



T.C

SAĞLIK BAKANLIĞI  
DR.LÜTFİ KIRDAR  
KARTAL EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ  
TIBBİ ONKOLOJİ KLİNİĞİ  
EĞİTİM SORUMLUSU  
PROF. DR. MAHMUT GÜMÜŞ

**İLERİ EVRE KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERLİ  
HASTALARDA SERUM NETRİN-1 DÜZEYLERİ VE  
KLİNİKOPATOLOJİK FAKTÖRLER İLE İLİŞKİSİ**

**TIBBİ ONKOLOJİ YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

**Uzm. Dr. Mahmut Emre Yıldırım**

**İstanbul-2012**

## ÖNSÖZ

*Tıbbi Onkoloji uzmanlık eğitimim süresince, yetişmemde büyük katkıları olan , onkolojiye ve hayata dair sonsuz tecrübelerini paylaşmaktan çekinmeyen, öğrencisi olmaktan onur duyduğum çok değerli hocam **Prof. Dr. Mahmut Gümüş'** e ve benden yardım ve desteklerini esirgemeyen **Doç. Dr. Taflan Salepçi'ye, İç Hastalıkları Klinik Şefi Doç. Dr. Mehmet Aliustaoglu'na ,***

*Hastanemiz Başhekim'i **Prof. Dr. Hayrettin Yekeler ve Doç. Dr. Recep Demirhan'a,** Tezimin hazırlanmasında büyük katkıları olan hastanemiz Biyokimya Kliniği Şefi **Uzm. Dr. Asuman Orçun'a ve Uzm. Dr. Özlem Çakır Madenci'ye** sevgi ve saygılarımı sunarım.*

*Eğitimim süresince kendileri ile çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli çalışma arkadaşlarım aynı zamanda dostlarım başta **Dr. Bala Başak Öven Ustaalioğlu , Dr. Mesut Şeker , Dr. Ahmet Bilici , Dr. Burçak Yılmaz Erkol , Dr. Ramazan Yıldız , Dr. Taner Korkmaz , Dr. M. Umut Kefeli , Dr. Nurgül Yaşar , Dr. Nur Şener ve Dr. Dinçer Aydın'a,***

*Tıbbi Onkoloji kliniğinin **tüm hemşire ve personeline** teşekkürlerimi sunarım.*

*Hayatımda her zaman yanımda olan ve desteğini gördüğüm sevgili **eşim Ü. Miray Yıldırım'a** ve yaşama amacım olan biricik kızım **M. Duru Yıldırım'a** en içten teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.*

**Dr. Mahmut Emre YILDIRIM**

# **İÇİNDEKİLER**

**İç Kapak**

**Önsöz**

**Kısaltmalar**

**İçindekiler**

**1. GİRİŞ VE AMAÇ**

**2. GENEL BİLGİLER**

**2.1. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri**

2.1.1. İnsidans ve Epidemiyoloji

2.1.2. Patoloji

2.1.3. Evreleme

2.1.4. Tedavi

**2.2. Kanser belirteçleri**

**2.3. Netrin protein ailesi**

2.3.1. Netrinler

2.3.2. Bağımlı reseptör kavramı

2.3.3. Netrin-1 ve anjiogenesis

2.3.4. Apoptoz

2.3.5. Netrin-1 reseptörlerinin apoptozdaki rolleri

2.3.6. p53, apoptoz ve netrin-1

2.3.7. Kanser ve Netrin-1

**3. GEREÇ VE YÖNTEM**

**4. BULGULAR**

**5. TARTIŞMA**

**6. ÖZET**

**7. KAYNAKLAR**

## KISALTMALAR

KHAK	Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
KHDAK	Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
DCC	Deleted in Colorectal Cancer
UNC5H	Uncoordinated 5 Homolog
DSCAM	Down Syndrom Cell Adhesion Molecule
UICC	Union Internationale Controle le Cancer
ELISA	Enzyme-linked immunoabsorbant assay
ABD	Amerika Birleşik Devletler
WHO	World Health Organization
IASLC	International Association for the Study of Lung Cancer
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
PS	Performans statusü
ADD	Addiction Dependence Domain
AJCC	American Joint Committee on Cancer
BH-3 only	B Homology Domain Protein
SD	Standart sapma
BCL-2	B Cell Lymphoma-2
Bax	BCL-2 Associated X protein
TNF	Tümör nekroz faktör
Bak	BCL-2 Antagonist/Killer
APAF-1	Apoptotic Protease Activating Factor-1
DAPK	Death Associateed Protein Kinase
NRAGE	Neurotrophin Receptor-interacting Melanoma Associated Antigen Homologue
XIAP	X-chromosome-linked Inhibitor of Apoptosis Protein
PI3K	Phosphoinositide 3 Kinase

## GİRİŞ ve AMAÇ

Akciğer kanseri tüm dünyada erkek ve kadınlarda kanser ölümlerinin en sık sebebidir. Akciğer kanseri terimi ile akciğer parenkimi veya havayollarından kaynaklanan malignitelerden bahsedilmektedir. Temel olarak küçük hücreli akciğer kanseri ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri diye iki alt tipi vardır. Bunların %80' ini KHDAK histolojik tipi oluşturmaktadır. Genellikle tanı anında ileri evrede olduğundan prognozu kötü olup, KHDAK' de 5 yıllık sağkalım oranı %15 civarındadır (1). Akciğer kanserinin tedavisi; hücre tipine, tümör evresine ve hastanın performans durumuna bağlıdır. Evre I, II ve III hastalar cerrahi, kemoterapi, radyoterapi veya kombine modaliteler ile tedavi edilirken, evre IV hastalığın ana tedavisini platin bazlı palyatif sistemik kemoterapi oluşturmaktadır (2-7) . Önemli prognostik faktörler ise erkek cinsiyet, performans durumu, laktat dehidrogenaz seviyesi ve kilo kaybıdır (8, 9) .

Netrinler. sinir sisteminin embriyogenezinde nöronların migrasyonunda rol oynayan, ekstrasellüler yerleşimli laminin ile ilişkili bir proteinlerdir. Bu görevlerini silinmiş kolorektal kanser (deleted in colorectal cancer) (DCC), koordinesiz 5 homolog (uncoordinated-5-homolog) (UNC5H1, UNC5H2, UNC5H3 ve UNC5H4) ve Down Sendromu hücre adezyon molekülü (DSCAM) denilen üç ana reseptör ailesi ile yerine getirirler ( 10- 12) .

Memelilerde üç adet sekrete edilen (netrin 1, 3 ve 4) ve iki adet glikozilfosfatidilinositole bağlı membran proteinleri olan netrin G1 ve G2 saptanmıştır.

Netrin-1 spesifik bazı durumlarda onkogen olarak davranır. İnflamasyon, anjiogenez ve apoptozun düzenlenmesindeki rolünden sonra, netrin-1' in çeşitli hastalıklar veya kanserlerde biyobelirteç olarak kullanılabilceği fikri ortaya atılmıştır (13-16) .

Çalışmamızda ileri evre küçük hücreli dışı akciğer kanserli hasta grubunda serumda Netrin-1 düzeylerinde sağlıklı kontrol grubuna göre değişim olup olmadığının ortaya konulması amaçlanmıştır. Ayrıca, Netrin-1 değerleri ile klinikopatolojik faktörler arasında herhangi bir ilişki olup olmadığı araştırıldı.

## **2.GENEL BİLGİLER**

### **2.1 KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİ**

#### **2.1.1 İnsidans ve Epidemiyoloji**

Akciğer kanseri tüm dünyada en sık görülen kanserlerden biridir. 2009 yılında Amerika Birleşik Devletleri' nde (ABD) 1.449.350 yeni tanı konan kanserli vakaların 219.440 (%15)' i akciğer kanseri olup, kansere bağlı ölümlerin %28' ni oluşturmaktadır. Avrupa' da 40 ülkede de sonuçlar benzer olup tüm yeni tanı konmuş 3.200.000 kanser vakasının %12' si (391.000) akciğer kanseridir ve kansere bağlı ölümlerin de % 19. 9' nun (342.000) nedenidir (17). Ülkemizde Kanser Savaş Dairesi' nin 2004-2006 yılları arasındaki verilerine dayanarak yaşa göre düzenlenmiş insidansı 66.7/100000 olarak bulunmuştur (18). Akciğer kanserli olguların yaklaşık %70' i başvuru anında ileri evrededir (19). Sadece %15' i 5 yılın üzerinde yaşamaktadır (1).

