşlarım Canan Yılmaz Demirtaş, Funda Güçel ve Ayşe F. Tuncel'e ayrıca teşekkür ediyorum. Onların desteklerini ömür boyu hatırlayacağım.

Dr. Burak Bahar

## **Kısaltmalar**

AFP: Alfa Feto Protein

CEA: Karsino Embriyonejik Antijen

CSF: Koloni Uyarıcı Faktör

G-CSF: Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör

GM-CSF: Granülosit-Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör

IL: İnterlökin

JAK: Janus Kinaz

KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri

KHDAK: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri

M-CSF: Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör

MAP: Mitojen Aktive Protein

MMP: Matriks Metalloproteaz

NSE: Nöron Spesifik Enolaz

PAP: Prostatik Asit Fosfataz

PI3: Fosfatidilinozitol 3-Kinaz

PKB: Protein Kinaz B

PML: Polimorfonükleer Lökosit

PSA: Prostat Spesifik Antijen

SCC-ag: Skuamöz Karsinoma Antijeni

STAT: Transkripsiyon Sinyal İletici ve Aktive Edici Yolağı

TNF- $\alpha$ : Tümör Nekroz Faktör Alfa

## **Şekil listesi**

Şekil 1. Trakeobronşial lenf düğümleri	7
Şekil 2. IL-3, GM-CSF, M-CSF ve G-CSF'nin etkileri	15
Şekil 3. G-CSF'nin moleküler yapısı	16
Şekil 4. Sinyal transdüksiyon yolları	17
Şekil 5. M-CSF'nin moleküler yapısı	21
Şekil 6. Makrofajın görevleri	22

## **Tablo listesi**

Tablo 1. Akciğer kanserli hastalarda sık görülen belirtiler	6
Tablo 2. Salınan hormon ve olası biyolojik etkisi	6
Tablo 3. Sık görülen fizik muayene bulguları	7
Tablo 4. Akciğer kanserinde ortalama sürvi	11
Tablo 5. Akciğer kanserlerinin tipleri ve sıklıkları	11
Tablo 6. KHDAK sıklığı ve sigara ile olan ilişkisi	12
Tablo 7. Nötrofil granül tipleri	19
Tablo 8. Hastaların karakteristikleri	27
Tablo 9. G-CSF kiti kutu içeriği	29
Tablo 10. M-CSF kiti kutu içeriği	31
Tablo 11. Hastaların sonuçları ve istatistiksel değerlendirme	34
Tablo 12. Sitokin ve lökosit ilişkisi	40

## **Grafik listesi**

Grafik 1. Akciğer kanserine bağlı yaşa göre ölüm oranları	3
Grafik 2. ABD'de erkeklerde sigara içimi ve akciğer kanseri korelasyonu	3
Grafik 3. Serum G-CSF standart grafiği	30
Grafik 4. Serum M-CSF standart grafiği	32
Grafik 5. Hasta ve kontrol serum ortalama G-CSF düzeyleri	33
Grafik 6. Hasta ve kontrol serum ortalama M-CSF düzeyleri	34
Grafik 7. Serum M-CSF ile serum G-CSF düzeyleri	35
Grafik 8. KHDAK hastalarının evreleri ve yüzde dağılımları	35
Grafik 9. KHDAK hastaların evreleri ve serum ortalama G-CSF düzeyleri	36
Grafik 10. KHDAK hastaların evreleri ve serum ortalama M-CSF düzeyleri	37
Grafik 11. G-CSF ve M-CSF için ROC eğrileri	38
Grafik 12. Serum sitokin düzeyleri ve sitolojik kıyaslama	39

## 1. GİRİŞ

Akciğer kanseri, kanser nedeniyle ölümlerin erkeklerde en sık, kadınlarda ise ikinci en sık nedenidir ve dünya üzerinde yılda 1,3 milyon kişinin ölümünden sorumludur (1). En sık semptomlar nefes darlığı, öksürük, öksürükle kan tükürme ve kilo kaybıdır (2). Akciğer kanserlerinin büyük çoğunluğu karsinomalardır ve epitelyum hücrelerinden köken alırlar. Akciğer kanserleri, *küçük hücreli akciğer kanseri* (KHAK) ve *küçük hücre dışı akciğer kanseri* (KHDAK) olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Akciğer kanseri, akciğer radyografisi ve bilgisayarlı tomografi (BT) kullanılarak görüntülenebilir. Kesin tanı bronkoskopi ya da BT eşliğinde yapılan biyopsiyle konulabilir. Tedavi ve prognozu belirleyen etmenler tümörün histolojik tipi, evresi ve hastanın genel durumudur. Tedavi seçenekleri cerrahi, kemoterapi ve radyoterapidir. Tedavi ile beş yıllık sağ kalım yaklaşık %14'dür (2).

Kanser belirteçleri erken tanı, tedavinin izlenmesi ve prognozun öngörülmesinde yardımcı olmaktadır. Tanı ve tedavideki yeni gelişmelere rağmen KHDAK'ın prognozu hala kötüdür. Granülosit koloni uyaran faktör (G-CSF) nötropeni tedavisi için kullanılan bir büyüme faktörüdür (3). Makrofaj koloni uyaran faktör (M-CSF) hematopoetik kök hücrelerin monosit ve makrofajlara dönüşümünü sağlayan bir sitokindir. Literatürde birçok yayında akciğer kanser hücrelerinin bu sitokinleri salgıladığı ve bunun potansiyel tümör belirteci ve prognostik faktör olabileceği üzerinde durulmuştur (4).

Biz KHDAK hastalarda, bu iki büyüme faktörünün tanısal değerinin olup olmadığını araştırdık.

## **2. GENEL BİLGİLER**

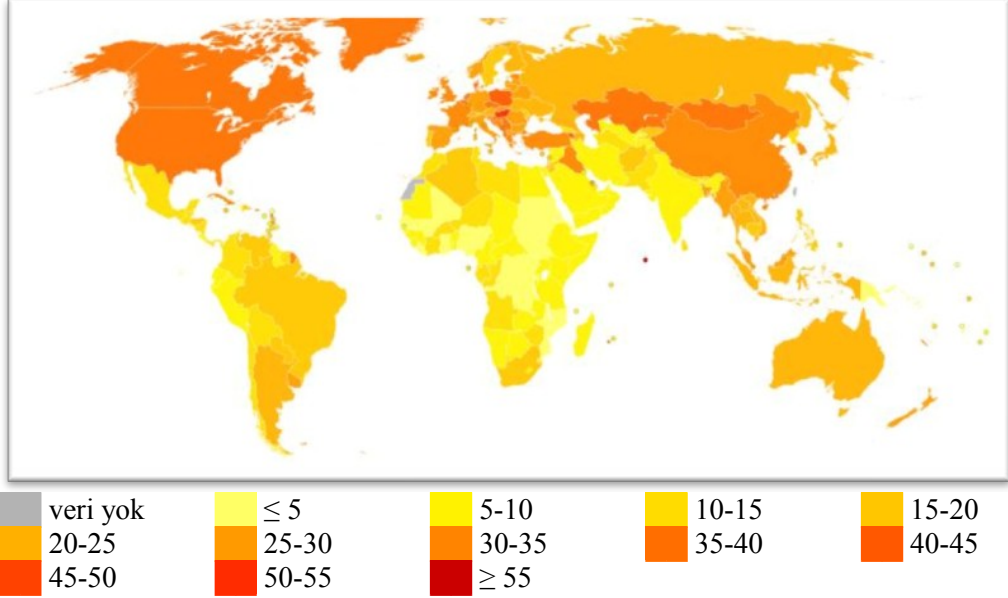
### **2.1 Akciğer kanserleri**

Akciğer kanseri, akciğer dokusundaki kontrolsüz hücre çoğalmasdır ve çevre veya uzak dokulara yayılabilen bir tümördür.

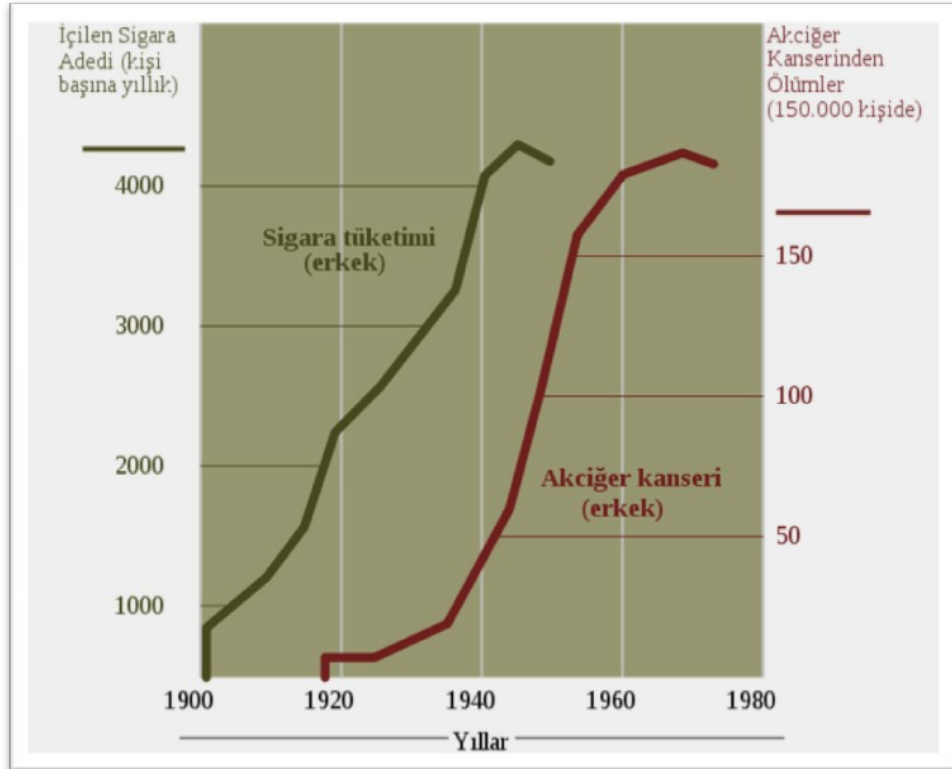
Akciğer kanseri 20.yy başında nadir görülen bir hastalık iken günümüzde dünyada kanser nedeniyle ölümlerin erkeklerde en sık, kadınlarda ikinci en sık nedenidir (1) . Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre yılda yaklaşık 1,3 milyon kişinin ölümünden sorumludur (Grafik 1) (1). Amerika Birleşik Devletlerinde ise hem erkek hem kadınlarda kanser nedeniyle ölümlerin en sık nedenidir (5). Ölüm oranı (mortalite) yüksek olan bu kanser tipinde sigara içme alışkanlığı nedeniyle bazı tipleri daha sık görülür hale gelmiş ve özellikle de kadınlarda görülme sıklığında artış olmuştur (6). Bu değişikliğin nedeni olarak kadınların sosyoekonomik durumlarının iyileşmesi gösterilebilir. Grafik 2'de Amerika Birleşik Devletleri'nde 1900 ile 1980 yılları arasında erkeklerde sigara tüketimi ve akciğer kanseri insidansı gösterilmiştir.

Türkiye'de akciğer kanseri sık karşılaşılan kanserlerdendir. Ülkemizde kanserli hasta verilerinin düzenli toplanamaması nedeniyle güvenilir bilgi kaynakları azdır. Türkiye'de her yıl tütün ile ilgili hastalıklardan 35.000 kişinin öldüğü düşünülürse yaklaşık 25.000 kişinin akciğer kanserinden öldüğü tahmin edilmektedir (7).

Grafik 1. Ükelere göre akciğer kanserine bağı yaşa göre standardize edilmiş ölüm oranları (her 100.000 kişi başına, WHO 2004 yılı verileri)



Grafik 2. ABD’de erkeklerde sigara içimi ve akciğer kanseri korelasyonu



### 2.1.1 Nedenleri

Kanserojenler, iyonize radyasyon ve viral enfeksiyonlar tüm kanserlerde olduğu gibi akciğer kanserinin de temel sebebidir. Bunlarla uzun süreli temas DNA hasarı ve sonuç olarak ta kontrolsüz hücre çoğalmasına neden olur. Akciğer kanserinin bilinen en sık nedeni uzun süreli sigara dumanına temastır (8). Sigara kullanmayanlarda (yaklaşık %15 vaka) ise suçlanan etmenler genetik faktörler, radon gazı, asbestoz ve hava kirliliğidir (9-16). Ayrıca pasif içicilik de önemlidir (17,18).

Akciğer kanseri görülmesi ve ülkedeki sigara kullanımı arasında pozitif bir korelasyon vardır. Gelişmiş ülkelerde kanser nedeniyle ölümlerin %34'ünden akciğer kanserleri sorumlu iken sigara kullanımının azalması sonucu günümüzde bu oran %28'e inmiştir. Ancak gelişmekte olan ülkelerde hem kadın hem de erkeklerde akciğer kanseri, kanser nedeniyle ölümlerin içindeki yerini korumaktadır (19). Kanser gelişme riski sigara içme süresi, günlük miktar, başlama yaşı, derin çekme ve katran miktarı ile artarken, kullanımı bırakma süresi ile de azalma göstermekte ve takiben 10-20 yıl içinde hiç içmeyenlerin düzeyine inmektedir (19).

Genetik de öne sürülen risklerin içinde yer alır. Birinci derece bir akrabasında akciğer kanseri olan bireyin riskinin 2-4 kat arttığı saptanmıştır. Bir kişinin ailesinde akciğer kanseri hikayesi var kendi de sigara kullanıyorsa kansere yakalanma riski 30 kat artmaktadır (19).

Amerika Birleşik Devletleri'nde uranyumun parçalanma ürünü olan radon gazı akciğer kanserinin %10 ile en sık ikinci nedenidir. Güvenlik sınırı

4pCi/L'dir. Sigara ile radon gazı sinerjik etki göstermektedir ve kanser riskini 1,3-1,8 oranında arttırır (19).

Asbestin diğeri ismi ak topraktır. Asbest kırsal alanda sıva ve boya yapımında, endüstride ise gemi ve otomotiv sektöründe kullanılmaktadır. Ayrıca Kapadokya'da ki peri bacalarında yer alan zeolit isimli bir mineral formu daha vardır. Asbeste maruziyet tütün kullanımı ile oluşan akciğer kanseri riskini arttırmaktadır (13). Asbest ayrıca mezotelyoma ismi verilen plevra dokusunun kanseri gelişimine neden olmaktadır.

Hava kirliliğinin akciğer kanseri insidansını arttırır. Kırsal kesimde oturanlarda akciğer kanseri kentlerde yaşayanlara oranla 1,3-2,3 kat az rastlanmaktadır (19).

Pasif içicilik sigara içen birinin dumanını inhale etmektir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar Bu tip içiciliğin kanser riskini ciddi oranda arttırdığını göstermektedir (10,11).

### **2.1.2 Belirti ve bulgular**

Akciğer ve bronş sisteminin ağrı duyusu içermemesi ve sigara kullanımında yaygın olarak karşılaşılan öksürüğün hastayı doktora yönlendirmemesi nedeniyle hastalar genellikle ileri evrelerde tıbbi yardım için başvuruda bulunmaktadırlar.

Akciğer kanserindeki bulgular; primer tümörün tipine, yerleşimine, metastazlarına ve oluşturabildiği paraneoplastik sendromlara bağlı olarak ortaya çıkar (20,21). American Thoracic Society (ATS) ve European Respiratory Society

(ERS)'nin ortak verilerine göre; öksürük %8-75, kilo kaybı %0-68, nefes darlığı (dispne) %3-60, göğüs ağrısı %20-49 ve öksürükle kan tükürme (hemoptizi) %6-35 oranlarında görülmektedir (21). Sık görülen belirtiler tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Akciğer kanserli hastalarda sık görülen belirtiler

Öksürük	Sarılık	Çarpıntı
Nefes darlığı	Cilt-cilt altı nodüller	İştahsızlık
Kan tükürme	Wheezing	Kilo kaybı
Göğüs ağrısı	Rekürren pnömoni	Halsizlik
Ses kısıklığı	Ateş	Aritmiler
Kol-omuz ağrısı	Senkop	Plevral effüzyon
Yutma güçlüğü	Baş ağrısı	Pitozis
Anemi	Kemik ağrısı	Enoftalmus

Tanı konan hastaların %10-25'inde herhangi bir semptom yoktur (20). Bu hastalarda genellikle başka nedenlerle yapılan incelemeler sırasında akciğer röntgeninde soliter pulmoner nodül saptanır.

Paraneoplastik sendrom, tümör hücrelerinden hormon veya sitokin gibi biyolojik aktif moleküllerin kana verilmesi sonucunda oluşur (22). Salınan hormonlar ve oluşan olası etki tablo 2'de verilmiştir. Paraneoplastik sendromlar KHAK'da daha fazla görülmektedir (23).