Akciğer kanseri gelişiminde en önemli risk faktörü sigara içimi olup, günlük içilen sigara miktarı ve toplam içilen sigara yıl sayısı ile doğrudan ilişkilidir (20).

Hastaların büyük kısmı 50-70 yaş arasındadır, erkeklerde biraz daha sık görülmektedir.(erkek-kadın oranı 5:2)

#### **2.1.2 Patoloji:**

Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) ışık mikroskobu altındaki özelliklere göre alt gruplara ayrılır (21). 1960' lardan sonra adenokarsinom sıklığı hem sigara içenlerde hem de içmeyenlerde artmış olup, bugün için en sık görülen KHDAK alt tipi olmuştur (21, 22). Sigara içimi ile squamoz hücreli kansere göre daha az ilişkilidirler. Bu tümörler yüzey epiteli veya bronş mukozasındaki bezlerden kaynaklanıp, ışık mikroskobunda bez formasyonu, papiller yapılar ve müsin üretimi özellikleri sergilerler (23). Squamoz hücreli karsinom ise daha

önceki yıllarda KHDAK' lerinin en sık tipi iken bugün için ikinci sırada olup tüm KHDAK' li olguların yaklaşık %34' ünü oluşturmaktadır (22). Daha çok santral yerleşimli ve sigara içimi ile sıkı ilişkilidir.

2004 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından akciğerlerin malign epitelyal tümörleri yeniden sınıflandırılmıştır ve bu sınıflama Tablo-1' de gösterilmiştir (22).

### **Tablo-1: Akciğer Epitelyal Tümörlerinin Histopatolojik WHO/ IASLC Sınıflandırılması**

2004 Dünya Sağlık Örgütü / Uluslararası Akciğer Kanseri Çalışma Grubu İnvaziv Malign Epitelyal Tümör Sınıflaması

#### 1) Squamoz hücreli karsinom

Varyantlar;

- a) Papiller
- b) Berrak hücreli
- c) Küçük hücreli
- d) Basoloid

#### 2) Küçük hücreli karsinom

Varyantlar;

- a) Kombine küçük hücreli karsinom

#### 3) Adenokarsinom

Varyantlar;

- a) Asiner
- b) Papiller
- c) Bronkoalveolar karsinom

Non-musinöz (Clara hücreli/tip 2 pnömosit tip)

Müsinöz ( goblet hücreli tip)

Mikst müsinöz ve non-müsinöz veya indermediate

d) Solid adenokarsinoma müsin formasyonu ile

e) Mikst

Varyant;

a) İyi diferansiye fetal adenokarsinom

b) Müsinöz

c) Müsinöz kistadenokarsinom

d) Taşlı yüzük hücreli

e) Berrak hücreli

4) Büyük hücreli karsinom

Varyantlar;

a) Büyük hücreli nöroendokrin karsinom

b) Kombine büyük hücreli nöroendokrin karsinom

c) Bazaloid karsinom

d) Lenfoepitelyoma benzeri karsinom

e) Berrak hücreli karsinom

f) Rabdoid fenotip içeren büyük hücreli karsinom

5) Adenosquamoza karsinom

6) Pleomorfik, sarkomatoid veya sarkomatoz elemanlar içeren karsinomlar

Varyantlar;

a) İğsi ve/veya dev hücreli karsinom

b) Pleomorfik karsinom

c) İğsi hücreli karsinom

d) Dev hücreli karsinom

7) Karsinosarkom

Varyantlar;

a) Blastoma

b) Diğerleri

8) Karsinoid tümör

Varyantlar;

a) Tipik karsinoid

b) Atipik karsinoid

9) Tükürük bezi tip karsinomlar

Varyantlar;

a) Mukoepidermoid karsinom

b) Adenokistik karsinom

10) Sınıflandırılmayan karsinom

### 2.1.3 Evreleme:

2010 yılından itibaren KHDAK evrelemesi Amerikan Kanser Komitesinin 7. baskısına bağlı olarak değişti.

### Tablo-2: TNM (tümör-nod-metastaz) Sınıflaması ( 2, 19)

Primer tümör (T)

Tx: Primer tümörün belirlenememesi veya balgam ya da bronş lavajında malign hücrelerin tespit edilip, görüntüleme teknikleri ya da bronkoskopi ile tümörün görülememesi

T0: Primer tümör belirtisi yok

Tis: Karsinoma in situ

T1: En geniş çapı < 3 cm, akciğer veya visseral plevra ile çevrili, bronkoskopik olarak lob bronşundan daha proximale ( ana bronşa) invazyon göstermeyen tümör

T1a: En geniş çapı  $\leq 2$ cm

T1b: En geniş çapı 2 cm' den büyük 3 cm' den küçük

T2: Tümörün 3 cm' den büyük fakat 7 cm' den küçük veya aşağıdaki özelliklerden en az birine sahip olması

Ana bronşa invaze ancak ana karinaya uzaklık > 2cm

Visseral plevra invazyonu

Hiler bölgeye ulaşan ancak tüm akciğeri kapsamayan obstrüktif pnömoni veya atelektazi

T2a: Tümör 3 cm' den büyük fakat 5 cm' den küçük

T2b: Tümör 5 cm' den büyük fakat 7 cm' den küçük

T3: Tümör çapının 7 cm' den büyük veya aşağıdaki özelliklerden herhangi birine sahip olması

Göğüs duvarı ( superior sulkus tümörleri dahil), diyafragma, mediastinal plevra, pariyetal perikard gibi yapılardan herhangi birine direkt invazyon göstermesi

Karinaya 2 cm' den daha yakın, ancak karinayı tutmayan ana bronştaki tümör

Bütün bir akciğeri kapsayan atelektazi veya obstrüktif pnömoni ile birlikte olan tümör

Primer tümör ile aynı lobda ayrı bir tümör nodülü

T4: Tümörün herhangi bir büyüklükte olup mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, özafagus, vertebral kolon, karina gibi yapılardan herhangi birini invaze etmesi, primer tümör ile aynı tarafta farklı bir lobda ayrı bir tümör nodülü

Bölgesel Lenf Nodu (N)

Nx: Bölgesel lenf bezlerinin değerlendirilememesi

N0: Bölgesel lenf bezi metastazı yok

N1: Aynı taraf peribronşiyal ve/veya aynı taraf hiler lenf bezlerine metastaz ve primer tümörün direkt yayılması ile intrapulmoner bezlerin tutulması

N2: Aynı taraf mediastinal ve/veya subkarinal lenf bezlerine metastaz

N3: Karşı taraf mediastinal, hiler aynı veya karşı taraf supraklavikular veya skalen lenf bezi metastazı

Uzak Metastaz (M)

Mx: Uzak metastaz varlığının değerlendirilememesi

M0: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz var

M1a: Karşı akciğerde farklı bir tümör nodülü, plevra tümör nodülü, malign plevral veya perikardiyal sıvı

M1b: Uzak metastaz

**Tablo-3:KHDAK ‘ de TNM Sınıflaması**

<b>T/M</b>	<b>Subgroup</b>	<b>N0</b>	<b>N1</b>	<b>N2</b>	<b>N3</b>
<b>T1</b>	T1a	Ia	IIa	IIIa	IIIb
	T1b	Ia	IIa	IIIa	IIIb
<b>T2</b>	T2a	Ib	IIa	IIIa	IIIb
	T2b	IIa	IIb	IIIa	IIIb
<b>T3</b>	T3 <sup>&gt;7</sup>	IIb	IIIa	IIIa	IIIb
	T3 <sub>Inv</sub>	IIb	IIIa	IIIa	IIIb
	T3 <sub>Satell</sub>	IIb	IIIa	IIIa	IIIb
<b>T4</b>	T4 <sub>Inv</sub>	IIIa	IIIa	IIIb	IIIb
	T4 <sub>Ipsi Nod</sub>	IIIa	IIIa	IIIb	IIIb
<b>M1</b>	M1a <sub>Contra Nod</sub>	IV	IV	IV	IV
	M1a <sub>Pl Disem</sub>	IV	IV	IV	IV
	M1b	IV	IV	IV	IV

#### **2.1.4 Tedavi:**

KHDAK’ de günümüzde hala tek küratif tedavi yöntemi cerrahi olup, bu şansa sahip hastalar tüm hastaların sadece %25-30’ unu oluşturmaktadır. Evre I, II ve III hastalar cerrahi, kemoterapi, radyoterapi veya kombine modaliteler ile tedavi edilirken evre IV hastalığın ana tedavisini platin bazlı palyatif sistemik kemoterapi oluşturmaktadır ( 2-7). Önemli prognostik faktörler ise erkek cinsiyet, performans durumu, laktat dehidrogenaz seviyesi ve kilo kaybıdır ( 8, 9).