Tablo 2. Salınan hormon ve olası biyolojik etkisi

Hormon	Etki
ADH	Hiponatremi
ACTH	Cushing sendromu
Kalsitonin	Hipokalsemi
Gonadotropik hormonlar	Jinekomasti
Serotonin	Karsinoid sendrom

Diğer birçok kanser tipinde olduğu gibi akciğer kanserlerinde de in situ aşamada fizik bulgu yoktur. Tümör büyüdükçe lokal ve genel belirti ve bulgular ortaya çıkmaktadır. Hastada kronik obstrüktif akciğer hastalığı mevcutsa buna ait belirtiler olan hışıltılı nefes alma (wheezing), ronküs ve ekspiryumda uzama

saptanabilir. Tümör lenf bezlerine metastaz yaptıysa muayenede büyüyen bu bezler elle hissedilebilir. En sık hiler (%90) lenf bezleri olmak üzere bronşial (%40-60), skalen (%85) ve supraklaviküler (%15-20) metastazlara da rastlanmaktadır. Akciğerin lenfatik yolları şekil 1’de verilmiştir. Sık görülen bulgular tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3. Sık görülen fizik muayene bulguları

Wheezing	Ral	Nöropati
Ronküs	Hepatomegali	Çomak parmak
Ekspiryum uzaması	Hemiparezi	Vena kava süperior send.
Stridor	Hemipleji	Horner sendromu

Radyolojik akciğer incelemelerinde atelektazi, pnömoni ve plörezi görülebilir.

Şekil 1. Trakeobronşial lenf düğümleri; 1-Pulmoner jukstaözefagial 2-Hiler 3-Superior trakeobronşial 4-Inferior trakeobronşial 5-Paratrakeal



### **2.1.3 Moleküler genetik ve patogenezi**

Epitel hücrelerin karsinojenlere kronik teması hücre içinde bu karsinojenlerin protein, lipid ve DNA'ya bağlanmasına neden olur. Bu kronik temas hücre çoğalmasından sorumlu myc (N-myc, C-myc ve L-myc) ve ras (H-ras, K-ras ve N-ras) gibi onkogenlerin aktivasyonuna, Rb ve p53 gibi tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna yol açtığı düşünülmektedir (19). KHAK'da genellikle c-myc ve Rb, KHDAK'da ise genelde ras ve p16 genlerinde sorun saptamıştır. KHDAK'da ayrıca epidermal büyüme faktörü (EGF) reseptörünü kodlayan ERBB1 mutasyonu sık görülmektedir (24).

Kromozom 17'de bulunan p53 ve kromozom 13'de bulunan Rb geni mutasyonlarına akciğer kanserlerinin yaklaşık yarısında rastlanmaktadır (19). p53'ün görevi hücre siklusunun, DNA sentezi ve onarımının, hücre farklılaşmasının ve apoptozisin kontrolüdür (24). Rb geni ise blokaj yaparak hücre büyümesini kontrol eden bir gendir.

### **2.1.4 Tanı ve evrelendirme**

Akciğer kanseri düşünülen bir hastada ilk basamak genellikle akciğer röntgeni çekilmesidir. Bu inceleme ile nodül, mediasten genişlemesi, atelektazi, konsolidasyon veya plevral effüzyon görülebilir. Eğer hastanın akciğer röntgeni normal ama belirti ve bulgular akciğer kanserini işaret ediyorsa bronkoskopi ve/veya bilgisayarlı tomografi (BT) ile ileri inceleme yapılmalıdır. Bronkoskopi veya BT eşliğinde yapılan biyopsi genellikle tümörü tiplendirmek için kullanılır (2). Son yıllarda hem bronş içi (transbronşiyal) iğne aspirasyonu hem de deriden

(perkütan) biyopsi tekniklerinin gelişmesi ile hem santral hem de periferik tümörlere tanı konulma olasılığı yükselmiştir (6).

Akciğer kanseri en sık üst loblarda ve en sık olarak da sağ üst lob'da görülmektedir (6).

Ayırıcı tanıda akılda bulundurulması gereken tüberküloz veya pnömoni gibi enfeksiyonlar, sarkoidoz gibi inflamatuvar durumlar ve özellikle soliter pulmoner nodüldür. Soliter pulmoner nodül radyolojik incelemede saptanan sık görülen bir anomalidir. Birçok benign ve malign hastalık akciğer grafisinde bu şekilde ortaya çıkar. Benign nodülleri malign nodüllerden ayırmak için mümkün olduğunca az girişimsel tanı yolları izlenmelidir.

Bir hastanın kanser tanısı alabilmesi için patolojik incelemenin yapılması kesin gerekli olduğu unutulmamalıdır.

Tanı konulan hastaya evrelendirme yapılması tedavi biçiminin ve prognozun belirlenmesi açısından önemlidir. Akciğer kanserinde de diğer kanserlerde olduğu gibi **TNM** evrelendirmesi yaygın olarak kullanılır. (*T*) tümör büyüklüğü ve yayılımını, (*N*) lenf nodu tutulumunu ve (*M*) uzak metastazları simgelemektedir. KHAK saptanan hastalarda TNM yerine **VALG** (Veterans Administration Lung Cancer Group) evrelendirmesi kullanılabilmektedir (21).

TNM evrelendirmesi şu şekildedir (21);

**Evre 1:** Tümörün sadece akciğerin küçük bir bölümünde görülme halidir.

Evre 1A: Kanser sadece bir akciğerdedir.

Evre 1B: Kanser ya (a) akciğer içinde büyür, ya (b) akciğer ana bronşa yayılır, ya da (c) akciğeri kaplayan plevranın iç tabakasına yayılır.

**Evre 2:** Hastalık, en yakın lenf bezlerine atlamış durumdadır.

Evre 2A: Kanser, göğüste bulunduğu taraftaki lenf bezlerine yayılır

Evre 2B:Kanser ya Evre 1B'deki gibidir ve aynı taraftaki lenf bezlerine yayılmıştır veya kanser lenf bezlerine yayılmamıştır ama şunlardan bir veya daha fazlasına yayılmıştır: (a) göğüs duvarına (b) diyaframa veya (c) akciğerler arasındaki plevraya, (d) kalbin etrafındaki zara ve/veya (e) ana bronşa.

**Evre 3:** Tümör, plevra veya iki akciğer arasındaki mediasten denen boşluğa veya buradaki bezelere yayılmışsa bu durum 3. evredir.

Evre 3A: Kanser kendisiyle aynı taraftaki lenf bezlerine yayılmıştır. Ayrıca şunlardan bir veya daha fazlasına da yayılmış olabilir: (a) Göğüs duvarına (b) Diyaframa veya (c) akciğerler arasındaki plevraya, (d) kalbin etrafındaki zara (perikardiyum) ve/veya (e) ana bronşa.

Evre 3B:Kanser köprücük kemiğinin üstündeki lenf bezlerine veya göğsün karşı tarafındaki lenf bezlerine yayılmıştır ve/veya şunlardan biri veya daha fazlasına yayılmıştır: (b) kalbe, (c) aşağı vena kava ve aorta, (d) göğüs duvarına, (e) diyaframa, (f) trakeaya, (g) sternum ve yutağa (farinks). Kanser ayrıca plevra tabakaları arasındaki sıvıya da yayılmış olabilir.

**Evre 4:** Karaciğer, kemik, böbrek üstü bezi gibi uzak organlara yayılmış durumudur.

VALG evrenmesinde ise tümör göğüs kafesinin bir yarısında ise “*sınırlı*”, her iki tarafta veya göğüs kafesi dışı yayılımı varsa “*yaygın*” olarak evrelendirilir (21).

Akciğer kanserinde beklenen ortalama sürvi tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4. Akciğer kanserinde ortalama sürvi

Evre 1A	> 60 ay
Evre 1B	Yaklaşık 36 ay
Evre 2A	Yaklaşık 24 ay
Evre 2B	Yaklaşık 20 ay
Evre 3A	Yaklaşık 15 ay
Evre 3B	Yaklaşık 12 ay
Evre 4	<12 ay

### 2.1.5 Sınıflandırma

Büyük kısmı karsinoma (epitelyum hücresi kaynaklı) olan akciğer kanserleri “küçük hücreli” (%16,8) ve “küçük hücreli dışı” (%80,4) olmak üzere 2 ana histolojik gruba ayrılır (25). Bu ayırım histolojik kriterlere bağlıdır ve özellikle tedavi için önemlidir, KHDAK sıklıkla cerrahi tedaviye, KHAK ise kemoterapi ve radyoterapiye daha iyi yanıt vermektedir (3). Tablo 5’de akciğer kanseri tiplerinin sıklıkları verilmiştir.

Tablo 5. Akciğer kanserlerinin tipleri ve sıklıkları

Histolojik Tip	Sıklık (%)
KHDAK	80,4
KHAK	16,8
Karsinoid	0,8
Sarkoma	0,1
Tanımlanamayan	1,9

#### 2.1.5.1 Küçük hücreli dışı akciğer kanseri

KHDAK’nin birlikte gruplanmasının nedeni prognoz ve tedavilerinin benzer olmasıdır. Üç ana tipi vardır:

- Skuamöz hücreli karsinom (yassı hücreli karsinom)
- Adenokarsinom
- Büyük hücreli karsinom

Skuamöz hücreli karsinom erkeklerde daha çok görülür ve akciğer kanserlerinin yaklaşık yüzde 25'lik kısmını kapsar ve de sık olarak santral bronş çevresine yerleştiği için hilus ve mediastende bulunur (26). Sigara içenlerde daha sık görülmektedir. Tümörün merkezinde kavitasyon ve çevre dokuda nekroz çoğunlukla saptanır. İyi diferansiye skuamöz hücreli kanser diğer kanser tiplerine göre daha yavaş büyüme gösterir (3). Adenokarsinom akciğer kanserlerinin yaklaşık yüzde 40'ını kapsar ve kadınlarda daha sık görülür (26). Sıklıkla periferik yerleşimlidir ve sigara içmeyenlerde daha sık görülmektedir. Adenokarsinomun iki alt tipi vardır:

- Bronkialveolar karsinom

Tümör hücreleri alveolar septayı kaplamakta ve temel alveolar yapı böylelikle korunur (27).

- Spesifiye edilemeyen tip

Büyük hücreli karsinom anaplastiktir, differansiasyon yoktur, sıklıkla periferik yerleşimlidir. KHDAK sıklığı ve sigara ile olan ilişkisi tablo 6'da verilmiştir (28).

Tablo 6. KHDAK sıklığı ve sigara ile olan ilişkisi

Histolojik alt tip	KHDAK sıklığı (%)	
	Sigara içenler	Sigara içmeyenler
Skuamöz hücreli karsinom	42	33
Adenokarsinom	Adenokarsinom	39
	Bronkialveolar	4
Karsinoid	7	16
Diğer	8	6

### **2.1.5.2 Küçük hücreli akciğer kanseri**

Yulaf hücreli akciğer kanseri ismi de verilen bu grup KHDAK'a göre daha nadir görülmektedir. Genellikle primer ve sekonder bronştan kaynaklanır ve büyük boyutlara ulaşabilir (20). Nöroendokrin hormon içeren veziküller nedeniyle KHAK'da paraneoplastik sendrom birlikteliği görülmektedir (23). Kemoterapiye duyarlı olan bu tip akciğer kanserinin prognozunun kötü olma nedeni ilk tanı anında metastaz yapmıştır. KHAK sigara kullanımı ile sık birliktelik gösterir (29).

### **2.1.5.3 Diğer kanserler**

Akciğerler vücudun diğer kısımlarından kaynaklı tümörlerin sık metastaz yerleridir. Bu tümörler genellikle akciğer grafisinde genellikle yuvarlak lezyonlar olarak saptanır (30). Çocukluk çağı primer akciğer tümörleri ise plevrapulmoner blastom ve karsinoid tümördür (31).

Primer akciğer kanserleri için en sık metastaz alanları böbrek üstü bezi, karaciğer, beyin ve kemik dokusudur (3).

### **2.1.6 Prognoz**

KHDAK'da prognostik faktörler; akciğer semptomlarının varlığı, tümör tipi, evre, performans durumu ve kilo kaybı miktarıdır (32). KHAK'da ise prognostik faktörler; performans durumu, cinsiyet, evre ve karaciğer ya da merkezi sinir sistemi yayılımı olup olmamasıdır (33). Hem KHDAK hem de KHAK'ın prognozu genellikle kötüdür. KHDAK'lıların alt grupları arasında

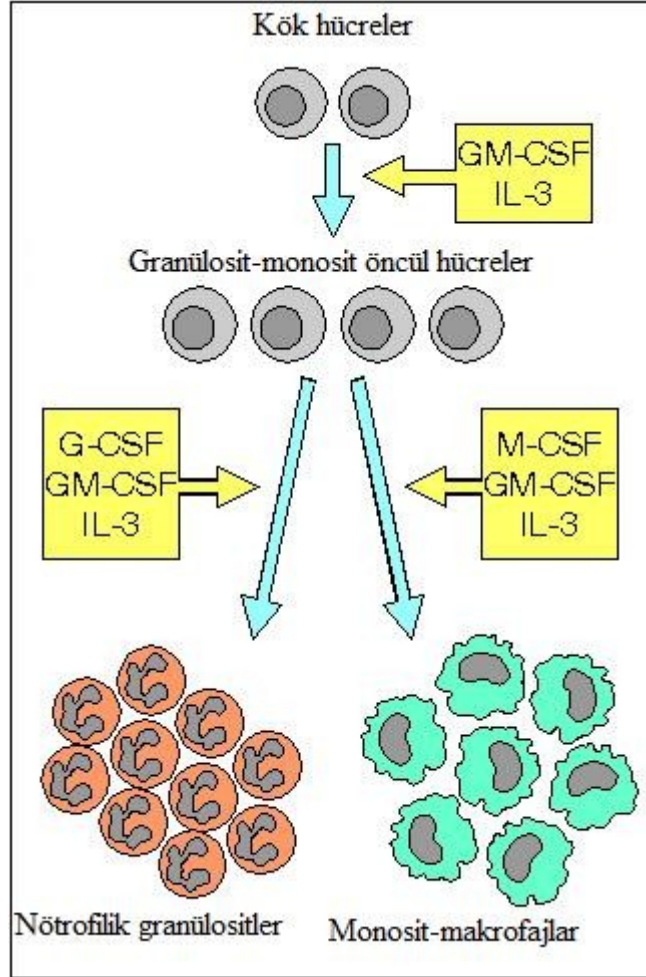
prognoz açısından fark vardır, epidermoid kanserin adenokanserden daha iyi prognozlu olduğu bildirilmiştir (34). Evre 4 KHDAK hastalarda 5 yıllık sağ kalım oranı yaklaşık %1 iken, ileri evre KHAK hastalarda 5 yıllık sağ kalım oranı %1'den azdır (8).

Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü (*National Cancer Institute*) verileri akciğer kanserinde ortalama tanı alma yaşını 70, ölüm yaşını ise 71 olarak göstermektedir (35). Erken tanı sürvi çok kısa olduğundan önem kazanmaktadır.

## **2.2 Hematopoetik büyüme faktörleri**

Hematopoez kanın hücresel kısmının oluşturulmasıdır ve tüm hücreler hematopoetik kök hücrelerden kaynaklanırlar. Kök hücrelerin olgun kan hücrelerine dönmesini uyaran faktörlere koloni uyaran faktör denmektedir ve dört tanesi izole edilip cDNA'ları klonlanarak rekombinant formları elde edilmiştir. Bunlar; interlökin-3 (IL-3), granülosit-makrofaj koloni uyaran faktör (GM-CSF), granülosit koloni uyaran faktör (G-CSF) ve makrofaj koloni uyaran faktör (M-CSF)'dir (36). Bu faktörlerin etkileri şekil 2'de gösterilmiştir.

Şekil 2. IL-3, GM-CSF, M-CSF ve G-CSF'nin hematopoetik kök hücreler üzerine etkileri.

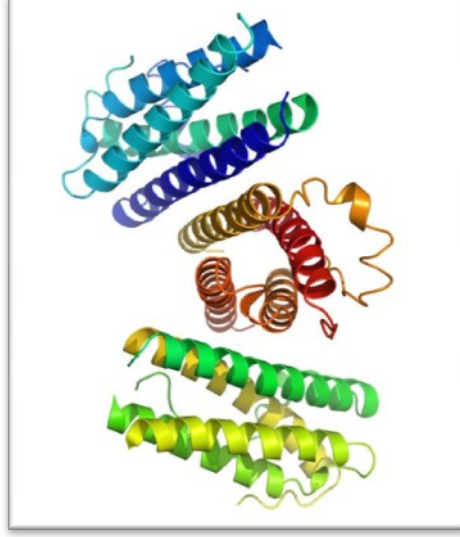


Malın tümörü olan hastalarda bazen enfeksiyon olmaksızın lökositoz saptanabilmektedir (37). Bu vakalarda CSF'lerin bozulmuş üretimi ya da CSF benzeri moleküllerin kana salındığı düşünölmektedir (8,38-40).