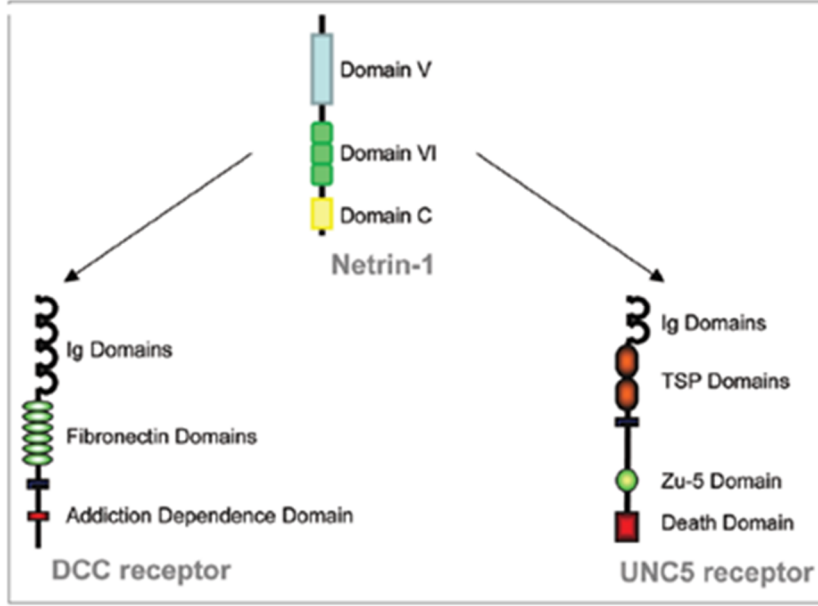
## **2.2. Kanser belirteçleri:**

Tüm dünyadaki ölüm sebeplerinin yaklaşık %13' ünün sebebinin kansere bağlı ölümler olduğudur. Böylesine yüksek bir orana sahip hastalığın erken tanı ve tedavisi de kuşkusuz önemlidir. Biyobelirteçler kanser durumunu belirlemede, tedaviye cevabı tayin etmekte araç olarak kullanılabilirler. Optimal bir kanser belirtecinin hem özgüllük hem de duyarlılığının yüksek, düşük maliyetli ve kolay uygulanabilir olması gerekmektedir. Günümüzde çok az sayıda kanser belirteci klinikte bu amaçla kullanılır(24, 25). Bu nedenle yeni biyobelirteçlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

## **2.3. Netrin protein Ailesi**

### **2.3.1 Netrinler**

Netrinler; sinir sisteminin embriyogenezisi sırasında nöronların migrasyonunda rol oynayan, ekstrasellüler yerleşimli laminin ile ilişkili proteinlerdir. Bu görevini silinmiş kolorektal kanser (deleted in colorectal cancer) (DCC), koordinesiz 5 homolog (uncoordinated-5-homolog) (UNC5H1, UNC5H2, UNC5H3 ve UNC5H4) ve Down Sendromu hücre adezyon molekülü (DSCAM) denilen üç ana reseptör ailesi ile yerine getirirler. Memelilerde üç adet sekrete edilen (netrin 1, 3 ve 4) ve iki adet glikozilfosfatidilinositole bağlı membran proteinleri olan netrin G1 ve G2 saptanmıştır (10-12).

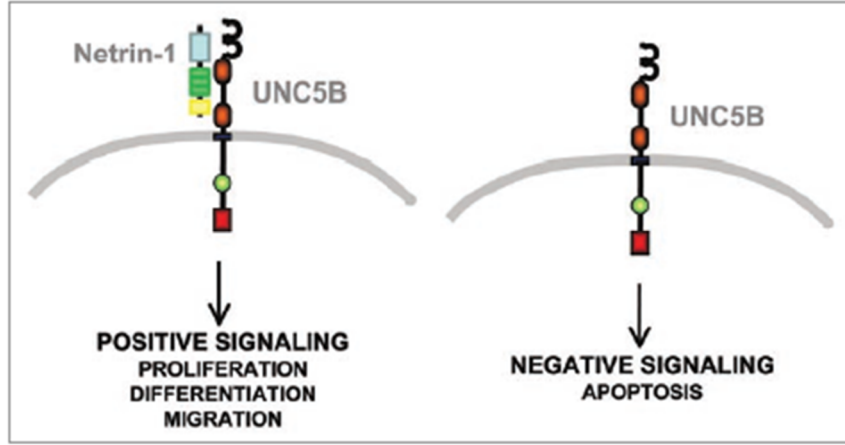


**Şekil-1: Netrin-1 ve Reseptörleri.** DCC (Deleted colorectal cancer) reseptörü; dört adet immüoglobülin benzeri bölge, bir adet fibronektin bölgesi ve bir adet bağımlılık bölgesinden (ADD) oluşurken, UNC5 (uncoordinated-5-homolog) reseptör ailesi; iki adet immüoglobülin benzeri bölge, bir adet trombospondin bölgesi, birer adet zona okcludens ve ölüm bölgesinden oluşur.

### 2.3.2 Bağımlı Reseptör Kavramı::

Klasik tek yönlü reseptörler, ligandı ile bağlanıncaya kadar inaktif halde bulunurlar ve bağlandıktan sonra aktif hale gelirler. İki yönlü reseptör denilince ise; ligand varlığında diferansiyasyon, proliferasyon ve migrasyon için pozitif sinyaller yollayan, bağlı olmadığı durumda ise hücreyi ölüme sürükleyen yolağı aktive eden reseptörler anlaşılmaktadır. Bunlara bağımlı reseptörler (dependence receptors) denilmektedir. Bağımlı reseptörlere örnek olarak, neurotrophin reseptör P75, androgen reseptör, DCC reseptörleri, RET, UNC5H, neogenin ve integrinler sayılabilir (26-32). Bu reseptörler; transmembran reseptörleri olup, iki adet immüoglobülin benzeri bölge, iki adet

torombospondin bölgesi, birer adet de transmembran bölgesi, Zu-5 bölgesi ve ölüm bölgesinden oluşurlar. Netrin-1 akson ve nöronların migrasyonunda bazen kemoatraktif rol oynarken bazen de kemorepulsif şekilde görev alır. Bu etkilerini de DCC ve UNC5H reseptör aileleri ile yerine getirir.



**Şekil-2: Bağımlı reseptör modeli.** Örnek olarak UNC5B; Netrin-1 UNC5B reseptörüne bağlanınca pozitif sinyaller ile proliferasyon, diferansiyasyon ve/veya migrasyona sebep olur. Klasik reseptörlerin tersine UNC5B; netrin-1 yokluğunda inaktif değildir ve negatif sinyaller ile apoptoz kaskadını başlatır.