### 2.2.1 Granülosit koloni uyaran faktör (G-CSF)

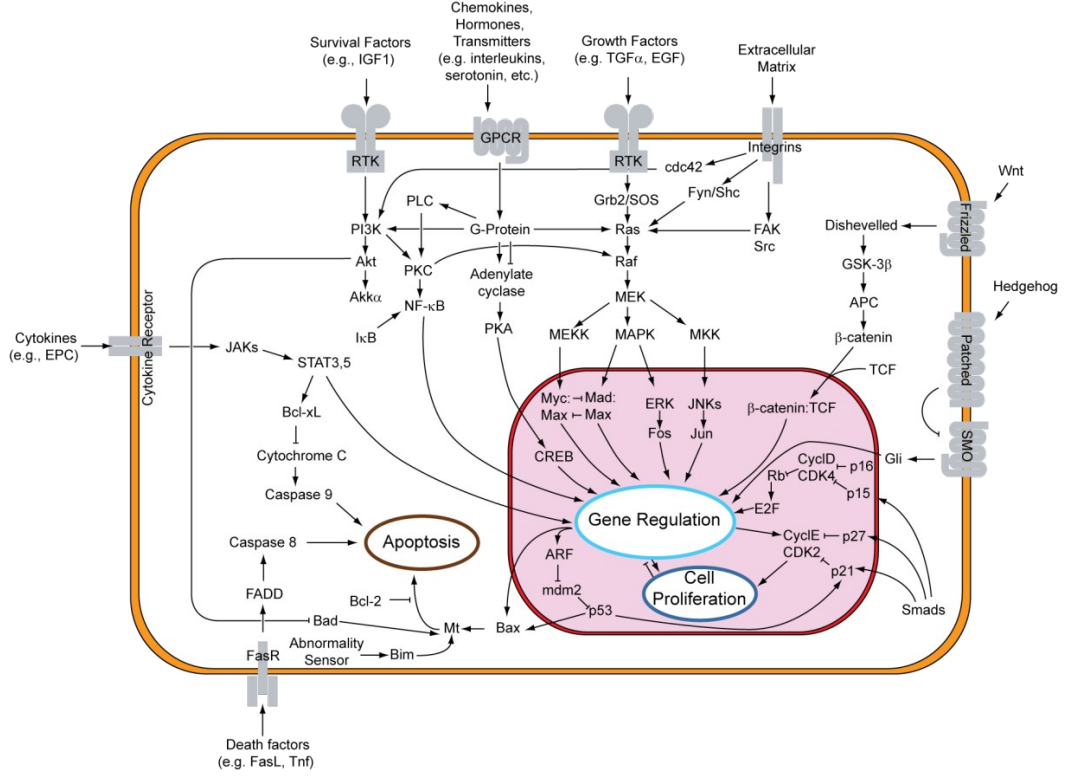
CSF-3 olarak ta bilinen G-CSF 17. kromozomun uzun kolunda (q11.2-q12) kodlanan bir glikoproteindir (Şekil 3).

Şekil 3. G-CSF'nin moleküler yapısı



174 ve 180 amino asit uzunluğunda 2 formu vardır ve molekül ağırlığı 25 kDa'dır. Rekombinant DNA (rDNA) teknolojisi kullanılarak oluşturulan formu 174 amino asit içerir ve daha aktiftir. Endotelyum, makrofajlar ve başka immün hücreler tarafından sentezlenen bu hematopoetik sitokin kemik iliği kök hücrelerindeki G-CSF reseptörünü uyararak kana granüositlerin salınması ve aktivasyonları ile myeloid progenitör hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşmayı sağlar (3). G-CSF bu etkilerini Janus kinaz (JAK) - transkripsiyon sinyal iletici ve aktive edici (STAT) yolağının aktivasyonu, Ras – mitojen aktive protein (MAP) ve fosfatidilinozitol 3-kinaz (PI3) – protein kinaz B (Akt) yolaklarıyla göstermektedir (Şekil 4).

Şekil 4. Sinyal transdüksiyon yolları



Fare granülosit koloni uyaran faktör ilk olarak 1983 yılında Avustralya’da Walter ve Eliza Hall Enstitüsü’nde bulunmuş ve saflaştırılmıştır (41). İnsan formu ise Japonya, Almanya ve ABD’li gruplar tarafından klonlanmıştır (42,43).

### 2.2.1.1 Granülositler

G-CSF nötrofiller başta olmak üzere granülositlerin yapımını arttırmaktadır. Granülositler beyaz kan hücrelerini kategorisinde yer almakta ve sitoplazmalarında farklı boyanma özelliklerine sahip granüllerin olması ile karakterizedirler (44). Çekirdeklerinin değişik şekillerde olabildiği için “*polimorfonükleer lökosit*” (PML veya PMN)’de denmektedir.

Granülositlerin üç tipi vardır:

- Nötrofil granülosit

- Eozinofil granülosit
- Bazofil granülosit

Bu isimlendirme önceden de belirtildiği gibi granüllerin boyalara gösterdiği afiniteye göredir. Nötrofiller preparatlarda sitoplazmaları nötral pembe renkte görünürler. Wright boyamasında nötrofiller boyalara özel bir afinite göstermedikleri için bu ismi almışlardır. Eozinofiller Wright boyamasında “eozin” isimli boyayı tuttıkları için bu şekilde isimlendirilmektedirler. Preparatlarda sitoplazmaları açık kırmızı renk olarak görünür. Bazofillerin granülleri ise bazik boyaları tutmaktadır ve bu özelliklerinden dolayı sitoplazmaları koyu mavi boyanır.

Granülosit olmayan diğer lökositler (agranülositler) lenfosit ve monositlerdir.

Sık kullanımda PML en sık bulunan granülosit formu olan (%99) nötrofil granülositi tanımlar (45). PML’de toplam lökosit sayısının yaklaşık %70’ini oluşturmaktadır. Nötrofillerin çekirdekleri 2-5 loblu ve ortalama çapları 12-15 mikrometre ( $\mu\text{m}$ )’dir. Kanda  $2,5-7,5 \times 10^9/\text{L}$  düzeylerinde bulunurlar. Aktive olmamış bir nötrofilin yaklaşık yarı ömrü 12 saattir. Aktivasyon sonuncu marjinasyon denen damar çeperi içyüzüne yanaşmayı gerçekleştirirler. Bundan sonra selektin aracılığıyla endotel yüzeyinde yuvarlanmaya başlarlar. Bunu integrin aracılı endotel yüzeyi sıkı bağlanması izler.

Nötrofiller inflamasyonun akut fazında, özellikle bakteriyel enfeksiyonun sonuncu olarak ve bazı kanserlerde, interlökin-8 (IL-8), interferon-gama (IFN-gama) ve C5a gibi kimyasal sinyal moleküllerin etkisiyle kemotaksis adı verilen

damar duvarından inflamasyon alanına hareketi gerçekleştirirler (46,47). Dokuya migrasyonunu gerçekleştiren nötrofilin yaklaşık ömrü 1-2 gündür.

Nötrofiller üç ana yolla hedeflerine saldırmaktadırlar:

- Fagositoz
- Degranülasyon
- NET (Ağ benzeri DNA yapısı)

Nötrofiller mikroorganizma yada çeşitli partiküllerin fagositozu sonrasında NADPH oksidaz enzimi aracılığıyla süperoksit adı verilen reaktif oksijen radikalini oluştururlar. Süperoksit kendiliğinden ya da süperoksit dismutazlar (cu/ZnSOD ve MnSOD) aracılığıyla hidrojen peroksite, o da myeloperoksidaz enzimi aracılığıyla hipoklorik aside (HOCl) çevrilir. HOCl bakterileri öldürmek için yeterlidir fakat ek olarak proteazları da aktive etmektedir.

Nötrofillerde 3 tip granül bulunur ve içindeki proteinleri degranülasyon sırasında ekstraselüler alana salarlar. Nötrofil granül tipleri ve içerikleri tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. Nötrofil granül tipleri

<b>Granül Tipi</b>	<b>Protein</b>
Spesifik Granüller	Laktoferrin ve Katelisinidin
Azürofilik Granüller	Myeloperoksidaz, bakteryal permeabilite arttırıcı protein (BPI), defensin, serin proteaz, elastaz, katepsin G
Tersiyer Granüller	Katepsin ve jelatinaz

Brinkmann ve arkadaşları aktive olmuş nötrofillerin ağ benzeri DNA yapılarını (NET) ekstraselüler alana salgıladıklarını keşfetmişlerdir (48). NET’ler kromatin ve serin proteazlardan meydana gelmekte, mikroorganizmaları ekstraselüler olarak hapsederek öldürmektedirler.

### 2.2.1.2 Nötropeni ve G-CSF kullanımı

Düşük nötrofil sayısı nötropeni olarak adlandırılmaktadır. Bu olay konjenital olarak olabileceği gibi sekonder olarak da aplastik anemi ya da lösemide görülebilmektedir. Nötrofillerdeki fonksiyonel bozukluklar genelde kalıtsaldır ve fagositoz ile solunumsal patlama bozukluklarını kapsar (kronik granümatöz hastalık ve myeloperoksidaz eksikliği gibi). Alfa 1-antitripsin eksikliğinde ise nötrofil elastaz enzimi yeterince inhibe edilemez ve inflamasyon durumunda yaygın doku hasarına neden olur. Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF)'inde pyrin geninde mutasyon vardır, bu durum devamlı bir akut faz yanıtına neden olur ve hastalarda ateş, artralji, peritonit ve amiloidoz görülür (49).

G-CSF beyaz kan hücrelerinin yapımını artırır. Onkoloji ve Hematoloji'de G-CSF'nin rekombinant formu özellikle kemoterapi sonrası gelişen nötropenin tedavisinde kullanılmaktadır. Bu yüksek yoğunluktaki tedavi rejimi kullanılmasına olanak sağlar. Kemoterapi myelosüpresyona ve çok düşük nötrofil sayılarına yol açabilir ve hastalarda enfeksiyona yatkınlık meydana gelir. G-CSF ayrıca hematopoetik kök hücre transplantasyonunda lökoferez öncesi vericinin hücre sayısını arttırmak için kullanılmaktadır.

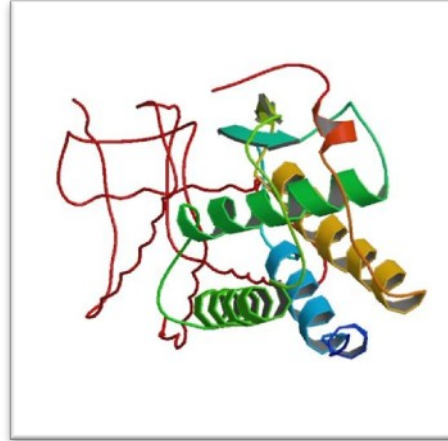
İlk olarak Amgen firması tarafından Neupogen ismiyle piyasaya verilen ilaç Türkiye'de Roche tarafından satılmaktadır. E. coli tarafından sentezlenen insan rekombinant G-CSF (rhG-CSF)'si Filgrastim olarak adlandırılmıştır. Filgrastim ile G-CSF arasında ufak farklar mevcuttur. Ticari olarak rhG-CSF'nin iki formu mevcuttur: Filgrastim (Neupogen) ve PEG-filgrastim (Neulasta). Yapılan araştırmalarda genellikle Filgrastim kullanılmıştır. rhG-CSF, Çin hamster

over hücrelerinde sentezlettirilmiş ve Lenograstim olarak adlandırılmıştır. Memeli hücresinde üretildiği için 174 amino asit içeren insan G-CSF'sine çok benzer. Bu molekülle yapılan çalışma sayısı kısıtlıdır.

### 2.2.2 Makrofaj koloni uyaran faktör (M-CSF)

CSF-1 olarak ta isimlendirilen bu sitokin mezenkimal hücreler tarafından salınarak makrofajların üretimi, farklılaşmasını ve fonksiyonlarını kontrol etmektedir. 1. kromozomun kısa kolunda (p21-p13) kodlanmaktadır ve molekül ağırlığı 70 kDa'dır (Şekil 5). CD115 olarak adlandırılan M-CSF reseptörü c-fms protoonkogeni tarafından kodlanır (50). M-CSF'nin CD115'i uyarması ile fosfotidil inositol 3 kinaz (PI3K) aktive olur. PI3K ikincil haberci olarak görev yapan fosfoinosit bağımlı protein kinaz-1 (PDK1)'i fosforiller. PDK1 ise protein kinaz B (PKB ve ya AKT)'yi fosforilleyerek aktive eder (51). AKT ailesinin 3 üyesi vardır; AKT1, AKT2 ve AKT3. AKT1'in görevi apoptozu inhibe etmektir (52). AKT2 insülin sinyal yolağında görev almaktadır (53). AKT3 hakkında az bilgi vardır fakat ağırlıklı olarak beyinde eksprese edildiği bilinmektedir.

Şekil 5. M-CSF'nin moleküler yapısı

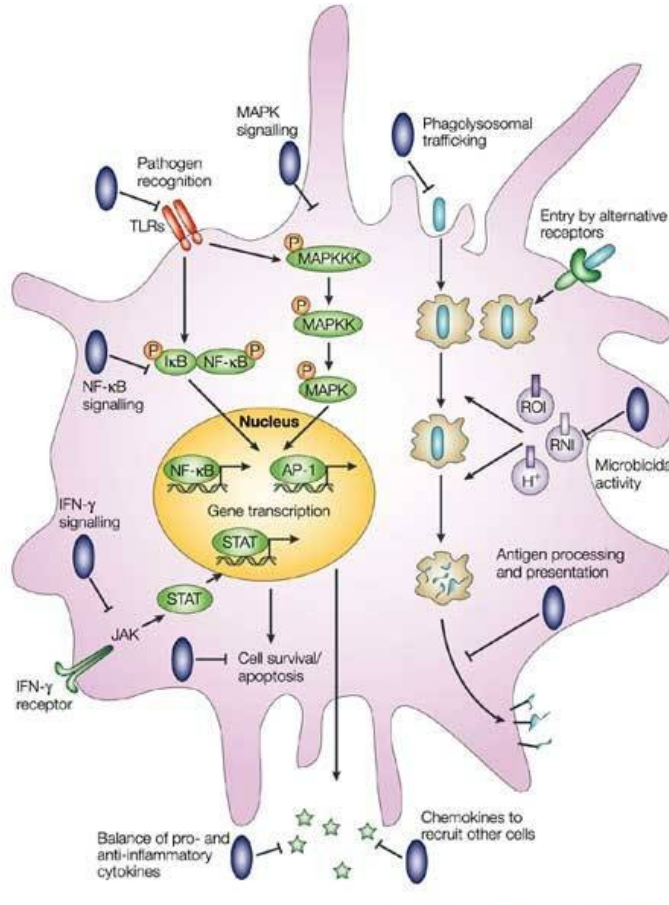


### 2.2.2.1 Makrofaj

Makrofajlar, monositlerden köken alan hücrelerdir. Yaklaşık büyüklükleri 21  $\mu\text{m}$ 'dir. Önce ekstrasvazyon sonra kemotaksis sonucu monositler makrofajlara dönüşürler. Bu dönüşümü tetikleyen olaylar; enflamasyon alanında bulunan hücrelerden salınan sitokinler, yabancı antijenler ve hasarlı hücrelerdir. Nötrofillerin aksine makrofajların ömrü birkaç aya kadar çıkabilmektedir.

Makrofajların asıl görevi hücrel debris ve patojenleri fagosit etmektir. Fagositoz sonucu fagozom lizozom ile birleşir. Oluşan fagolizozom içinde enzimler ve oksijen bileşikleri ile sindirim gerçekleşir. Makrofajların bir diğer görevi yardımcı T hücrelerine sindirdiği antijenleri sunmasıdır (Şekil 6).

Şekil 6. Makrofajın görevleri



Makrofajların kanser hücrelerinin proliferasyonuna yardım ettiği düşünülmektedir. Makrofajlar hipoksik ortam oluşturan tümör hücreleri etrafında kronik enflamasyon oluşturmakta ve salgıladıkları tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ) nükleer faktör-kappa B (NF- $\kappa$ B) gen ekspresyonunu arttırmaktadırlar. NF- $\kappa$ B apoptozu durduran proteinleri sentezlettirmekte ve hücre proliferasyonunu arttırmaktadır (54).