### 2.3.3. Netrin-1 ve Anjiogenez:

Kompleks organizmalarda vasküler ağın devamının sağlanması için yeni damar oluşumuna gereksinim vardır. En temel anlatımıyla vaskülogenez primitif damar oluşumu iken anjiogenez var olan damarların dallanması olarak açıklanabilir. Anjiogenez fetal gelişimde, büyüme çağında, menstruel siklusda ve yara iyileşmesi gibi fizyolojik durumlarda olabileceği gibi neovasküler göz hastalıkları, çeşitli

otoimmün hastalıklar ve kanser gibi durumlarda da patolojik şekilde ortaya çıkabilir (33). Anjiogenesis; anti-anjiogenik faktörler ile anjiogenik faktörler arasındaki dengenin kaybolması ile oluşur. Bu faktörlerden biri de anjiogenik rolü olan netrin-1‘ dir.

Pro-anjiogenik faktörlerin etkisi sonucu proteolitik enzimler yardımı ile önce bazal membran ve ekstrasellüler matriks yıkılır, sonra endotel hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonu ile yeni kapiller tüpler oluşur.

Netrin-1 ile anjiogenesis arasındaki ilişki esas olarak UNC5H reseptör ailesi aracılığı ile olur. Bu reseptör netrin-1 ile bağlı iken yeni damar oluşumunu artırırken, reseptörün boş olduğu durumda ise apoptotik bir sinyal yolağı aktive edilmiş olur (34-37).

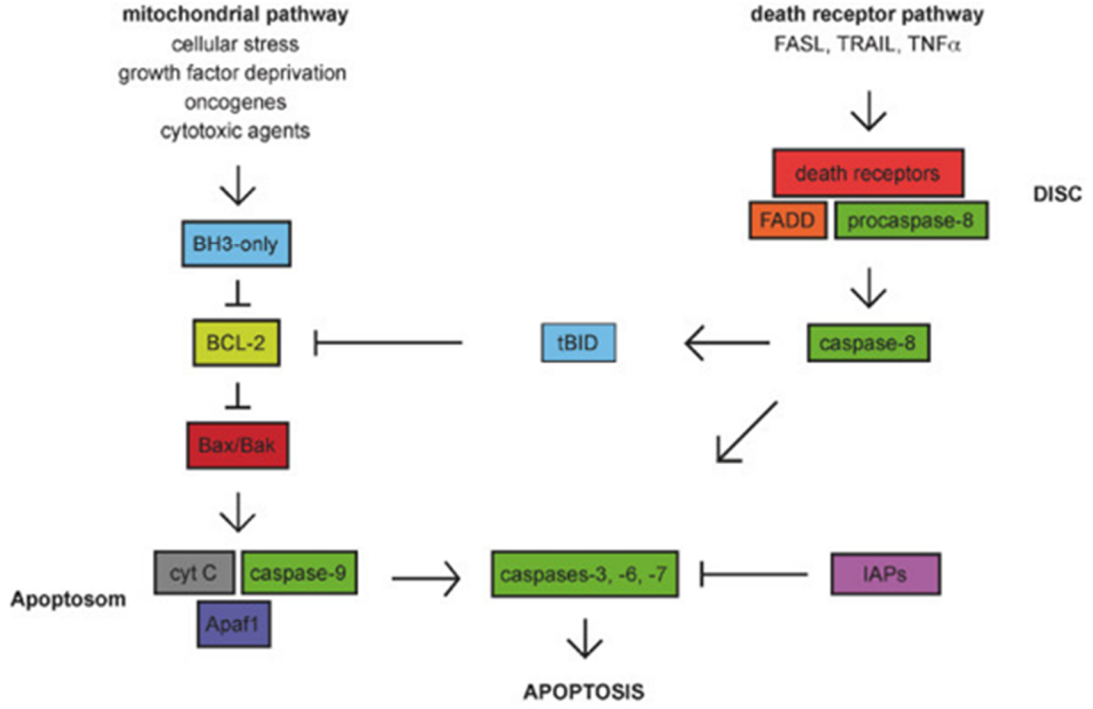
#### **2.3.4 Apoptoz:**

Hücre tipine ve diferansiyasyon durumuna göre hücreler yaşamlarını sürdürmek için çeşitli uyarılara ihtiyaç duyarlar. Mesela prostat epitel hücreleri yaşamak için testesterona ihtiyaç duyarlarken bu uyarının ortadan kalkması apoptoza yol açar. Hücre yaşam döngüsünde bozulma, büyüme sinyallerinde kendine yeterlilik apoptozdan kaçınma, doku invazyonu, metastaz ve yeni damar oluşumu hemen hemen tüm kanserlerin patogeneğinde ve progresyonunda yer almaktadır (38). Programlı hücre ölümü olarak tanımlanan apoptoz, normal doku homeostazını sağlamada önemli rol oynamaktadır. Apoptoz; kaspaz adı verilen bir grup sistein proteaz tarafından düzenlenmektedir. Kaspazlar öncü formlarda sentezlenmekte, yarıklanma ile aktive edilmektedirler. Birbirlerini aktive eden kaspazlar, proteaz kaskatı oluşturarak, hücreyi apoptoza yönlendirmektedirler. Ayrıca yarıklanma sırasında oluşan çok sayıda nükleer lamin, DNAaz inhibitörleri, yapısal proteinler gibi substratlar, apoptozun tipik morfolojik bulgularının ortaya çıkmasına yol açmaktadırlar (39). Kaspaz 2 ve 9’ un

aktivasyonu ile sonuçlanan, endoplazmik retikulum ile indüklenen apoptoz ve sitotoksik T hücreleri ve doğal öldürücü hücrelerin kaspaz 3' ü direkt aktive ettiği minör yollar dışında apoptozun başlangıcında iki yolak bulunmaktadır. Yolların her ikisi de, kaspaz 3, kaspaz 6 ve kaspaz 7 aktivasyonu ile sonlanmaktadır (40, 41).

Birinci yolak, intrinsek ya da mitokondrial yolak olarak isimlendirilmektedir ve mitokondri, apoptozun başlamasında anahtar rol oynamaktadır. Değişik apoptotik uyarıların, apoptozu tam olarak nasıl başlattığı net olarak bilinmemekle birlikte, Bcl-2 protein gen ailesinin, proapoptotik ve antiapoptotik üyelerinin arasındaki dengesizlik sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Bu dengesizlik, sonuçta mitokondri dış zarı bütünlüğünde bozulma ve Bcl-2 protein ailesinden, proapoptotik BAX ve/veya BAK aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır. Bu aktivasyon, mitokondri iç zarından bir takım apoptotik düzenleyicilerin salınımına neden olmaktadır. Sitozolda; sitokrom C, ATP ve başlatıcı pro kaspaz 9, apoptozom multiprotein kompleksini (AMK) oluşturarak, başlatıcı kaspaz 9' u aktiflemektedirler (41,42).

İkinci yolak, ekstrinsek yolak olarak isimlendirilir ve hücre yüzeyindeki değişik ölüm reseptörleri tarafından düzenlenmektedir. Hücre yüzeyindeki ölüm reseptörleri, tümör nekroz faktör (TNF) süperailisinin üyeleridir. TNF, FAS ve TRAIL ailenin en iyi bilinen üyeleridir. Spesifik ligandlar tarafından aktive edilen reseptörler, FADD (FAS ile ilişkili ölüm zincir proteini), kaspaz 8 ve kaspaz 10 ile birlikte, ölümü uyaran sinyal kompleksini oluşturmaktadırlar (43, 44).