### **2.3 Tümör belirteçleri**

Tümör belirteçleri, tümörün kendisi ya da tümörün meydana getirdiği değişiklikler nedeni ile vücut sıvı ve dokularında saptanan ve genellikle protein yapıda olan çeşitli moleküllerdir. Tümörün kendisi tarafından salgılanan belirteçler diğerlerine göre daha değerlidirler.

Tümör belirteçleri şu amaçlarla kullanılabilirler:

- Tarama; birçok tümör belirteci genel tarama için uygun değildir fakat genel kanı PSA'nın prostat kanseri taraması için kullanılabilir.
- Tanı; belirti ve bulguları olan bir hastada tümör belirteçleri tanıya yardımcı olabilmekte ve tümörün kaynakladığı dokuyu işaret edebilmektedirler.
- Evrelendirme; kanser tanısı alan bir hastada tümör belirteçlerinin yükselmesi genellikle kanserin yayılımı hakkında bilgi verebilmektedir.

- Prognoz; bazı tümör belirteçleri prognoz hakkında bilgi verebilmektedir.
- Tedaviye yön verme; çok az tümör belirteci buna olanak sağlamaktadır (örn: Her-2/neu pozitif olan meme kanseri hastaları herceptin tedavisine yanıt verebilmektedirler).
- Tedavinin izlenmesi; tümör belirteç düzeylerinin izlenmesi özellikle ilerlemiş kanserlerde tedaviye yön verebilmektedir.
- Nükslerin saptanması; tümör belirteçlerinin en önemli kullanım amaçlarından biri nükslerin saptanmasıdır. Tümör belirtecinin tedavi sonunda normal düzeye inmesi ve bir süre bu seviyede devam ettikten sonra tekrar yükselmesi nüks ihtimalini akla getirmektedir.

Tümör belirteçlerinin enfeksiyon, enflamasyon, kolestaz ve siroz gibi çeşitli durumlarda da artabileceği akılda tutulmalıdır.

Sık kullanılan tümör belirteçleri alfa fetoprotein (AFP), karsinoembriyonejik antijen (CEA), prostat spesifik antijen (PSA), Ca15-3, Ca19-9, Ca125, Ca72-4, Ca50, nöron spesifik enolaz (NSE), beta2-mikroglobulin, thyroglobulin, Her-2/neu, hCG, EGFR (Her-1), kalsitonin, NMP22, prostatik asit fosfataz (PAP), S-100, skuamöz karsinoma antijeni (SCC-ag) ve kromogranin A'dır.

Sitokinlerin tümörün oluşumu ve gelişmesinde önemli rol aldıkları için potansiyel tümör belirteci olabilecekleri düşünülmektedir (8,39,55,56).

### 2.3.1 Akciğer kanserinde tümör belirteçleri

G-CSF ve M-CSF'nin KHDAK'ın klinikopatolojik özellikleri ile korelasyon gösterdiği çeşitli yayınlarda belirtilmiştir (38,40,57,58).

KHAK hücreleri nöroendokrin özellik taşımaktadır. Yapılan çalışmalarda bu kanser hücrelerinin pro-gastrin-salgılayıcı peptid (ProGRP-Bombesin), NSE ve kromogranin A salgıladığını ve ProGRP'nin NSE ve kromogranin A'ya göre daha duyarlı (sensitif) ve özgül (spesifik) olduğu gösterilmiştir (59).

Non-kolorektal kanserler içinden en sık CEA salgılayan kanserin KHAK olduğu ve serum düzeyleri ile evre arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Başlangıç CEA düzeyinin sürvi ile ilişkili olduğu ve ayrıca kemoterapiye yanıtı değerlendirmede anlamlı olduğu saptanmıştır (60).

SCC-ag serviks, akciğer ve nazofarinks kökenli yassı hücreli kanserlerinde artış göstermektedir. Benign hadiselerde artış gösterebildiği için akciğer kanseri taramalarında kullanılamaz. CEA'nın aksine serum düzeyi sigara içiminden etkilenmemektedir ve tedavi sonrası yüksek düzeyde kalması kötü prognozu işaret eder (61).

İlk kez 1928'de KHAK ve Cushing sendromlu bir hastanın ACTH salgıladığı gösterilmiş. Çoğu akciğer kanserinde salgılanan ACTH, "big-ACTH" (pro-opiomelanokortin) olarak geçmekte ve %3-5'lik bir ACTH aktivitesine sahiptir. Bu nedenle çok yüksek değerlere çıkmadıkça Cushing sendromu görülmez. Plazma ACTH düzeyi tüm akciğer kanserli hastaların yaklaşık yarısında normalden yüksektir ve hiçbir akciğer kanseri için duyarlı ya da özgül değildir (61).

Yüksek serum ADH ve kalsitonin düzeyleri KHAK hastalarında görülmektedir. Uygunsuz ADH salınımı sendromu (SIADH) nedeniyle hastada hiponatremi oluşabilmektedir ve bu özelliği nedeniyle ADH tümör belirteci olarak kullanılabilir (62). Kalsitoninin malign olmayan akciğer hastalıklarında da yükselebilmektedir. Kalsitonin venöz kateterizasyon ile tümörün lokalizasyonu hakkında bilgi verebilmektedir fakat tedaviye yanıtı değerlendirmede önemi yoktur (61).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

Bu çalışma; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu'ndan izin alınmıştır (G.Ü.E.T.-08.253).

#### **3.1. Deney grupları**

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Bilim Dalı'na Temmuz 2006 ile Ağustos 2007 tarihleri arasında başvurarak yeni tanı almış 24 KHDAK hastanın (4 kadın ve 20 erkek) ve 30 erişkin sağlıklı kontrolün (15 kadın ve 15 erkek) kanları alındı ve serumları santrifujasyonla elde edildi. Numuneler çalışılacağı tarihe kadar -80°C'de saklandı. Akciğer kanserinin tanısı ve evresinin saptanmasında akciğer röntgeni, toraks, batin ve beyin BT, MR, kemik sintigrafisi, lenf biyopsisi yöntemleri kullanıldı. Hastaların karakteristikleri tablo 8'de verildi.

Tablo 8. Hastaların karakteristikleri

<b>Cinsiyet</b>	<b>Sayı (yüzde)</b>
Erkek	20 (%83,3)
Kadın	4 (%16,7)
<b>Evre</b>	
I	2 (%8)
II	1 (%4)
III	11 (%46)
IV	10 (%42)
<b>Histolojik tip</b>	
Adenokarsinom	7 (%29,1)
Skvamöz	6 (%25)
Diğer	11 (%45,9)

### **3.2 Kullanılan aletler**

- Otomatik pipet (Pipetman, Gilson)
- Cam malzemeler
- Elisa plate okuyucu (Bio-Tek ELx800)
- Elisa plate yıkayıcı (Bio-Tek ELx50)

### **3.3 Yöntemlerin uygulanması**

Elde edilen serumlardan enzim ilintili immün test (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) metoduyla (Biosource,USA) G-CSF ve M-CSF düzeyleri saptandı.

ELISA'da temel prensip şu şekildedir:

1. Bilinen antijen plastik bir yüzeye yapıştırılır. Mikro-Elisa sisteminde bu antijen her hasta için kullanılmak üzere yapılan kuyucukların yüzeyine kaplanır. Antikor aranacak hasta serumu bu kuyucuklara konur. Bir süre beklenir ve yıkanır. Eğer serumda uygun antikor varsa antijenle birleşir.
2. Bir enzim ile işaretlenmiş insan globülini antiserumu eklenir. Bir süre beklenir ve yıkanır. İncelenmekte olan serumda antijene uygun antikor var ise antijene bağlanmış olacağından bu son eklenen enzim ile işaretlenmiş insan antiglobülini de bağlayacak ve yıkama ile uzaklaştırılmayacaktır.
3. Enzime uygun bir kromojen substrat eklenir. Sisteme bağlanmış enzim bu substratı parçaladığında ortaya çıkan renk, yapılacak

kolorimetrik yöntemlerle ölçülerek bağlanmış olan enzim dolayısıyla bağlanmış olan antikor hakkında fikir verecektir.

### 3.3.1 G-CSF ölçümü

Hasta serum G-CSF düzeyi ölçümü için Biosource marka kit kullanılmıştır. Kutu içeriği tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9. G-CSF kiti kutu içeriği

Hu G-CSF standart	2 vial
Standart dilüent tampon	1 şişe
Hu G-CSF antikor kaplı plate	1 adet
Biotin işaretli anti-G-CSF	1 şişe
Streptavidin-peroksidaz (HRP)	1 vial
Streptavidin-peroksidaz (HRP) dilüent	1 şişe
Yıkama tampon konsantresi	1 şişe
Kromojen (TMB)	1 şişe
Stop solüsyonu	1 şişe

Standartlar standart dilüent tampon kullanarak dilüe edilmiş ve 2500 pg/mL, 1250 pg/mL, 625 pg/mL, 312 pg/mL, 156 pg/mL, 78,1 pg/mL, 39 pg/mL ve 0 pg/mL konsantrasyonlarında G-CSF standartları elde edilmiştir.

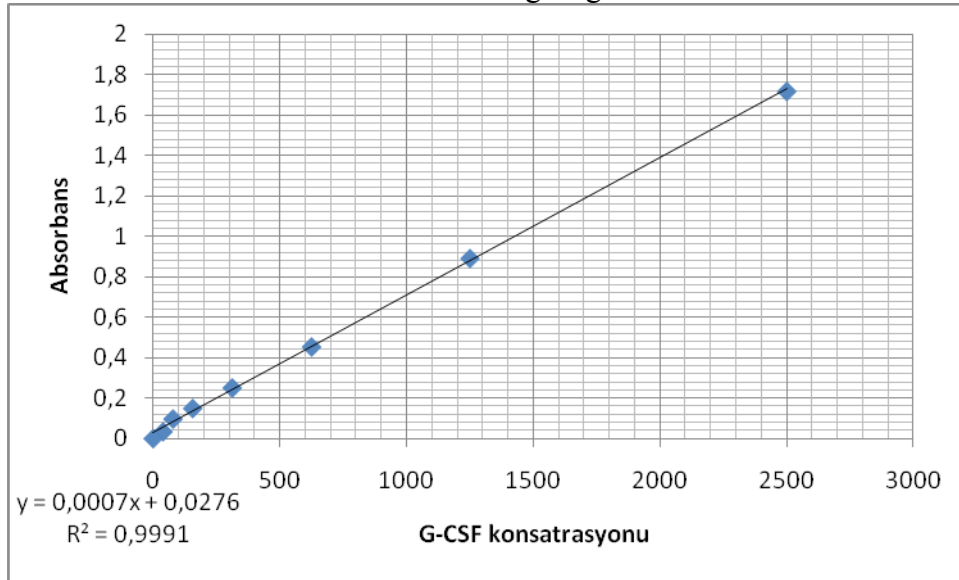
Kit şu şekilde çalışılmıştır.

1. 100 µL standartlar planlanmış kuyucuklara eklenir. 50 µL standart dilüent tampon ve 50 µL numune kuyucuklara eklenir.
2. 50 µL biotin işaretli anti-G-CSF tüm kuyucuklara eklenir.
3. Plate 2 saat 37°C’de bekletilir.
4. Plate yıkayıcı ile 4 kere yıkanır.
5. 100 µL streptavidin-peroksidaz tüm kuyucuklara eklenir.
6. Plate 30 dakika oda ısısında bekletilir.
7. Plate yıkayıcı ile 4 kere yıkanır.

8. 100 µL kromojen tüm kuyucuklara eklenir.
9. Plate 30 dakika oda ısısında karanlık bir ortamda bekletilir.
10. 100 µL stop solüsyonu tüm kuyucuklara eklenir.
11. Plate 450 nm’de plate okuyucuda okutulur.
12. Standartlar kullanılarak sonuçlar hesaplanır.

Standartlardan Microsoft Office 2007 Excel programı kullanılarak standart grafiği elde edilmiş ve hasta sonuçları bu grafik ile hesaplanmıştır (Grafik 3).

Grafik 3. Serum G-CSF standart grafiği



### 3.3.2 M-CSF ölçümü

Hasta serum M-CSF düzeyi ölçümü için Biosource marka kit kullanılmıştır. Kutu içeriği tablo 10’da verilmiştir.

Tablo 10. M-CSF kiti kutu içeriği

Hu M-CSF standart	2 vial
Standart dilüent tampon	1 şişe
Hu M-CSF antikor kaplı plate	1 adet
Biotin işaretli anti-M-CSF	1 şişe
Streptavidin-peroksidaz (HRP)	1 vial
Streptavidin-peroksidaz (HRP) dilüent	1 şişe
Yıkama tampon konsantresi	1 şişe
Kromojen (TMB)	1 şişe
Stop solüsyonu	1 şişe

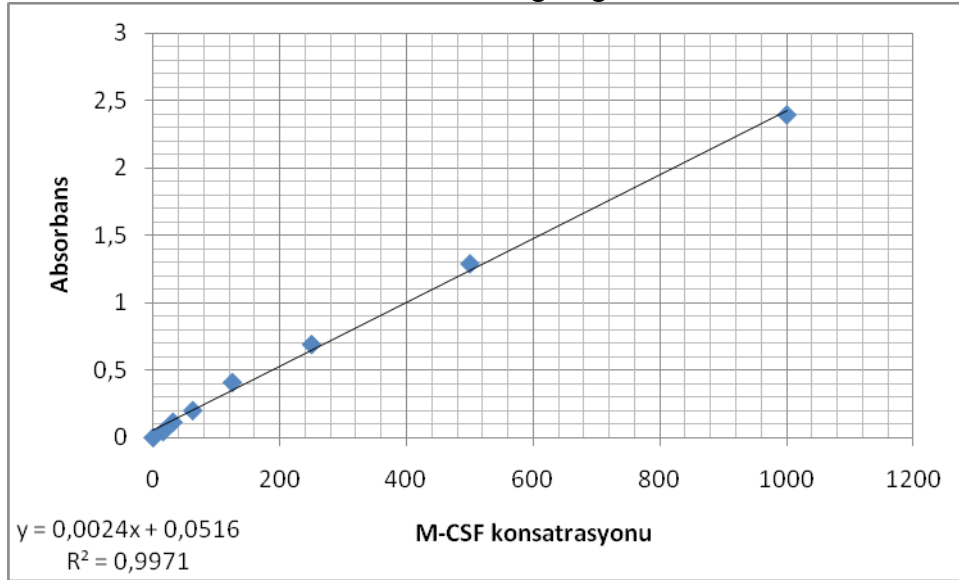
Standartlar standart dilüent tampon kullanarak dilüe edilmiş ve 1000 pg/mL, 500 pg/mL, 250 pg/mL, 125 pg/mL, 62,5 pg/mL, 31,2 pg/mL, 15,6 pg/mL ve 0 pg/mL konsantrasyonlarında M-CSF standartları elde edilmiştir.

Kit şu şekilde çalışılmıştır.

1. 100 µL standartlar planlanmış kuyucuklara eklenir. 90 µL standart dilüent tampon ve 10 µL numune kuyucuklara eklenir.
2. 50 µL biotin işaretli anti-G-CSF tüm kuyucuklara eklenir.
3. Plate 2 saat oda ısısında bekletilir.
4. Plate yıkayıcı ile 4 kere yıkanır.
5. 100 µL streptavidin-peroksidaz tüm kuyucuklara eklenir.
6. Plate 30 dakika oda ısısında bekletilir.
7. Plate yıkayıcı ile 4 kere yıkanır.
8. 100 µL kromojen tüm kuyucuklara eklenir.
9. Plate 30 dakika oda ısısında karanlık bir ortamda bekletilir.
10. 100 µL stop solüsyonu tüm kuyucuklara eklenir.
11. Plate 450 nm’de plate okuyucuda okutulur.
12. Standartlar kullanılarak sonuçlar hesaplanır.

Standartlardan Microsoft Office 2007 Excel programı kullanılarak standart grafiği elde edilmiş ve hasta sonuçları bu grafik ile hesaplanmıştır (Grafik 4).