**Şekil-3:** Apoptoz yolları. BH-3 only: B homology domain protein, BCL-2: B cell lymphoma-2, Bax: BCL-2 associated X protein, Bak: BCL-2 antagonist/killer, tBID: truncated BH3 interacting domain death agonist, Apaf1: Apoptotic protease activating factor 1, FADD: Fas associated protein with Death Domain, IAPs: The inhibitors of apoptosis

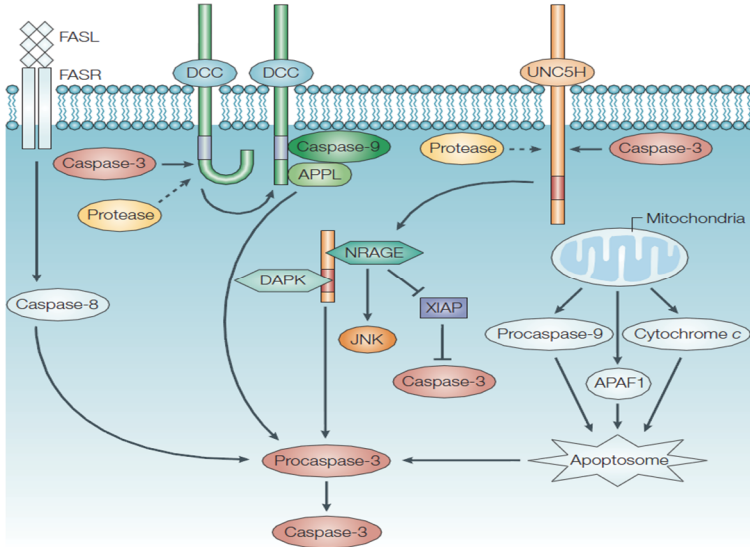
### 2.3.5. Netrin -1 reseptörlerinin apoptozdaki rolleri:

Netrin-1 reseptörleri olan DCC ve UNC5H esas rolleri; ligandları olan netrin-1' in varlığında nöronları migrasyonunu sağlamaktır. Bunlar bağımlı reseptörlerdir. Netrin-1 ile bağımlı iken proapoptotik aktiviteyi bloke ederler, tersine ligand yokluğunda hücre ölümüne giden yolağı aktive ederler (45-48). Bağımlı reseptörlerin apoptosisteki rolleri 3 basamaktan oluşur.

1) Bağımlı reseptörlerin monomerizasyonu: DCC ve/veya UNC5H reseptörlerinin netrin-1 uyarısı sonucu multimerize olması ile apoptozun inhibisyonunda ilk basamak başlar, tersi durumda da yani reseptörlerin monomerizasyonunda da proapoptotik aktivite ortaya çıkar (49). Reseptörlerin yapısal değişikliklerinden sonra ikinci önemli

basamak kaspazların aktivasyonudur. Kaspazlar bir grup sistein proteaz olup, bunlar intrasellüler proteinleri aspartat rezidülerine ayırırlar. DCC hem direkt yolla kaspaz 3 hem de indirekt yolla kaspaz 9 aktivasyonunu başlatabilir (45). Son olarak başlangıç kaspaz aktivasyonundan sonra özellikle kaspaz 3 tarafından DCC reseptörü uygun bölgesinden klevaja uğrayarak monomerize olup tekrar açıklanan kaskadı başlatır.

UNC5H bağımlı reseptöründe ise durum biraz daha farklıdır. Yine burada da başlangıç kaspaz 3 aktivasyonu ile olmakta ancak daha sonra, proapoptotik partner olarak özellikle UNC5H2 DAPK (death associated protein kinase) (ölüm ile ilişkili protein) yolağı ile UNC5H1 reseptörü ise NRAGE, XIAP ve JNK yolları ile hücreyi apoptoza götürürler (50).



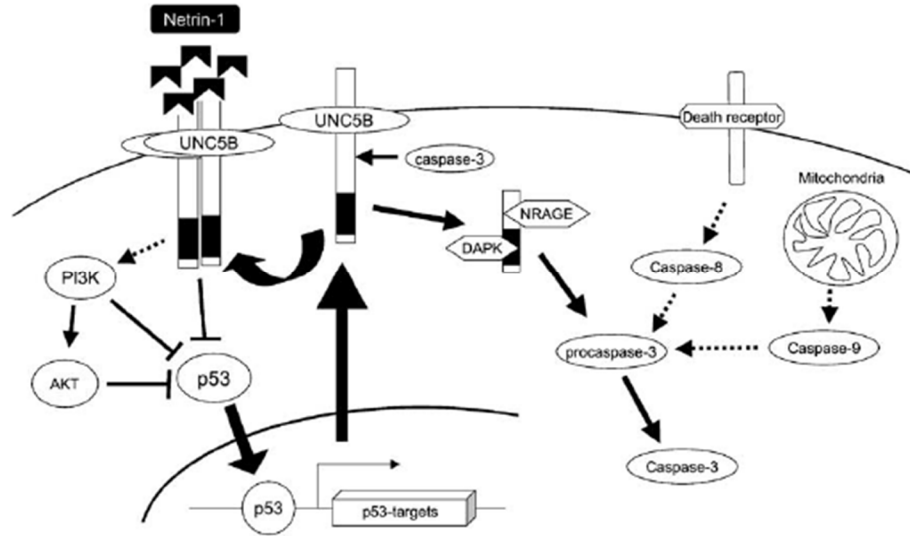
**Şekil-4: Netrin reseptörlerinin pro-apoptotik sinyal yolağı.**

**DAPK:** death associated protein kinase, **NRAGE:** neurotrophin receptor-interacting melanoma associated antigen (MAGE) homologue, **XIAP:** X-chromosome-linked inhibitor of

apoptosis protein, **JNK:** JUN N-terminal kinase, **APAF1:** apoptotic protease activating factor 1; **FASL:** FAS ligand; **FASR:** FAS receptor

### 2.3.6 p53, Apoptoz ve Netrin-1:

Bilinen en önemli tümör supressor gen olan p53' ün bu görevini yerine getirirken ki ana rolü apoptozu düzenlenmesidir (51). p53 apoptozu düzenlerken iki yol kullanmaktadır. Birincisi mitokondrial yol ile Bax, Noxa, APAF-1 gibi hedef genlerin regulasyonu iken ikinci yol ise Fas ve Killer /DR5 hedef genleri ile ilişkili ölüm-reseptör yolağıdır (52-55). p53' e bağlı apoptozdaki bir diğer hedef ise UNC5B' dir. Bu; mitokondrial ve ölüm-reseptör yolağından bağımsız, DAPK ve NRAGE molekülleri ile ilişkili bir yoldur (56, 57).



**Şekil-5: Netrin-1, reseptörleri, p53 ve apoptoz ile ilişkisi.** Netrin-1'in yokluğunda p53 tarafından uyarılan UNC5B intrasellüler bölgesinden klevaja uğrar ve sonuçta ölüm bölgesi içeren peptit açığa çıkar. Bu peptit DAPK ve NRAGE ile iletişime geçip, kaspaz 3 aktivasyonuna ve apoptoz indüksiyonuna sebep olur. Bu yol mitokondrial ve death-reseptör apoptotic yolağından bağımsızdır. Netrin-1 varlığında, UNC5B' ye bağlanarak reseptörün homodimerizasyonuna bu da kaspaz klevajına engel olur.

Netrin-1' in antiapoptotik özelliği hala tam olarak açıklanamasa da, en az iki yol olduğu gösterilmiştir. Birinci yol, bağımlı reseptörlerin intrasellüler bölgelerinin değiştirilmesi ve buna bağlı kaspaz klevajının önlenmesidir. Daha önemli gibi gözüken ikinci yolda ise; PI3K-AKT yolağı ile antiapoptotik sinyallerin gönderilmesidir (58, 59).

### **2.3.7 Kanser ve Netrin-1**

Netrin-1 spesifik bazı durumlarda onkogen olarak davranır. Netrin-1' in eksprese olduğu bazı kanserlerde p53'e bağlı antiapoptotik yolaklar inhibe olur. Bu bulgulardan yola çıkarak, inflamasyon, anjiogenez ve apoptozun düzenlenmesindeki rolünden sonra, netrin-1' in çeşitli hastalıklar veya kanserlerde biyobelirteç olarak kullanılabileceği fikri ortaya atılmıştır (13, 14). Ramesh ve arkadaşlarının bir çalışmasına göre renal, karaciğer, prostat, meningioma, glioblastoma multiforme ve meme kanserinde dolaşımdaki netrin 1 seviyelerini yüksek bulmuşlar iken, kolon, akciğer ve pankreas kanserinde yüksek saptamamışlardır (15). Diğer bir çalışmada ise KHDAK' li 92 olgunun yaklaşık yarısında immunohistokimyasal olarak netrin-1 ekspresyonu saptanmıştır (16).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza Nisan 2011 ile Eylül 2011 tarihleri arasında Dr. Lütü Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Kliniğinde takip ve tedavi edilen, yeni tanı konulmuş ileri evre küçük hücreli dışı akciğer kanserli (lokal ileri ya da metastatik) 27 hasta alındı. Hastaların evrelemeleri tanı konulan tarihteki mevcut klinik ve radyolojik bulgularına göre AJCC/ TNM evreleme sistemi 7. versiyon kullanılarak yapıldı (60).

Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performans skoru (PS)  $\leq 2$ , normal seviyede bilirubin, karaciğer transaminaz düzeyleri ve renal fonksiyonları olan, lökosit değeri  $>4,000/mm^3$ , mutlak nötrofil sayısı  $>1,500/mm^3$  ve trombosit sayısı  $>100,000/mm^3$  olan hastalar çalışmaya alındı. Altı ay içinde kemoterapi almış ve bilinen başkaca malignitesi, diyabetes mellitus veya kontrol edilemeyen enfeksiyonu olan hastalar çalışmaya alınmadı. Hastaların tanı anındaki yaşı, cinsiyeti, PS'u, histopatolojik tipi ve tümör evresi gibi klinik bilgileri hastalardan yazılı izin alındıktan sonra hasta dosyalarından elde edildi. Çalışma öncesi Dr. Lütü Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi bilimsel danışma kurulundan onay alındı.

Hastalar performans durumuna göre platin bazlı ikili kombinasyon kemoterapisi veya tek ajan kemoterapi rejimlerini aldılar. Verilen kemoterapi rejimleri; karboplatin AUC 5-6 + paklitaksel  $175mg/m^2$  1.gün, 21 günde bir, cisplatin  $75mg/m^2$  1.gün + dosetaksel  $75 mg/m^2$  1.gün 21 günde bir ve tek ajan gemitabin  $1000-1250 mg/m^2$  1. ve 8.gün 21 günde bir idi.

### **Plazma örneklerinin toplanması**

Yirmi yedi lokal ileri ya da metastatik küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastadan kemoterapi verilmeden önce 5 mL kuru tüpe periferik kan örneği alındı ve 30 dakika içinde

1000 g' de 10 dakika santrifüje edilerek serum elde edildi. Serum örnekleri -20<sup>0</sup>C' de biyokimyasal analiz zamanına kadar saklandı. Tüm örnekler aynı anda değerlendirildi. Serum Netrin-1 düzeyleri kemoterapi öncesi ölçüldü.

### **Netrin-1 değerlerinin ölçümü:**

Netrin-1 seviyeleri ELISA kiti (CSB-E11899h, CUSABIO BIOTECH Co., Hubei, China) kullanılarak ölçüldü. Örnekler 1:1 oranında 0 U/L konsantrasyonunda Netrin-1 içeren standart A solüsyonuyla sulandırıldı. ELISA Netrin-1' i tanımada yakalayıcı olarak biotin-konjuge poliklonal antikor ve dedektör olarak da horseradish peroxidaz ile konjuge Netrin-1 kullandı. Sonunda 450 nm' de mikro levha okuyucusunda absorbans ölçüldü. Bilinen konsantrasyonlara karşı ölçülen absorbanslarla standart eğri çizildi ve Netrin-1 verileri U/L olarak kaydedildi. Tüm değerler üretici önerilerine göre belirlendi. Netrin-1 ELISA üniteleri sentetik peptid kullanılarak tanımlandı. Netrin-1 seviyeleri için ölçüm sınırları sırasıyla 0-1000 U/L idi.

### **İstatistiksel Yöntem:**

Tüm istatistiksel analizler SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) sürümü kullanılarak yapıldı. Hasta sayısının 30' dan az olması nedeni ile grup ortalamalarının karşılaştırılmasında non parametrik test olarak Mann-Whitney U testi kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler, sürekli değişkenler için %95 güvenlik aralığında ve ortalama  $\pm$  SE (standart hata değeri) biçiminde ifade edildi. Ortalama serum Netrin-1 değerlerinin klinikopatolojik faktörler ile ilişkisi Mann-Whitney U ve Wilcoxon testi ile değerlendirildi. Kemoterapi sonrası elde edilen cevaplar WHO kriterlerine göre değerlendirildi (61). Hastalık kontrolü olarak, tam cevap (CR), kısmi cevap (PR) ve stabil hastalık (SD) birlikte değerlendirildi. Tüm p değerleri 2 yanlı olup, 0.05'e eşit ya da altındaki değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

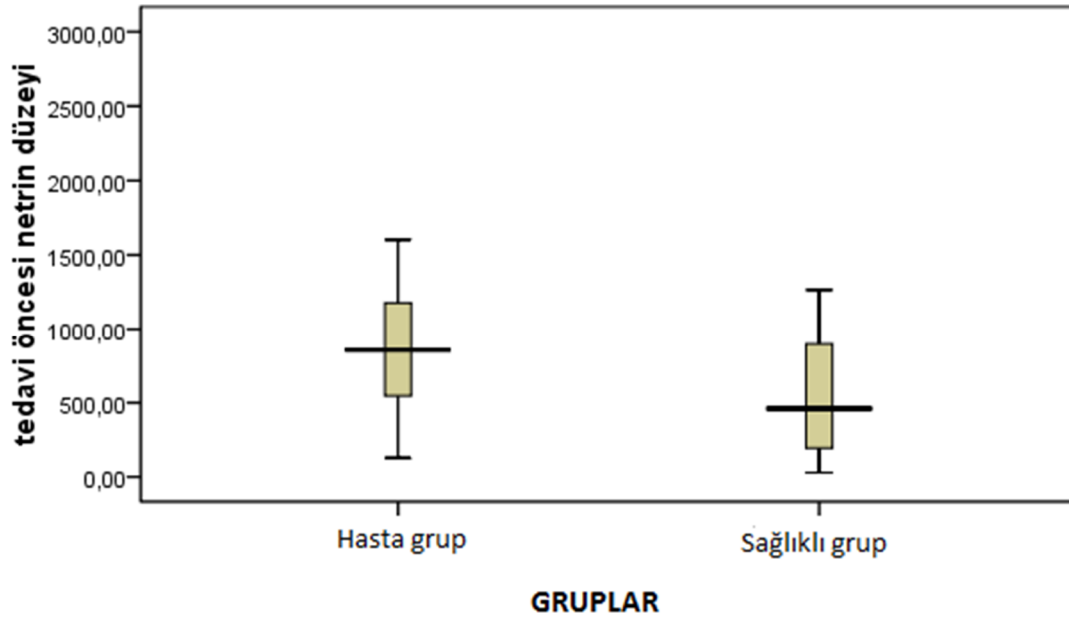
Yeni tanı almış yirmi yedi ileri evre (evre III ve IV) KHDAK ve yirmi altı kontrol hastası çalışmaya alındı. Hastaların medyan yaşı 61 olup (aralık 50-78) 3 hasta kadın (%11.1) 24 hasta (%88.8) erkekti. Kontrol grubunda toplam 26 kişi alındı, bunların 7'si (% 26.9) kadın 19'u (% 73.1) erkekti. Bu grupta medyan yaş 55 (aralık 43-62) olarak bulundu. Evrelere göre hastaların dağılımına bakıldığında; 2 hasta evre IIIA, 6 hasta evre IIIB, diğer 19 hasta ise evre IV idi. Metastatik 7 hastada birden fazla iç organ tutulumu varken, diğerlerinde yalnızca kemik, karşı akciğer, karaciğer veya sürrenal bez tutulumu saptandı. Olguların %63'ünde (17 hasta) histopatolojik tip olarak adenokarsinom saptanırken, %37'inde (10 hasta) squamoz hücreli karsinom bulundu. Hastaların ECOG performans skorlarına bakıldığında yirmibeş hastada (% 92.6) PS 0-1 iken iki hastanın (% 7.4) PS 2-4 idi.