Grafik 4. Serum M-CSF standart grafiği



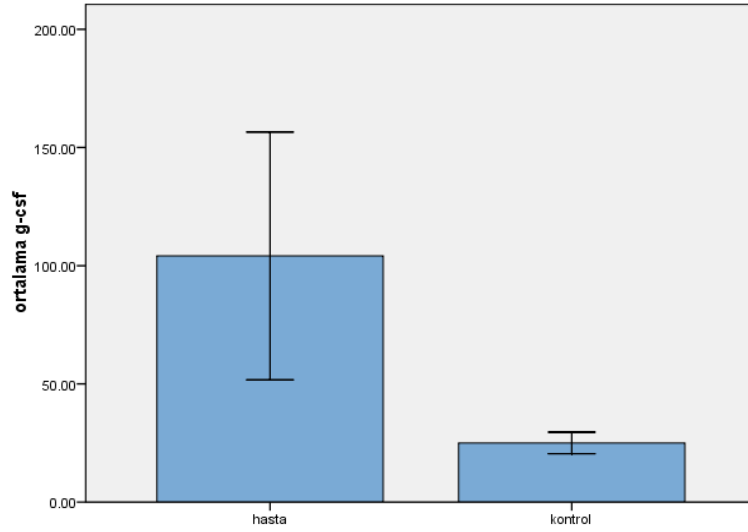
### 3.4 İstatistiksel değerlendirme

İstatistiksel hesaplamalar için SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 16 ve MS Office 2007 kullanıldı. Değerlendirmede Kruskal-Wallis varyans analizi ve gruplar arasındaki farklılığı tespit etmek için Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Ayrıca gruplar spearman korelasyon analizine tabi tutulmuştur.  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Sonuçlar tüm tablo ve grafiklerde ortalama  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Bizim çalışmamızda KHDAK hastalarının ilk tanı anında alınan serum G-CSF düzeylerinin kontrollere oranla yüksek olduğu saptandı. Hastaların ortalama serum G-CSF değeri 103,23 pg/mL ( $\pm 52,42$  pg/mL), kontrollerin ortalama serum G-CSF değeri 25,01 pg/mL ( $\pm 4,54$  pg/mL) olarak bulunmuştur. Mann-Whitney-U testi ile iki grubun karşılaştırılması sonucu hasta ile kontrol grupları arasında anlamlı derecede fark bulundu ( $p < 0,001$ ) (Grafik 5).

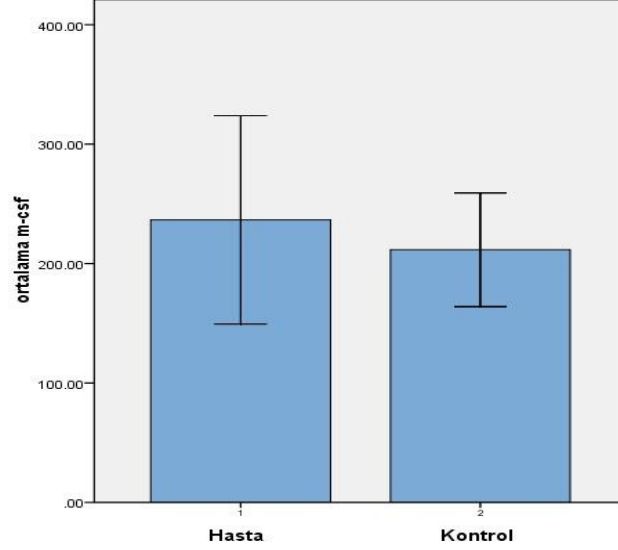
Grafik 5. Hasta ve kontrol serum ortalama G-CSF düzeyleri



Çalışmamızdaki diğer parametre olan KHDAK hastaların tedavi öncesi ortama serum M-CSF düzeyi 250,73 pg/mL ( $\pm 102,94$  pg/mL) olarak saptanmıştır. Sağlıklı erişkin kontrol grubu serum M-CSF düzeyi 211,56 pg/mL ( $\pm 57,82$  pg/mL) dir. Hasta ile sağlıklı erişkin grupları arasında anlamlı fark bulunamamıştır (Whitney-U testi,  $p > 0,05$ ) (Grafik 6).

Hastaların sonuçları tablo 11’de verilmiştir.

Grafik 6. Hasta ve kontrol serum ortalama M-CSF düzeyleri



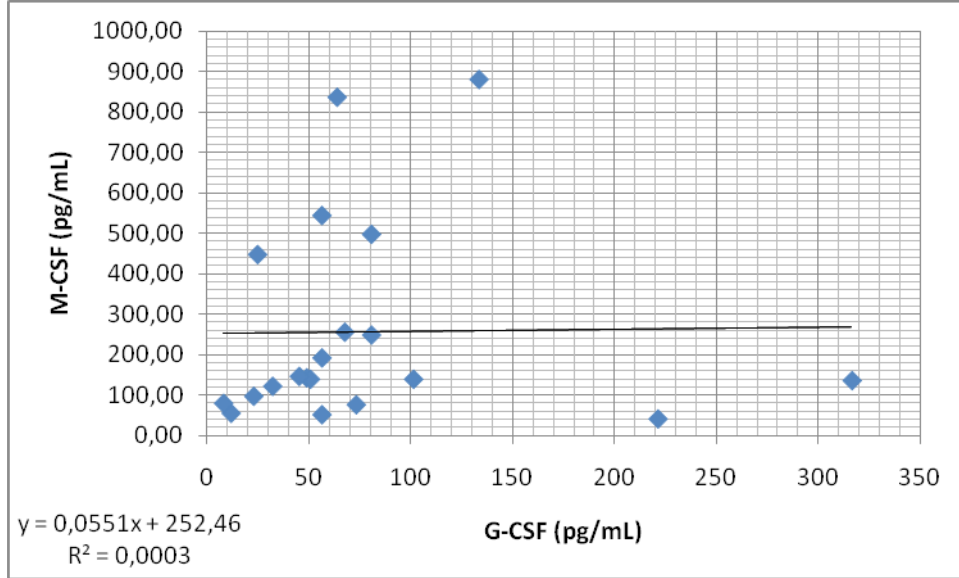
Tablo 11. Hastaların sonuçları ve istatistiksel değerlendirme

Sitokin	KHDAK hasta grubu		Kontrol grubu		<i>p</i> değeri
	Ortalama	Aralık	Ortalama	Aralık	
G-CSF (pg/mL)	103,23	50,81-155,65	25,01	20,47-29,55	<i>p</i> =0,001
M-CSF (pg/mL)	250,73	147,79-353,67	211,56	153,74-269,38	<i>p</i> >0,05

Hastaların yaşları 47 ile 81 arasında değişiyor ve ortalama 60,6 idi ve yaş ile serum G-CSF veya M-CSF düzeyleri arasında bir korelasyon saptanmadı (Spearman,  $p>0,05$ ).

Hastaların serum G-CSF düzeyleri ile serum M-CSF düzeyleri arasında herhangi bir ilişki saptanmadı ( $R^2 = 0,0003$ , Spearman,  $p>0,05$ ) (Grafik 7).

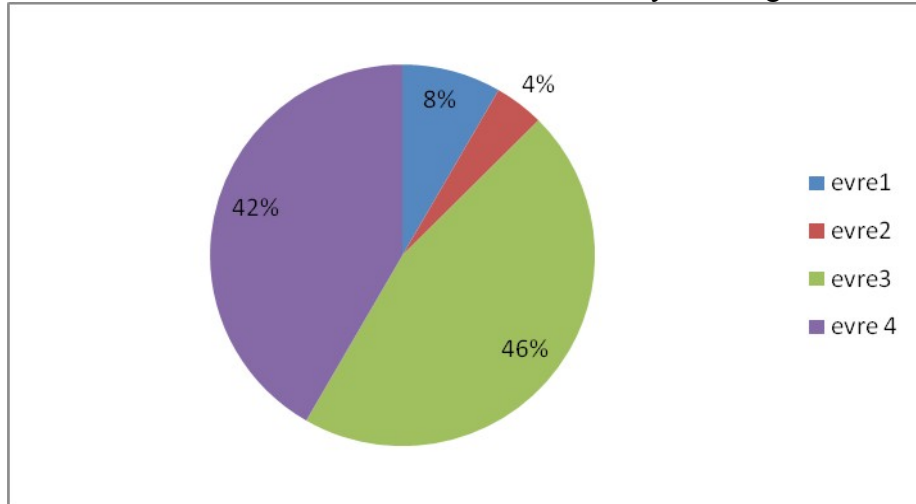
Grafik 7. Serum M-CSF ile serum G-CSF düzeyleri



10 hasta evre 4, 11 hasta evre 3, 1 hasta evre 2, 2 hasta evre 1 idi.

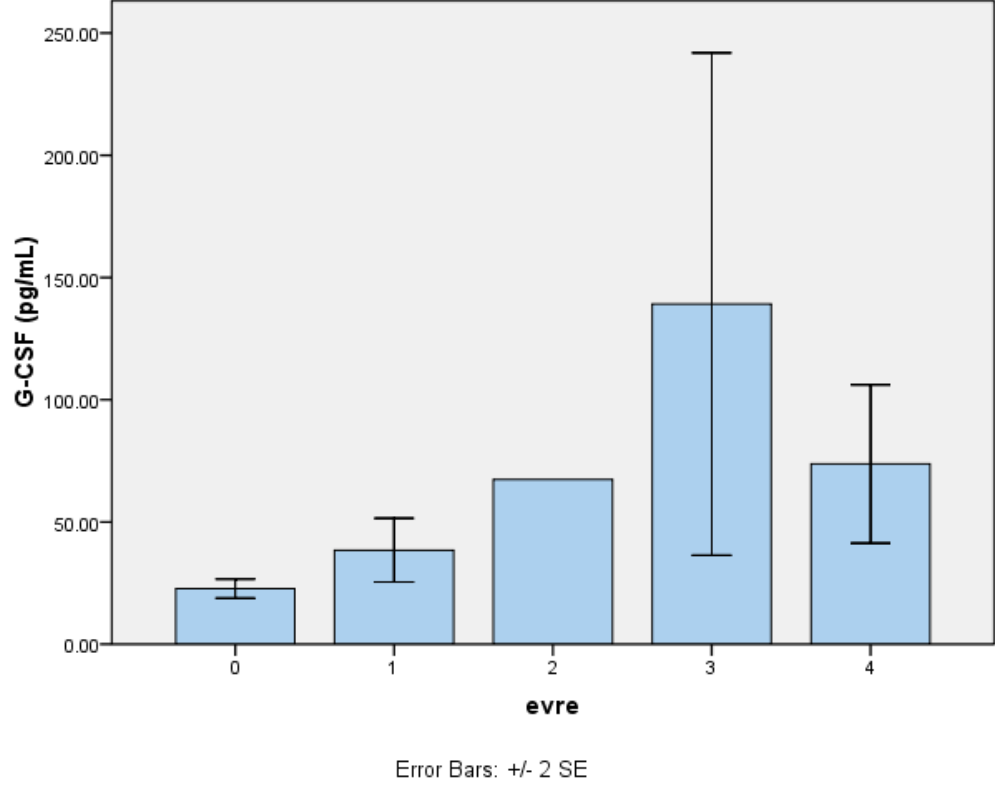
Hastaların evrelerinin dağılımı ve yüzdeleri grafik 8’de verilmiştir.

Grafik 8. KHDAK hastalarının evreleri ve yüzde dağılımları



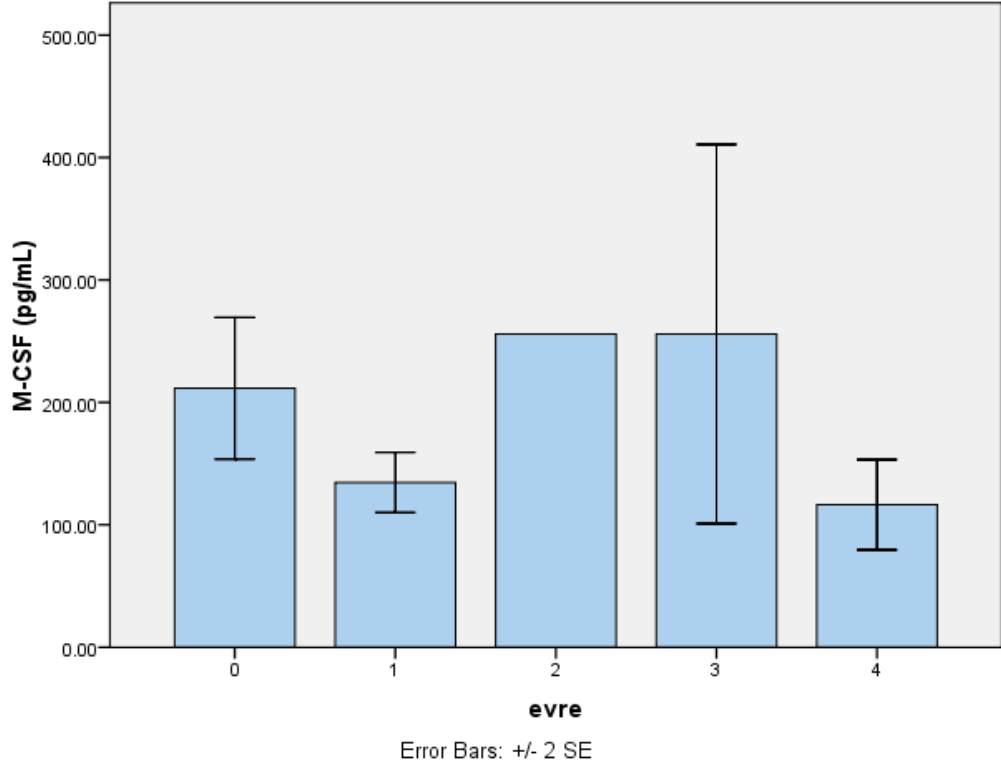
Hastaların evreleri ile serum G-CSF düzeyleri arasında istatistiksel anlam saptanmadı (Kruskal-Wallis,  $p > 0,05$ ) fakat tüm evrelerdeki hastalar kontrole göre yüksek ve istatistiksel anlamlı serum G-CSF düzeyine sahipti (Bonferroni düzeltmeli Whitney-U testi,  $p < 0,05$ ). Hasta evreleri ve serum ortalama G-CSF düzey ilişkisi grafik 9’da verilmiştir.

Grafik 9. KHDAK hastaların evreleri ve serum ortalama G-CSF düzeyleri (evre 0 kontrol grubudur).



Hastaların evreleri ile serum M-CSF düzeyleri arasında istatistiksel anlam saptanmadı (Kruskal-Wallis,  $p>0,05$ ). Hasta evreleri ve serum ortalama M-CSF düzey ilişkisi grafik 10'da verilmiştir.

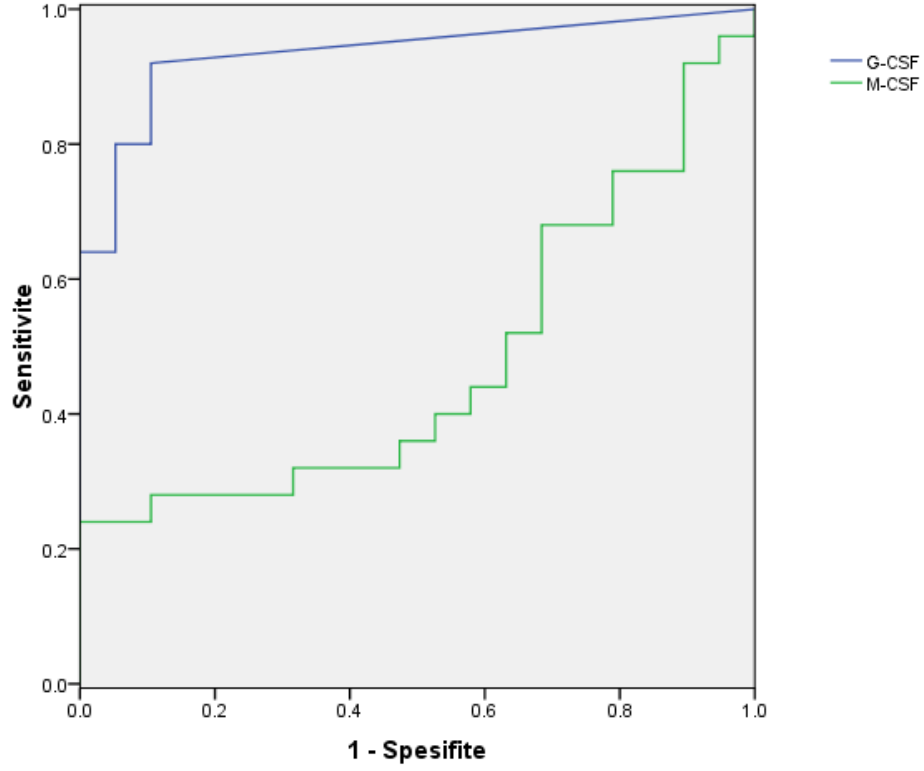
Grafik 10. KHDAK hastaların evreleri ve serum ortalama M-CSF düzeyleri (evre 0 kontrol grubudur).



G-CSF ve M-CSF sitokinlerinin tanısal sensitivite ve spesifitelerini saptamak için ROC (receiver-operating characteristics) eğrileri uygulanmıştır. G-CSF için eğri altında kalan alan (EAA) 0,935, M-CSF için eğri altında kalan alan 0,476 olarak bulunmuştur (Grafik 11). 0,500 altında ki EAA değerleri düşük sensitivite ve spesifiteyi işaret etmektedir.