**Tablo-4 : Hastaların Klinik Özellikleri**

Değişken	n (%)
Medyan yaş (aralık)	61 (50-78)
Cinsiyet	
Kadın %	3 (11.1)
Erkek %	24 (88.9)
Yaş	
≤ 60	12 (44.4)
>60	15 (55.6)
Performans durumu	
0-1	18(66.7)
2-4	9 (33.3)
Evre	
Lokal ileri	8 (29.6)
Metastatik	19(70.4)
Histopatolojik tip	
Adenokarsinom	17(63)
Squamoza hücreli karsinom	10(37)

Çalışmaya alınan yirmiyedi küçük hücreli dışı akciğer kanserli hasta ile yirmialtı kontrol hastasının plazma bazal Netrin-1 seviyeleri karşılaştırıldığında ortalamaları arasında anlamlı fark bulundu ( $p<0.05$ ). Bu iki grup arasında Netrin-1 değerleri Şekil 5’ de gösterilmiştir. Akciğer kanserli hastalarda bazal plazma Netrin-1 değeri ile cinsiyet, yaş, performans

durumu, histopatolojik tip, klinik evre ve kemoterapi bitimi sonrası tedavi cevapları arasında anlamlı ilişki saptanmadı ( $p>0.05$ ). Bazal serum Netrin-1 değerleri ile klinikopatolojik faktörler arasındaki ilişki Tablo 5' te listelenmiştir.



**Şekil-6:** KHDAK'li hastalar ile kontrol grubu arasındaki Netrin-1 ortalamaları

**Tablo-5: Hastaların Klinik Özelliklerine Göre Serum Netrin-1 Seviyeleri**

	Netrin-1(Ort±SD)	p
Hasta grup	856.98±615.33	0.012*
Kontrol grup	461.09±411.58	
Cinsiyet		0.758
Kadın	707.22±527.17	
Erkek	919.85±635.36	
Yaş		0.49
≤60	752.43±603.48	
>60	992.78±638.90	
Performans		0.23
0-1	982.72±617.56	
2-4	478.86±438.27	
Histopatolojik tip		0.20
Adenokarsinom	788.76±554.63	
Squamos hücreli karsinom	1053.50±691.83	
Evre		0.75
Lokal İleri	919.88±396.56	
Metastatik	797.14±695.91	
Cevap		0.09
CR, PR, SD	1053.54±785.97	
PD	672.48±465.71	

CR: Tam remisyon, PR: Parsiyel Remisyon, SD: Stabil Hastalık, PD: Progresif Hastalık

## TARTIŞMA

Akciğer kanseri halen tüm dünyada ve ülkemizde kansere bağlı ölümlerin en sık sebebinin oluşturmaya devam etmektedir (17, 18). Küçük hücreli ve küçük hücreli dışı olmak üzere iki ana alt tipi vardır. Erken tanındaki ilerlemelere ve tedavide kullanılan ajanlardaki gelişmelere rağmen, küçük hücreli dışı akciğer kanseri genellikle ileri evrede yakalanır. Günümüzde hala tek küratif tedavi yöntemi cerrahi olup, hastaların sadece %15' i 5 yıl ve üzerinde yaşamaktadır (1).

Literatürde çeşitli biyobelirteçlerin akciğer kanserinin prognozunu ve tedaviye cevabını belirlemedeki yerleri değerlendirilmiştir. Böylece son yıllarda onkolojideki gelişmelere rağmen halen sağkalımda belirgin bir iyileşme sağlanamayan akciğer kanserlerinin tedavisi üzerine olumlu etkiler ve olası tedavi hedeflerini elde etmek amaçlanmıştır. Günümüzde çok az biyobelirteç klinik kullanıma özelliklerine sahiptir. Bunlarının çoğunun özgüllük ve duyarlılığı düşük olup, yine bir çoğu birden fazla kanserde ve kanser dışı hastalıklarda da yüksek bulunur. Bu nedenle biyobelirteçlerin klinikte daha fazla kullanılmaları için geniş araştırmalara ihtiyaç vardır (25).

Malign transformasyon sonucu çeşitli proteinler değişime uğrar ve değişime uğrayan bu proteinlerin tümör hücreleri tarafından dolaşıma salınırlar. Bunlar plazmada hem kantitatif hem de kalitatif yöntemler ile ölçülüp, değişen seviyeleri; tanıda, prognozda ve tedaviye cevabı tahmin etmekte kullanılabilirler.

Netrin-1; embriyogenesis sırasında aksonların migrasyonuna rehberlik eden bir protein olup, bu görevini DCC, UNC5H ve DSCAM reseptör aileleri ile yerine getirir (10-12). Çalışmalar netrin-1' in sinir sistemi dışında, meme bezi, pankreas ve akciğer gibi epitelyal dokuların gelişiminde de rol oynadığını, bunu da adezyon, motilite, proliferasyon ile apoptozu regüle ederek yaptığını göstermiştir (62-64). Aynı zamanda inflamasyon, apoptoz ve anjiogenezi

düzenleyen netrin-1' in bu nedenle birçok kanser dokusunda ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (65-67). Ramesh ve arkadaşları; yaptıkları çalışmada netrin-1' in sadece tümör dokusunda bulunmadığını, ek olarak dolaşımda da tespit edilebileceğini göstermişlerdir (15).

Biz de bu çalışmadan yola çıkarak, KHDAK' de serum netrin-1 düzeylerinin sağlıklı bireylerden yüksek olup olmadığını ve bu belirtecin tedavi öncesi prognostik önemini araştırdık.

Hastalardan tedavi öncesi plazma bazal netrin-1 düzeyleri ölçüldü ve bu değerler kontrol grubundaki kişilerin plazma netrin-1 seviyeleri ile karşılaştırıldı. Akciğer kanserli grubun netrin-1 ortalamalarının sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunduğu saptandı (p:0.012). Bernet ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; KHDAK' li tümör doku örneklerinde netrin-1' in yüksek seviyede eksprese olduğu gösterilmiştir (16). Fakat bizim çalışmamızdan farklı olarak, Ramesh ve arkadaşları; kolon, pankreas ve akciğer adenokarsinomlarında plazma netrin-1 seviyelerini yüksek bulmamışlar. Bunun nedenini tam olarak bilinmese de, gastrointestinal kanalın ve plevral sıvının netrin-1 sekrete ettiği görüşü ile açıklamışlardır.

Histopatolojik alt tip ile netrin-1 seviyeleri arasındaki ilişkiye bakıldığında, squamoz hücreli karsinom vakalarımızda adenokarsinom vakalarına göre ortalama netrin-1 düzeyi yüksek olmasına rağmen bu değer istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmıyordu. Bernet ve arkadaşları kendi analizlerinde, tam tersine adenokarsinom tümör doku örneklerinde netrin-1' in daha fazla eksprese olduğunu göstermişlerdir (65). Ramesh akciğer adenokarsinomlarında plazma netrin-1 seviyesini yüksek bulmazken, Bernet' in adenokarsinomlu doku örneklerinin daha fazla netrin-1 eksprese ettiğini göstermesi akla tümör dokusundaki netrin-1' in tamamının plazmaya salınıp salınmadığı sorusunu getirmektedir. Bu da plazma netrin-1 seviyesinin her zaman kanserli dokudaki seviyeyi temsil etmediğini düşündürmektedir.

Yaş, cinsiyet, performans durumu ve hastalık evresi ile plazma netrin-1 seviyeleri arasında istatistiksel anlamlılığa ulaşan fark bulunamadı.

Özellikle kemoterapiden sonraki tümör lizisine bağlı yalancı netrin-1 yüksekliklerini dışlamak için tedaviden önce plazma örnekleri toplandı. Tedavi sonrası hastalık cevabı ile plazma netrin-1 düzeyleri arasındaki ilişki incelendi. Tedaviye cevabı olanların (tam cevap, parsiyel cevap ve stabil hastalık) olmayanlara göre (progresif hastalık) netrin-1 seviyeleri belirgin yüksek olmasına rağmen (sırasıyla  $1053.54 \pm 785.97$  ve  $672.48 \pm 465.71$ ) bu fark da istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı ( $p:0.09$ ). Metastaz patogenezini düşündüğümüzde, netrin-1' in anti-apoptotik ve anjiogenetik özellikleri göz önüne alınırsa aslında metastatik hastalıkta daha yüksek çıkmasını beklerdik.