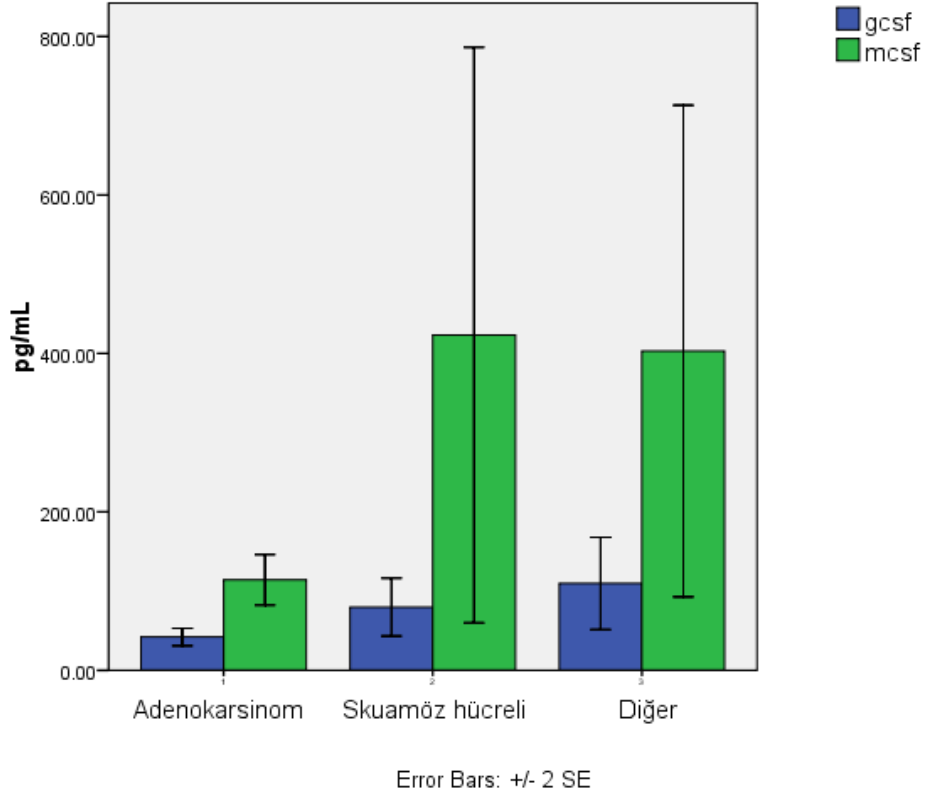
Eğri altında kalan alanların istatistiksel kıyaslanması Wilcoxon testi ile yapılmış ve G-CSF için  $p < 0,001$ , M-CSF için  $p > 0,05$  bulunmuştur.

Grafik 11. G-CSF ve M-CSF için ROC eğrileri



Hastaların histolojik tipleri ile (adenokarsinom, skuamöz hücreli ve diğer) serum G-CSF ve M-CSF düzeyi ilişkisi için Kruskal-Wallis testi kullanılmış ve her iki sitokin için istatistiksel anlam bulunamamıştır (Kruskal-Wallis,  $p>0,005$ ). Serum G-CSF ve M-CSF düzeyleri ile histopatolojik kıyaslama grafik 12'de verilmiştir.

Grafik 12. Serum sitokin düzeyleri ve sitolojik kıyaslama



KHDAK hastalarının ilk hemogram değerlendirmelerinde ortalama lökosit sayısı  $10,4 \times 10^9/\text{lt}$  olarak bulunmuştur. Bu değer  $4 \times 10^9/\text{L}$  ile  $11 \times 10^9/\text{L}$  olan referans aralığın içindedir fakat üst sınıra yakındır. Ayrıca hastaların ilk hemogramlarında nötrofil sayılarının ortalaması ise  $7,7 \times 10^9/\text{L}$ 'dir. Bu değer normal aralık olan  $2,5 \times 10^9/\text{L}$ - $7,5 \times 10^9/\text{L}$ 'den yüksektir. Hastaların nötrofil yüzdelerinin ortalaması %77 olarak saptanmıştır ve referans aralık olan %54-62'den yüksektir.

Hastaların kan lökosit sayısı ve nötrofil sayısı ile serum G-CSF düzeyi ve serum M-CSF düzeyi arasında korelasyon saptanmamıştır (Spearman,  $p > 0,05$ ). Kan lökosit ve serum sitokin düzeyi ilişkisi tablo 12'de verilmiştir.

Tablo 12. Sitokin ve lökosit ilişkisi

	<b>G-CSF</b>	<b>M-CSF</b>
<b>Lökosit sayısı</b>	$r=0,151$ $p>0,05$	$r=0,089$ $p>0,05$
<b>Nötrofil sayısı</b>	$r=0,241$ $p>0,05$	$r=0,146$ $p>0,05$

## **5. TARTIŞMA**

Bilimsel yöntemlerde meydana gelen ilerlemeler hematopoezi uyaran kan sitokinlerin cDNA'larının çoğaltılabilmesini ve bu sitokinlerin düzeyinin ELISA metoduyla saptanabilmesini sağlamıştır. Kliniklerde CSF'lerin en sık kullanım alanı kanser tedavi metodları sonuncu oluşan lökopeninin düzeltilmesidir, öte yandan bazı kanser türlerinin koloni uyaran faktör ve koloni uyaran faktör benzeri molekülleri salgıladıkları rapor edilmiştir (38-40).

Kanser tanı ve tedavisindeki ilerlemelere rağmen tarama ve tedavi takip parametrelerine olan ihtiyaç devam etmektedir. Literatürde kanser hücrelerinden salınan sitokinlerin tarama, tanı, tedavinin izlenmesi ve yönlendirilmesine yardımcı olabileceğini belirten birçok yayın mevcuttur (4,20,38-40).

Akciğer kanserleri toplum sağlığını tehdit eden bir problemdir ve KHDAK hastaları erken tanı aldıklarında 5 yıllık sağ kalım yüksek düzeydedir. Bu hastalarda lökositozun yaygın görülmesi bu tümörlerin CSF'ler ile olan ilişkisini düşündürmüştür. Biz de çalışmamızda KHDAK tanısı almış hastaların tedavi öncesi serumlarından ELISA metodu ile G-CSF ve M-CSF düzeylerini saptadık ve bu belirteçlerin prognostik önemini araştırdık.

Bizim çalışmamızda KHDAK hastalarının ilk tanı anında alınan serum G-CSF düzeylerinin kontrollere oranla yüksek olduğunu saptandı. Hastaların ortalama serum G-CSF değeri 103,23 pg/ml ( $\pm$ 52,42 pg/ml), kontrollerin ortalama serum G-CSF değeri 25,01 pg/ml ( $\pm$ 4,54 pg/ml) olarak bulunmuştur. Mann-

Whitney-U testi ile iki grubun karşılaştırılması sonucu hasta ile kontrol grupları arasında anlamlı derecede fark bulundu ( $p=0,001$ ).

Çalışmamızdaki KHDAK hastaların tedavi öncesi ortalama serum M-CSF düzeyi 250,73 pg/ml ( $\pm 102,94$  pg/ml) olarak saptanmıştır. Sağlıklı erişkin kontrol grubu serum M-CSF düzeyi 211,56 pg/ml ( $\pm 57,82$  pg/ml) dir. Hasta ile sağlıklı erişkin grupları arasında anlamlı fark bulunamamıştır (Whitney-U testi,  $p>0,05$ ).

Katsumata ve ark.'larının yeni tanı alan hem KHAK hem de KHDAK toplam 183 hastayla (159 KHDAK) yaptığı çalışma sonucunda kontrollere kıyasla serum G-CSF ve IL-6 düzeyleri arasında istatistiksel fark görülmemiş fakat M-CSF düzeyleri arasında anlamlı fark saptamışlardır (38). Ayrıca araştırmacılar yüksek M-CSF düzeylerinin KHDAK için kötü prognostik belirteç olduklarını raporlamışlardır. Bu çalışmada ayrıca bizim çalışma sonucumuzu destekler biçimde hasta evreleri ile serum sitokin düzeyleri arasında bir ilişki bulunamamıştır. 25 hasta ile yürüttüğümüz çalışma sonucunda bu çalışmaya zıt olarak serum G-CSF düzeyi kontrollere göre anlamlı bulunmuş, serum M-CSF düzeylerinde kontrollere göre fark bulunamamıştır. Bu sonuç hasta sayımızın azlığından kaynaklanabilir. Ayrıca ex olan hastaların sayısı (31.12.2009 itibarıyla 4 ex raporlanmıştır) istatistiki çalışmaya el vermediğinden sürvi analizleri gerçekleştirilememiştir fakat bu hastaların daha uzun süre izlenmesi bu çalışmanın yapılabilmesini sağlayacaktır. Araştırmacılar KHDAK tiplerinden sadece büyük hücreli tip akciğer kanserinde M-CSF, G-CSF ve IL-6 düzeylerini diğer kanserlere göre anlamlı yüksek bulmuşlardır. Çalışmamızda hasta sayısı azlığı

nedeniyle büyük hücreli tip akciğer kanseri diğer kanserler grubu içinde yer almış ve benzer çalışma yapılamamıştır.

Kaminska ve ark. 103 KHDAK olgusu ile yaptıkları araştırmada hasta ve kontrollerin M-CSF düzeyleri arasında anlamlı derecede fark bulmuşlar ayrıca bu sitokinin prognoz açısından önemli olduğunu göstermişlerdir (63). Yazarlar aynı çalışmada serum G-CSF düzeyleri için benzer sonuç bulamamışlardır. Kaminska ve ark. sonuçları bizim sonuçlarımızla çelişmektedir. Yazarlar ayrıca M-CSF'nin evre ile ilişki gösteren bir parametre olduğunu raporlamışlar, G-CSF'nin ise evre ile ilişki göstermediğini belirtmişlerdir.

Hem Katsumata ve ark. hem de Kaminska ve ark. M-CSF'nin prognostik bir belirteç olarak kullanılabilceğini yayınlarında söylemektedirler (38,63).

OKa-C-1 (yassı hücreli KHDAK) ve MI-4 (büyük hücreli KHDAK) akciğer kanser hücre serilerinin G-CSF ürettikleri Uemura ve ark. ile Nakata ve ark. tarafından raporlanmıştır (64,65). Aynı araştırmacılar bu iki hücre serisinde G-CSF üretimini IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ 'nın NF- $\kappa$ B aktivasyonu yoluyla arttığını, siklooksijenaz-2 (COX-2)'in inhibisyonunun ise MEK sinyal yoluyla G-CSF üretimini azalttığını göstermişlerdir. Hücre kültürleri ile yapılan bu çalışmalarda ayrıca NF- $\kappa$ B baskılayıcısı olan PDTC'nin ve p44/42 MAP kinaz baskılayıcısı PD98059'un da G-CSF üretimini baskıladığı gösterilmiştir.

Tümör hücrelerinin neden büyüme faktörü sentezlediği tam olarak bilinmemektedir fakat bunun kendi çoğalmalarını sağlamak için yaptıkları düşünülmektedir. Tümör hücrelerinden salınan büyüme faktörlerinin biyolojik özelliklerinin araştırılması halen devam etmektedir. Tachibana ve ark. mesanenin

transisyonel hücreli kanserinin G-CSF salgıladığını ve bunun otokrin etki ile kanser hücre çoğalmasını uyardığını göstermişlerdir (66). Oshika ve ark. ise granülosit-makrofaj koloni uyaran faktör (GM-CSF)'ün KHDAK ksenogreftlerinin çoğalmasını arttırdığını yayınlamışlardır (67).

Lopez ve ark. çalışmalarında eksojen G-CSF'nin nonhematopoetik kanser hücrelerinin çoğalmasını arttırdığını raporlamışlardır (68). Uemura ve ark. ise OKa-C-1 ve MI-4 hücre kültürlerine uyguladıkları G-CSF ve GM-CSF'nin hücre çoğalmasını arttırdığını bildirmişlerdir (69). Aynı çalışmada CSF salgılamadığı bilinen TAK-1 ve A549 hücre serilerine de eksojen G-CSF ve GM-CSF uygulanmış ve A549 hücre serisinde doz bağımlı hücre proliferasyonu görülürken TAK-1 hücre serisinde hiçbir dozda proliferasyon izlenmemiştir. Çalışmacılar gerçek zamanlı polimeraz zincir tepkimesi (RT-PCR) ile OKa-C-1, MI-4 ve A549 hücre serilerinin G-CSF ve GM-CSF varlığında bu moleküller için mRNA ekspresyonu olduğunu TAK-1 hücre serisinde ise bu koloni uyaran faktörler için mRNA ekspresyonu olmadığını saptamışlardır. Bu sonuç tümör hücrelerinin büyüme faktörü sentezlemeseler de reseptör sentezlediklerinde büyüme faktörlerinden etkilenebileceklerini göstermektedir. Uemura ve ark. ayrıca kültür ortamında değişik düzeylerde serum yoksunluğu oluşturarak RT-PCR ile hücrelerin sentezlediği sitokinleri ölçmüşler ve sentezlenen sitokin miktarının serum yoksunluğu şiddeti ile doğru orantı gösterdiğini raporlamışlardır. Uemura ve ark. sonuçları tümör hücrelerinin kendilerini korumak için büyüme faktörlerini sentezledikleri yönündedir (69).

Pei ve ark. yaptıkları çalışmada G-CSF ve M-CSF'nin akciğer kanseri invazyonu ile ilişkili olduğunu raporlamışlardır (70). İnvazyonu için ekstrasellüler matriksin matriks metalloproteazlar (MMP) ve plazminojen aktivatörleri (PA) ile degrade edilmesi gerekmektedir. Pei ve ark. PC-9 ve A549 insan akciğer adenokarsinoma hücre kültürlerine değişik dozlarda G-CSF, GM-CSF ve M-CSF uygulamış, sonra hücrelerden salınan MMP-2 (gelatinaz A) ve MMP-9 (gelatinaz B) miktarlarını Western Blot analiz yöntemiyle, PA miktarını zimografi ile ve hücrelerin invazyon yeteneklerini tümör hücrelerinin matrigel ortamındaki migrasyonlarının incelenmesi ile saptamışlardır. Araştırmacılar koloni uyaran faktörlerin doz bağımlı olarak MMP ve PA sentezini ve invazyonu arttırdığını gözlemişlerdir.

Lenf nodu metastazı sürvi süresini kısaltan en önemli parametrelerdendir. KHDAK hastaların Amerika Birleşik devletleri verilerine göre yalnızca %25'lik kısmı evre 1'de yani lenf nodu tutulumu olmadan yakalanabilmektedir. 5 yıllık sağ kalım evre 1'de %57-85, evre 2'de ise %38-65 aralığındadır. Bu nedenden ötürü hastaların evde 1'de yakalanması önem arz eder.

Borgia ve ark. KHDAK lenf nodu metastazını önceden saptamak için 15 parametre (MIP-1, SCF, CEA, TNF-RI, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , M-CSF, G-CSF, TNF-RII, sICAM-1, MMP-2, CRP, IL-2R, osteopontin ve IL-1ra) ile 107 pre-operatif hastada yaptıkları çalışmada G-CSF ve M-CSF'yi ilk 8 parametre içinde göstermişlerdir (71). Çalışmalarında ROC eğrileri yapılmış ve eğri altında kalan alanlar G-CSF için 0,657 ve M-CSF için 0,679 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızdan G-CSF (0,935) için daha düşük ve M-CSF (0,476) için

daha yüksektir. EAA'nın 0,500 değerinden küçük olması ilgili testin sensitivite ve spesifitesinin düşük olduğunu göstermektedir.

Inoue ve ark. 53 yaşında bir hastadan ince iğne biyopsisi ile elde ettikleri adenokarsinom hücrelerini LCAM olarak isimlendirmişlerdir (58). Hastanın ilk tanı anında alınan serumunda G-CSF düzeyi 65 pg/ml olarak saptanmış. Araştırmacılar hücre kültürü ortamına G-CSF antikorları eklemiş ve hücrelerin G-CSF düzeylerini ölçmüşlerdir. Bulguları LCAM hücrelerinin antikor ilavesi ile G-CSF salınışının azaldığını göstermektedir ve G-CSF'nin negatif feedback ile kontrol edildiğini göstermektedir. Pei ve ark. ile Inoue ve ark. sonuçları tedavi amacıyla hastalara uygulanan CSF'lerin tekrar sorgulanması gerektiğini düşündürmektedir.

Kanser hastalarında en sık enfeksiyon ya da tümörün kemik iliği yayılımı nedeniyle lökositöz görülmektedir. Enfeksiyon kaynaklı lökositöz durumda ateşle birlikte ESR (eritrosit çökme hızı) ve CRP (C reaktif protein) artışı da görülmektedir. Nedeni açıklanamayan lökositozun çoğunlukla altında kanser yatmaktadır. İlk kez 1974 yılında W.A. Robinson tarafından tümörün kendisinden kaynaklanan granülositoz yayınlanmıştır (37).

Çalışmamızdaki KHDAK hastalarının ilk hemogram değerlendirmelerinde ortalama lökosit sayısı  $10,4 \times 10^9/\text{lt}$  olarak bulunmuştur. Bu değer  $4 \times 10^9/\text{L}$  ile  $11 \times 10^9/\text{L}$  olan referans aralığın içindedir fakat üst sınıra yakındır. Hastaların ilk hemogramlarında nötrofil sayılarının ortalaması ise  $7,7 \times 10^9/\text{L}$ 'dir. Bu değer normal aralık olan  $2,5 \times 10^9/\text{L}$ - $7,5 \times 10^9/\text{L}$ 'den yüksektir. Hastaların nötrofil yüzdelерinin ortalaması %77 olarak saptanmıştır ve referans aralık olan %54-

62'den yüksektir. Bu değerlendirme sonucunda ilk tanı anında KHDAK hastalarının kanlarında lökosit sayılarının sınırdan yüksek olduğu ve lökositlerin büyük kısmını nötrofil granülositleri oluşturduğu görülmektedir. Hastaların ayrıca serum G-CSF değerlerinin de normalden yüksek olduğu bilindiğinden bu hastalardaki granülositlerden G-CSF artışı sorumlu olabilir.

Katsumata ve ark. çalışmalarında ilk tanı anında hastaların kan lökosit ve nötrofil sayılarının yüksek olduğunu, serum G-CSF ve M-CSF düzeyleri ile kan lökosit ve nötrofil düzeyleri arasında zayıf bir ilişki olduğunu saptamışlardır (38).

Kasuga ve ark. 7 yıl süreyle 227 hastada yaptıkları çalışmada tümör nedeni lökositözün akciğer kanserli hastalarda sık rastlandığını (%14,5) saptamışlardır (72). Hastalarında sıklıkla ateş olmayıp, lökosit sayısının diğer enflamasyon belirteçleri ile korelasyon göstermediğini ve antibiyotik kullanımına rağmen lökosit sayısında artış olduğunu saptamışlardır. Bunlara ek olarak lökositlerin nötrofil dominant olduğunu rapor etmişlerdir. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızı desteklemektedir.

Kasuga ve ark. akciğer kanserli hastalarda (toplam 33 hasta) serum G-CSF düzeyini izlemiş ve tümör büyümesi veya gerilemesiyle bu sitokinin serum düzeyinin ilişkili olduğunu raporlamışlardır (72). Araştırmalarında özellikle KHDAK alt tipi olan büyük hücreli akciğer kanserli hastalarda bu durumu gözlemişlerdir (hastaların %50'den fazlasında). Bu bulgu kanser hücrelerinin otonom G-CSF salgıladığı tezini güçlendirmektedir. Araştırmacılar lökositözü olan hastaların biyopsi materyallerini immünohistokimyasal olarak incelemiş ve yalnızca 4 hastada sitokin üretimini saptayamamışlardır. Lökositözü olan bu

hastaların sonuçlarının negatif çıkması olarak tekniğin zorluğu ve CSF dışı sitokin üretimini düşündürmüştür.

Kasuga ve ark. akciğer kanseri hastalarını üç gruba ayırmış ve sürvi analizlerini yapmışlardır (72). Tümör nedenli lökositozu olan hastaların ortalama sürvi 4,6 ay, enfeksiyon/kemik iliği metastazı nedenli lökositozu olan hastaların ortalama sürvi 15,5 ay ve lökositozu olmayan hastaların ortalama sürvi 20,8 ay olarak bulunmuştur. Bu sonuç tümör nedenli lökositozun evre ve hasta yaşı kadar önemli bir parametre olduğunu vurgulamıştır.

Shijubo ve ark. büyük hücreli akciğer kanserli bir hastanın lenf nodu biyopsisi ile elde ettikleri tümör hücrelerinden hücre dizisi elde etmişler ve hücrelerin yüksek miktarlarda G-CSF sentezlediğini göstermişlerdir (73). Hastanın kan lökosit sayıları yüksek bulunmuş ve serum G-CSF düzeyi ile kan lökosit sayılarının korele gittiği gösterilmiştir. Hastanın lökositleri nötrofil baskın olduğu da belirtilmiştir. İnsan G-CSF'sinin fare kök hücrelerini proliferate ettiği bilinmektedir. Araştırmacılar hastadan elde ettikleri hücre kültür süpernatantını fare kök hücre kültürü ortamına eklemişler ve hücrelerde proliferasyon gözlemlemişlerdir fakat hastanın serumu fare kök hücre kültürüne eklenildiğinde proliferasyon gözlememişlerdir. Yazarlar bu durumu kanser hücrelerinin G-CSF sentezlediği ve kan lökosit sayısını arttırdığı fakat hasta kanında bu etkiyi azaltan bazı maddelerin olabileceği şeklinde yorumlamışlardır.

Literatür incelendiğinde, KHDAK hastaların sitokin ve sitokin reseptörlerinin düzeylerinin araştırıldığı çalışmaların çoğunda hasta ve sağlıklı olguların serum TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, sTNF RI, sTNF RII, sIL-2R  $\alpha$ ,

IL-1ra, VEGF, bFGF, M-CSF ve G-CSF düzeylerinin anlamlı derecede farklı olduğu vurgulanmıştır (63,74-82). Bu sitokinlerden ise hastaların evreleri ile serum düzeyi ilişkisi IL-6, IL-8, IL-10, M-CSF, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'da saptanmıştır (63,74,78-80). Araştırmacılar serum VEGF, bFGF, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzey yüksekliğinin kötü prognozu gösterdiği çeşitli yayınlarda belirtilmektedirler (75,82,83).

Serum M-CSF düzeyleri başka kanser türlerinde de normal vakalara göre yüksek olduğunu bildiren yayınlarda mevcuttur. Bu kanser türlerinden sık çalışılanlar over kanseri, kolorektal kanser, yumuşak doku sarkomu ve kemik sarkomudur (84-87).

## **6. SONUÇ**

Sitokinlerin tümör gelişmesi ve ilerlemesinde kritik rol oynadığı artık bilinen bir gerçektir. Bu moleküllerin tümör belirteci olarak kullanılabilceği uzun zamandır düşünölmekte ve literatürde 2000'in üzerinde bu konuya eğilmiş yayın mevcuttur. Bu çalışmalar sonuncunda HER2 meme kanserinde ve EGFR kolorektal kanserde klinik kullanıma girmiştir.

Değişik kanser tiplerine yapılan sitokin düzeyi çalışmalarında farklı sonuçlar çıkabilmektedir. KHDAK'de ilk tanı anında alınan serum G-CSF ve M-CSF düzeylerinin prognostik önemini araştırdığımız çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara benzer ve zıt yayınlar bulunmaktadır. Bunun nedeni olarak düşünölen sitokinlerin tümöre özgül olmadığı ve normal hücrelerden farklı durumlarda sentezinin artabileceğidir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz önemli bir bulgu hastalarda yüksek serum G-CSF düzeyinin yüksek kan nötrofil seviyesi ile birliktelik gösterdiğidir. Bu veri tümör kaynaklı lökositozu açıklamaktadır.

Hastaların takipleri Temmuz 2006'da başlamıştır ve yeterli süre geçmediğinden dolayı sürvi analizi yapılamamıştır. Hastaların takibi devam etmekte olup serum sitokin düzeyleri açısından sürvi analizi önümüzde ki yıllarda yapılacaktır.

Hem bizim hem de yayınların genel görüşü KHDAK hastalarında serum G-CSF ve M-CSF düzeyleri henüz tümör belirteçleri olarak kullanılabilcek duyarlılık ve hassaslığa erişmemiş olduğudur.

## 7. Kaynaklar

1. [WHO. Cancer. World Health Organization](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/). URL:  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/> Retrieved 2007-06-25.
2. Minna JD, Schiller JH. Harrison's Principles of Internal Medicine .17th ed. McGraw-Hill, 2008;551–562.
3. Thomas J, Liu F, Link DC. Mechanisms of mobilization of hematopoietic progenitors with granulocyte colony-stimulating factor. *Curr Opin Hematol* 2002;9:183-189.
4. Mroczo B, Szmitkowski M. Hematopoietic cytokines as tumor markers. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2005;42(12):1347–54.
5. Jemal A, Tiwari RC, Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E, et al. American Cancer Society. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2004;54(1):8-29.
6. Köktürk N, Yeğın D, Ulukavak Çiftçi T, Bilgin Mullaoglu S, Öztürk C. Akciğer Kanserlerinde Epidemiyolojik Özellikler Yıllar İçinde Değişim Gösteriyor mu? *Türk toraks dergisi* 2004; 5(3):137-142.
7. Hazar, Armağan. Akciğer kanserli hastalarda malondialdehit (MDA) ve total antioksidan kapasite (TAOK) düzeyi ölçümü ile oksidan-antioksidan dengenin araştırılması. Uzmanlık tezi, İstanbul 2006.
8. [Lung Carcinoma: Tumors of the Lungs](#). Merck Manual Professional Edition, Online edition. URL:

<http://www.merck.com/mmpe/sec05/ch062/ch062b.html#sec05-ch062-ch062b-1405>. Retrieved 2007-08-15.

9. Thun MJ, Hannan LM, Adams-Campbell LL et al. Lung Cancer Occurrence in Never-Smokers: An Analysis of 13 Cohorts and 22 Cancer Registry Studies. *PLoS Medicine* 2008;5(9):185.
10. Gorlova OY, Weng SF, Zhang Y et al. Aggregation of cancer among relatives of never-smoking lung cancer patients. *International Journal of Cancer* 2007;121(1):111–118.
11. Hackshaw AK, Law MR, Wald NJ. [The accumulated evidence on lung cancer and environmental tobacco smoke](#). *BMJ* 1997;315(7114):980–988.
12. Catelinois O, Rogel A, Laurier D, et al. [Lung cancer attributable to indoor radon exposure in france: impact of the risk models and uncertainty analysis](#). *Environ. Health Perspect* 2006;114(9):1361–6.
13. O'Reilly, KM; Mclaughlin AM, Beckett WS, Sime PJ. [Asbestos-related lung disease](#). *American Family Physician* 2007;75(5):683–688.
14. Kabir Z, Bennett K, Clancy L. Lung cancer and urban air-pollution in dublin: a temporal association? *Irish Medical Journal* 2007;100(2):367–369.
15. Coyle, YM; Minahjuddin AT, Hynan LS, Minna JD. An ecological study of the association of metal air pollutants with lung cancer incidence in Texas. *Journal of Thoracic Oncology* 2006;1(7):654–661.
16. Chiu, HF; Cheng MH, Tsai SS et al. Outdoor air pollution and female lung cancer in Taiwan. *Inhalation Toxicology* 2006;18(13):1025–1031.

17. Carmona, RH. [The Health Consequences of Involuntary Exposure to Tobacco Smoke: A Report of the Surgeon General](#). U.S. Department of Health and Human Services. (2006-06-27) URL:  
<http://www.surgeongeneral.gov/library/secondhandsmoke>.
18. [Tobacco Smoke and Involuntary Smoking](#) (PDF). *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans* (WHO International Agency for Research on Cancer) 83. 2002. URL:  
<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol83/volume83.pdf>.
19. Akkoçlu, Atilla. Akciğer kanserleri. Türk Toraks Derneği. URL:  
[http://www.toraks.org.tr/mesleki-kurslar-2-ppt-pdf/Atilla\\_Akkoçlu.pdf](http://www.toraks.org.tr/mesleki-kurslar-2-ppt-pdf/Atilla_Akkoçlu.pdf)
20. Collins, LG; Haines C, Perkel R, Enck RE . Lung cancer: diagnosis and management. *American Family Physician* (American Academy of Family Physicians) 2007;75(1):56–63.
21. Köktürk N, Ulukavak Çiftçi T, Yeğın D, Bilgin Mullaoglu S, Habeşoğlu MA, Öztürk C. Akciğer Kanserli Olgularımızda Semptomatolojik, Radyolojik ve Endoskopik Bulguların Histopatolojik Bulgularla Birlikte Deđerlendirilmesi. *Türk toraks dergisi* 2004;5(3):143-147.
22. Akkoçlu, Atilla. Akciğer kanserlerinde tanı, evreleme ve tedavi öncesi değerlendirme. Türk toraks derneği. URL:  
<http://www.toraks.org.tr/kisokulu-ppt-pdf/akkoc.pdf>
23. Seo JB, Im JG, Goo JM, et al. Atypical pulmonary metastases: spectrum of radiologic findings. *Radiographics* 2001;21(2):403–417.

24. Göksel, Tuncay. Akciğer kanseri. Türk Toraks Derneği yayınları. URL:  
[http://www.toraks.org.tr/kisokulu4-ppt-pdf/Tuncay\\_Goksel.pdf](http://www.toraks.org.tr/kisokulu4-ppt-pdf/Tuncay_Goksel.pdf)
25. Travis WD, Travis LB, Devesa SS. Lung cancer. *Cancer* 1995;75(Suppl. 1):191–202.
26. Travis WD. Pathology of lung cancer. *Clin Chest Med* 2002;23:65-81.
27. Raz DJ, He B, Rosell R, Jablons DM. Bronchioloalveolar carcinoma: a review. *Clin Lung Cancer*. 2006;7(5):313-22.
28. Bryant A, Cerfolio RJ. Differences in epidemiology, histology, and survival between cigarette smokers and never-smokers who develop non-small cell lung cancer. *Chest*. 2007;132(1):185-92.
29. Barbone F, Bovenzi M, Cavallieri F, Stanta G. Cigarette smoking and histologic type of lung cancer in men. *Chest (American College of Chest Physicians)* 1997;112(6):1474–1479.
30. Seo JB, Im JG, Goo JM et al. Atypical pulmonary metastases: spectrum of radiologic findings. *Radiographics* 2001;21(2):403–417.
31. Dishop MK, Kuruvilla S. Primary and metastatic lung tumors in the pediatric population: a review and 25-year experience at a large children's hospital. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2008;132(7):1079–103.
32. National Cancer Institute. Non-Small Cell Lung Cancer Treatment. URL:  
<http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/non-small-cell-lung/HealthProfessional/page2%7C> Son düzenlenme: 08/01/2008.

33. National Cancer Institute. *Small Cell Lung Cancer Treatment*. URL: <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/small-cell-lung/healthprofessional%7C> Son düzenlenme: 05/22/2008.
34. Çetinkaya E, Yıldız P, Turna A, Dodurgalı R, Ürer N, Gürses A, Yılmaz V. Akciğer Tümörlerinde Ameliyat Öncesi İnvazif Tanı Yöntemlerinin Hücre Tipini Belirlemedeki Doğruluğu. *Türk Toraks Dergisi* 2002;3(3):284-288.
35. National Cancer Institute, SEER. Search Cancer Statistics Review, 1975-2002. URL: [http://seer.cancer.gov/cgi-bin/csr/1975\\_2002/search.pl#results%7C](http://seer.cancer.gov/cgi-bin/csr/1975_2002/search.pl#results%7C) Retrieved 2007-11-18.
36. Metcalf D. The molecular control of cell division, differentiation commitment and maturation in haemopoietic cells. *Nature* 1989;339(6219):27-30.
37. Robinson WA. Granulocytosis in neoplasma. *Ann NY Acad Sci* 1974;230 :212.
38. Katsumata N, Eguchi K, Fukuda M, Yamamoto N, Ohe Y, Oshita F, et al. Serum levels of cytokines in patients with untreated primary lung cancer. *Clin Cancer Res* 1996;2:553–559.
39. Mroczko B, Szmitkowski M, Wereszczynska-Siemiakowska U, Jurkowska G. Hematopoietic cytokines in the sera of patients with pancreatic cancer. *Clin Chem Lab Med* 2005;43:146–150.
40. Kimura N, Niho Y, Ono J, et al. An established lung cancer line producing colony stimulating activity. *Proc Jpn Acad* 1978;54:548.

41. Metcalf D. The granulocyte-macrophage colony-stimulating factors. *Science (journal)* 1985;229(4708):16–22.
42. Nagata S, Tsuchiya M, Asano S, Kaziro Y, Yamazaki T, Yamamoto O, et al. Molecular cloning and expression of cDNA for human granulocyte colony-stimulating factor. *Nature* 1986;319(6052):415–8.
43. Souza LM, Boone TC, Gabrilove J, Lai PH, Zsebo KM, Murdock DC, et al. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: effects on normal and leukemic myeloid cells. *Science* 1986;232(4746):61–5.
44. [granulocyte](#) at [eMedicine](#) Dictionary URL:  
[http://www.emedicinehealth.com/script/main/srchcont\\_dict.asp?src=granulocyte](http://www.emedicinehealth.com/script/main/srchcont_dict.asp?src=granulocyte)
45. [polymorphonuclear+leukocyte](#) at [eMedicine](#) Dictionary URL:  
[http://www.emedicinehealth.com/script/main/srchcont\\_dict.asp?src=polymorphonuclear+leukocyte](http://www.emedicinehealth.com/script/main/srchcont_dict.asp?src=polymorphonuclear+leukocyte)
46. Waugh DJ. [The interleukin-8 pathway in cancer](#). *Clinical Cancer Research* 2008;14(21):6735–41.
47. De Larco JE, Wuertz F. [The Potential Role of Neutrophils in Promoting the Metastatic Phenotype of Tumors Releasing Interleukin-8](#). *Clinical Cancer Research* 2004;10(15):4895–900.
48. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004;303(5663): 1532–1535.

49. Ozen S. Familial mediterranean fever: revisiting an ancient disease. *European Journal of Pediatrics* 2004;162(7-8):449–54.
50. Entrez Gene: CSF1 colony stimulating factor 1 (macrophage) URL:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=1435>
51. Akt signaling pathway. Product Pathways. Cell Signaling Technology, Inc. URL: <http://www.cellsignal.com/pathways/akt-signaling.jsp>. Retrieved 2009-01-05
52. Song G, Ouyang G, Bao S. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival. *J. Cell. Mol. Med.* 2005;9(1):59–71.
53. Garofalo RS, Orena SJ, Rafidi K, Torchia AJ, Stock JL, Hildebrandt AL, et al. Severe diabetes, age-dependent loss of adipose tissue, and mild growth deficiency in mice lacking Akt2/PKB beta. *J. Clin. Invest.* 2003;112(2):197–208.
54. Gary S. A Malignant Flame. *Scientific American* 2007;46–9.
55. Dranoff G. Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2004;4:11–22.
56. Chechlinska M. The role of cytokines in carcinogenesis. *Nowotwory J Oncol* 2003;6:648–659.
57. Okabe T, Fujisawa M, Kudo H, Honma H, Ohsawa N, Takaku F. Establishment of a human colony-stimulating-factor-producing cell line from an undifferentiated large cell carcinoma of the lung. *Cancer* 1984;54:1024–9.

58. Inoue M, Minami M, Fujii Y, Matsuda H, Shirakura R, Kido T.  
Granulocyte colony-stimulating factor and interleukin-6- producing lung cancer cell line, LCAM. *J Surg Oncol* 1997;64:347–50.
59. Lamy, PJ, *et al.* Pro-gastrin-releasing peptide, neuron specific enolase and chromogranin A as serum markers of small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 2002, 29;3.
60. Soulier J P , Feld R, Ewans WK, et al. Carcinoembryonic antigen: A useful prognostic marker in small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 1985;12:1461-6.
61. Ferrigno D, Buccheri G, Biggi A. Serum tumour markers in lung cancers: history, biology and clinical applications. *EurRespir J* 1994;7:186-97.
62. Silva OL, Becker KL, Primack A, et al. Ectopic secretion of calcitonin by oat-cell carcinoma. *N Engl J Med* 1974; 290:1122-4.
63. Kaminska J, Kowalska M, Kotowicz B, Fuksiewicz M, Glogowski M, Wojcik E, et al. Pretreatment serum levels of cytokines and cytokine receptors in patients with non-small cell lung cancer, and correlations with clinicopathological features and prognosis. *Oncology* 2006;70:115-125.
64. Uemura Y, Nakata H, Kobayashi M, Harada R, Asahi Y, Taguchi H.  
Regulation of granulocyte colony-stimulating factor and parathyroid hormone-related protein production in lung carcinoma cell line OkaC-1. *Jpn J Cancer Res* 2000;91:911–7.
65. Nakata H, Uemura Y, Kobayashi M, Harada R, Taguchi H.  
Cyclooxygenase-2 inhibitor NS-398 suppresses cell growth and

- constitutive production of granulocyte-colony stimulating factor and granulocyte macrophage-colony stimulating factor in lung cancer cells. *Cancer Sci* 2003;94:173–80.
66. Tachibana M, Miyakawa A, Tazaki H, Nakamura K, Kubo A, Hata J, et al. Autocrine growth of transitional cell carcinoma of the bladder induced by granulocyte-colony stimulating factor. *Cancer Res* 1995;55:3438–43.
67. Oshika Y, Nakamura M, Abe Y, Fukuchi Y, Yoshimura M, Itoh M, et al. Growth stimulation of non-small cell lung cancer xenografts by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Eur J Cancer* 1998;34:1958–61.
68. Lopez MR, Hernandez MJ, Sanchez SL, Weiss SB. Hematopoietic growth factors induce proliferation of nonhematopoietic tumor cells. *Rev Invest Clin* 1998;50:413–38.
69. Uemura Y, Kobayashi M, Nakata H, Harada R, Kubota T, Taguchi H. Effect of serum deprivation on constitutive production of granulocyte-colony stimulating factor and granulocyte macrophage-colony stimulating factor in lung cancer. *Int. J. Cancer* 2004;109:826–832.
70. Pei XH, Nakanishi Y, Takayama K, Bai F, Hara N. Granulocyte, granulocyte-macrophage, and macrophage colony-stimulating factors can stimulate the invasive capacity of human lung cancer cells. *Br J Cancer* 1999;79:40–6.
71. Borgia JA, Basu S, Faber LP, Kim AW, Coon JS, Kaiser-Walters KA, et al. Establishment of a multi-analyte serum biomarker panel to identify

- lymph node metastases in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2009;4:338-347.
72. Kasuga I, Makino S, Kiyokawa H, Katoh H, Ebihara Y, Ohyasiki K. Tumour-related leukocytosis is linked with poor prognosis in patients with lung carcinoma. *Cancer* 2001;92:2399-405.
73. Shijubo N, Inoue Y, Hirasawa M, Igarashi T, Mori M, Matsuura A, et al. Granulocyte colony-stimulating factor-producing large cell undifferentiated carcinoma of the lung. *Internal Medicine* 1992;31:277-280.
74. Carpagnano GE, Spanevello A, Curci C, et al. IL-2, TNF-alpha, and leptin: local versus systemic concentrations in NSCLC patients. *Oncol Res* 2007;16:375-81.
75. De Vita F, Orditura M, Auriemma A, et al. Serum concentrations of proinflammatory cytokines in advanced non-small cell lung cancer patients. *J Exp Clin Cancer Res* 1998;17:413-7.
76. Tas F, Duranyildiz D, Argon A, et al. Serum levels of leptin and proinflammatory cytokines in advanced-stage non-small cell lung cancer. *Med Oncol* 2005;22:353-8.
77. Orditura M, Romano C, De Vita F, et al. Behaviour of interleukin-2 serum levels in advanced non-small-cell lung cancer patients: relationship with response to therapy and survival. *Cancer Immunol Immunother* 2000;49:530-6.

78. De Vita F, Orditura M, Auriemma A, et al. Serum levels of interleukin-6 as a prognostic factor in advanced non-small cell lung cancer. *Oncol Rep* 1998;5:649-52.
79. Orditura M, De Vita F, Catalano G, et al. Elevated serum levels of interleukin-8 in advanced non-small cell lung cancer patients: relationship with prognosis. *J Interferon Cytokine Res* 2002;22:1129-35.
80. De Vita F, Orditura M, Galizia G, et al. Serum interleukin-10 levels as a prognostic factor in advanced non-small cell lung cancer patients. *Chest* 2000;117:365-73.
81. Tisi E, Lissoni P, Angeli M, et al. Postoperative increase in soluble interleukin-2 receptor serum levels as predictor for early recurrence in non-small cell lung carcinoma. *Cancer* 1992;69:2458-62.
82. Dudek AZ, Mahaseth H. Circulating angiogenic cytokines in patients with advanced non-small cell lung cancer: correlation with treatment response and survival. *Cancer Invest* 2005;23:193-200.
83. Brattstrom D, Bergqvist M, Hesselius P, et al. Serum VEGF and bFGF adds prognostic information in patients with normal platelet counts when sampled before, during and after treatment for locally advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2004;44:55-62.
84. Chechlinska M, Kaminska J, Kowalska M. The origin of cytokines, soluble cytokine receptors and CA125 in ascitic fluids and sera of ovarian cancer patients [abstract P-68]. *Tumor Biol* 2003;24(Supl 1):S76.

85. Kaminska J, Nowacki M, Kowalska M, et al. Clinical significance of serum cytokine measurements in untreated colorectal cancer patients: soluble necrosis factor receptor type I – an independent prognostic factor. *Tumour Biol* 2005;26:186-94.
86. Rutkowski P, Kaminska J, Kowalska M, et al. Cytokine serum levels in soft tissue sarcoma patients: correlations with clinico-pathological features and prognosis. *Int J Cancer* 2002;100:463-71.
87. Rutkowski P, Kaminska J, Kowalska M, et al. Cytokine and cytokine receptor serum levels in adult bone sarcoma patients: correlations with local tumor extent and prognosis. *J Surg Oncol* 2003;84:151-9.

## **8. ÖZET**

### **KÜÇÜK HÜCRE DIŞI AKCİĞER KANSERLERİ TANISINDA TÜMÖR BELİRTECİ OLARAK GRANÜLOSİT KOLONİ UYARAN FAKTÖR (G-CSF) VE MAKROFAJ KOLONİ UYARAN FAKTÖR (M-CSF) KULLANIMI**

KHDAK toplum sağlığını tehdit eden önemli bir sorundur. Bu kanser tipinin erken tanısının yapılabilmesi için kullanılabilir bir belirteç hali hazırda yoktur. Mevcut belirteçler bazı durumlarda tedaviyi yönlendirmede yetersiz kalabilmektedirler. Bu konu üzerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde sitokinlerin kanser tanısı ve tedavinin yönlendirilmesinde umut vaat ettiği görülmektedir.

KHDAK hastalarında tümör kaynaklı lökositozun sık görülmesi nedeniyle serum M-CSF ve G-CSF düzeylerinin bu kanser tipinde çalışması seçilmiştir. Çalışmamızda yeni tanı almış 24 KHDAK hastasının serum M-CSF ve G-CSF düzeyleri ELISA metodu kullanılarak saptanmış ve 30 sağlıklı kontrolle kıyaslanmıştır.

Elde ettiğimiz sonuçlar kontrollere kıyasla serum G-CSF düzeyinin hastalarda anlamlı derecede yüksek olduğu ancak serum M-CSF düzeylerinde ise fark olmadığıdır. Ayrıca hastalarda baskın kan nötrofil yüksekliğinin serum G-CSF yüksekliği ile birlikte olması bu sitokinin tümör kaynaklı artışını desteklemektedir. Tümör tipleri ile serum sitokin düzeyi ilişkisi ise saptanamamıştır.

Hasta sayımızın az oluşu çalışmamızın önündeki en önemli engeli teşkil etmiştir. Ayrıca hastaların takipleri halen devam ettiğinden sürvi analizleri gerçekleştirilememiştir.

Literatürde KHDAK sitokin düzeyleri için değişik sonuçlar mevcuttur fakat bizimde katıldığımız ortak kanı yapılan çalışmaların bir süre sonra tutarlı sonuçlar vereceği ve hastalar açısından verimli olacaktır.

Anahtar kelimeler: KHDAK, G-CSF, M-CSF

## **9. SUMMARY**

### **USAGE OF GRANULOCYTE COLONY STUMULATING FACTOR (G-CSF) AND MACROPHAGE COLONY STIMULATING FACTOR (M-CSF) AS POTENTIAL TUMOR MARKERS IN NON SMALL CELL LUNG CANCER DIAGNOSIS**

Non Small Cell Lung Cancer (NSCLC) is an important subject threatening public health. There is not a marker for early detection of this cancer type in practice yet. Markers in use may sometimes be insufficient for guiding treatment. When studies on this subject searched cytokines show promise in diagnosis and guiding treatment.

The reason for selecting to choose serum M-CSF and G-CSF levels are observing tumor related leukocytosis in most of the NSCLC patients. In our study we compared serum M-CSF and G-CSF levels in 24 newly diagnosed NSCLC with ELISA and then compared with 30 healthy individuals.

Our data suggests that serum G-CSF levels are significantly higher than controls but no significant difference between M-CSF levels. In addition, increased serum G-CSF level with high neutrophil counts in patients suggests tumor related increase of this cytokine. There was no relationship between serum cytokines and tumor types.

Our main obstacle was small number of patients. Patient follow up is still ongoing so no survival analysis could be performed.

There are different results in the literature about cytokine levels in NSCLC patients but the main idea, which we collaborate too, is ongoing studies will show consistent results and will be valuable for patients.

Key words: NSCLC, G-CSF, M-CSF

## **10. ÖZGEÇMİŞ**

**Adı:** Burak

**Soyadı:** Bahar

**Doğum yeri ve tarihi:** İzmit, 09.09.1978

**Eğitimi:**

(2005-2010) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D.

(1995-2003) Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi

**Yabancı dili:** İngilizce

**Üye olduğu bilimsel kuruluşlar:**

Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği

Türk Klinik Biyokimya Derneği

Türk Biyokimya Derneği

Türk Tabipler Birliği

International Federation of Clinical Chemistry

American Association of Clinical Chemistry

**Bilimsel etkinlikler:**

Yurt dışı yayınlar:

1. Sönmez K, Bahar B, Karabulut R, Gülbahar Ö, Poyraz A, Türkyılmaz Z, Sancak B, Başaklar AC. Effects of different suture materials on wound healing and infection in subcutaneous closure techniques. B-ENT. 2009;5(3):149-52.

Yurt içi yayınlar:

1. Gülbahar O, Bahar B, Hızal K, Sarı N, Durukan E, Günel Ö, Bilgihan A. Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu Nedenleri Arasında Sepsisi Ayırt etmede Prokalsitonin ve Süperoksit Dismutaz Düzeylerinin Karşılaştırılması. KÜ Tıp Fak Derg. 2007; 9(1): 15-17.

Poster sunumları:

1. Bahar B, Gülbahar O, Taşkesen A, Erçin U, Arslan F, Sancak B. Kalça kırığı olan ve olmayan osteoporozlu hastaların kemik turnover belirteçleri açısından kıyaslanması. 8. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi, 8-11 Mayıs 2008, Bodrum, Türkiye.
2. Arslan F, Güçel F, Gülbahar Ö, Bahar B, Erçin U, Sancak B. İdrar sediment ve kimyasal analizi yapan URISYS 2400 SYSMEX UF-100

- cihazı ile LABUMAT-URISED cihazının karşılaştırılması. 8. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi, 8-11 Mayıs 2008, Bodrum, Türkiye.
3. Öztürk B, Yaman E, Coşkun U, Sancak B, Benekli M, Bahar B, Büyükberber S. Mide kanserli hastalarda serum granülosit-koloni stimuli edici faktörün prognostic değeri. 5. Ulusal Tıbbi Onkoloji Kongresi, 25-29 Haziran 2008, Antalya, Türkiye.
  4. Alemdar S, Bahar B, Nalbant H, Paşaoğlu H. Hiperprolaktinemili hastalarda makroprolaktin pozitiflik oranı. 9. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi, 23-26 Nisan 2009, Antalya, Türkiye.
  5. Van der Watt G, Bahar B, Omar F, Bergstedt B. Rapid Sensitive Measurement of Leukocyte Cystine by Isotope Dilution GCMS. AACC Annual Meeting, 2009 July; Chicago, IL, USA.
  6. Çaycı B, Fidan K, Bahar B, Dalgıç A, Söylemezoğlu O, Bakkaloğlu S, Buyan N. Using cystatin C in monitoring renal function in pediatric renal transplant recipients. 43rd Annual Scientific Meeting of the European Society for Paediatric Nephrology, 2009 September; Birmingham, United Kingdom.
  7. Bahar B, Güçel F, Tuncel AF, Elbeğ Ş, Paşaoğlu H. Neonatal TSH referans aralığı. 21. Ulusal Biyokimya Kongresi, 28-31 Ekim 2009, İstanbul, Türkiye.

Katıldığı Kongreler:

1. 7. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi, 19-22 Nisan 2007, Antalya.

2. 15th Meeting of Balkan Clinical Laboratory Federation, 04-07 Sep 2007, Antalya, Turkey.
3. 8. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi, 08-11 Mayıs 2008, Bodrum.
4. 9. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi, 23-26 Nisan 2009, Antalya.
5. 21. Ulusal Biyokimya Kongresi, 28-31 Ekim 2009, İstanbul.