Çalışmamızda plazma netrin-1 seviyesinin yaş, cinsiyet, evre ve histolojik alt tipten bağımsız olarak, KHDAK' li hastalarda sağlıklı kişilere göre yüksek saptadık. Bu; plazma netrin-1 ile tümör varlığı veya yokluğu arasında güçlü bir ilişkiyi temsil edebilir. Bu nedenle de bir biyobelirteç olarak kullanılabilir.

Hasta sayımızın nispeten az olması ( $n=27$ ) çalışmayı kısıtlayan en büyük etkendi. İkincisi netrin-1' in diğer plazma biyobelirteçleri ile korele olup olmadığını bilmiyoruz. Tüm bu soruların cevapları için, gelecekte daha fazla hasta içeren, daha kapsamlı çalışmaların yapılması bu konuda daha fazla bilgilenmemizi sağlayacaktır.

## ÖZET

Akciğer kanseri tüm dünyada kanser ölümlerinin en sık nedenidir. Tüm kanser ölümlerinin yaklaşık üçte birini oluşturur. Akciğer kanserlerinin yaklaşık %80' ini küçük hücreli-dışı histoloji (KHDAK) oluşturmaktadır. Bu olguların 1/3' ü tanı anında lokal ileri evrededirler. Lokal ileri KHDAK' li hastaların büyük çoğunluğu cerrahi rezeksiyona uygun değildirler. Genellikle radyoterapi ve kemoterapi kombinasyonu ile tedavi edilirler.

Netrin-1; sinir sistemi embriyogenesi dışında inflamasyon, apoptoz ve anjiogenez basamaklarında da rolü olan bir proteindir. Bu nedenle klinikte biyobelirteç olarak da kullanılabileceği öngörülmüştür.

Çalışmamızda ileri evre (lokal ileri ve metastatik ) KHDAK' li hastalar ile sağlıklı bireyler arasında serum netrin-1 düzeyleri arasında fark olup olmadığını ve bu değerlerin klinikopatolojik özellikler ile değişip değişmediğini değerlendirdik. Bu amaçla; çalışmamıza Nisan 2011 ile Eylül 2011 tarihleri arasında Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Kliniğinde takip ve tedavi edilen, yeni tanı konulmuş ileri evre küçük hücreli dışı akciğer kanserli (lokal ileri ya da metastatik) 27 hasta ve kontrol grubu olarak da 26 sağlıklı birey alındı. Bizim hasta grubumuzda serum netrin-1 düzeyleri sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek bulundu. Akciğer kanserli hastalarda bazal plazma Netrin-1 değeri ile cinsiyet, yaş, performans durumu, histopatolojik tip, klinik evre ve kemoterapi bitimi sonrası tedavi cevapları arasında anlamlı ilişki saptanmadı ( $p>0.05$ ). Bu sonuçlar en azından plazma netrin-1 düzeyi ile tümör varlığı veya yokluğu arasında güçlü bir ilişkiyi temsil edebileceğini düşündürmüş olup gelecekte daha kapsamlı çalışmalar ile bu konuda yeni ufuklar açılacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin.* 2009; 59: 225-49.
2. NCCN Clinical practice Guidelines in Oncology, Non-Small Cell Lung Cancer, 2010.
3. Van Meerbeeck JP, Kramer GW, Van Schil PE, Legrand C, Smit EF, Schramel F, Tjan-Heijnen VC, Biesma B, Debruyne C, van Zandwijk N, Splinter TA, Giaccone G; European Organisation for Research and Treatment of Cancer-Lung Cancer Group. Randomized controlled trial of resection versus radiotherapy after induction chemotherapy in stage IIIA-N2 non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2007 Mar 21; 99(6): 442-50.
4. Gandara DR, Chansky K, Albain KS, Gaspar LE, Lara PN Jr, Kelly K, Crowley J, Livingston R. Long-term survival with concurrent chemoradiation therapy followed by consolidation docetaxel in stage IIIB non-small-cell lung cancer: a phase II Southwest Oncology Group Study (S9504). *Clin Lung Cancer.* 2006 Sep; 8(2): 116-21
5. Azzoli CG, Baker S Jr, Temin S, Pao W, Aliff T, Brahmer J, Johnson DH, Laskin JL, Masters G, Milton D, Nordquist L, Pfister DG, Piantadosi S, Schiller JH, Smith R, Smith TJ, Strawn JR, Trent D, Giaccone G; American Society of Clinical Oncology. American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline update on chemotherapy for stage IV non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2009 Dec 20; 27(36): 6251-66.
6. Saip P. Evre III Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Kemoterapi. Engin K, Akciğer Kanserleri. 1. Baskı. Bursa: Avrupa Tıp Kitapçılık Ltd. dti, 2001: 261-67.
7. Schiller JH, Harrington D, Belani CP, Langer C, Sandler A, Krook J, Zhu J, Johnson DH; Eastern Cooperative Oncology Group. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2002 Jan 10; 346(2): 92-8.
8. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International association for the study of lung cancer/american thoracic society/ european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* 2011; 6: 244-285.

9. Finkelstein DM, Ettinger DS, Ruckdeschel JC. Long term survivors in metastatic non-small-cell lung cancer: an Eastern Cooperative Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 1986; 4: 702-709.
10. Arakawa H. Netrin-1 and its receptors in tumorigenesis. *Nat Rev Cancer*. 2004; 4: 978–987.
11. Barallobre MJ, Pascual M, Del Río JA, Soriano E. The Netrin family of guidance factors: emphasis on Netrin-1 signalling. *Brain Res Brain Res Rev*. 2005; 49: 22–47.
12. Bernet A, Fitamant J. Netrin-1 and its receptors in tumour growth promotion. *Expert Opin Ther Targets*. 2008; 12: 995–1007.
13. Reeves WB, Kwon O, Ramesh G. Netrin-1 and kidney injury. II. Netrin-1 is an early biomarker of acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008; 294: F731–F738.
14. Ramesh G, Krawczeski CD, Woo JG, Wang Y, Devarajan P. Urinary netrin-1 is an early predictive biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010; 5: 395–401.
15. Ramesh G, Berg A, Jayakumar C. Plasma netrin-1 is a diagnostic biomarker of human cancers. *Biomarkers*. 2010; 16: 172-180.
16. Bourgeois C, Brambilla E, Coissieux M. Interference with Netrin-1 and tumor cell death in non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2009; 101: 237-247.
17. Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *J Clin Oncol*. 2006; 24: 2137-2150.
18. T.C Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Dairesi Başkanlığı 2004-2006 yılları arası kanser istatistik bilgileri. ([www.kanser.gov.tr](http://www.kanser.gov.tr))
19. Goldstraw P, Crowley J, ChanskyK, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in forthcoming edition of the TNM Classification of malignant tumours. *J Thorac Oncol* 2007; 2: 706-714.
20. Doll R, Peto R. Mortality in relation to smoking: 20 years' observations on male British doctors. *Br Med J*. 1976 Dec 25; 2(6051): 1525-36.
21. Travis, WD, Brambilla, E, Muller-Hermlink, HK, Harris. ) Pathology and genetics of tumours of the lung, pleura, thymus and heart. In: World Health Organization classification of tumours IARC Press, Lyon 2004.

22. Subramanian J, Corrales L, Soulieres D, Morgensztern D, Govindan R. Improving survival for stage IV non-small cell lung cancer: a surveillance, epidemiology, and end results survey from 1990 to 2005. *J Thorac Oncol.*2009; 4: 1524-1529.
23. Aydanur Kargı, Ali Veral. Patolojik Tanı ve sorunları.In:Akkoçlu A, Öztürk C. Akciber kanseri multidisipliner yaklaşım. Toraks Kitapları Sayı:1 Bilimsel Tıp Yayınevi; Ankara 1999: 1: 17-2.
24. Cho WC. Contribution of oncoproteomics to cancer biomarker discovery. *Mol Cancer.* 2007; 6: 25.
25. Sturgeon CM, Lai LC, Duffy MJ. Serum tumour markers: how to order and interpret them. *Bmj.* 2009; 339: b3527.
26. Rabizadeh S, Oh J, Zhong LT, Yang J, Bitler CM, Butcher LL, et al. Induction of apoptosis by the low-affinity NGF receptor. *Science* 1993; 261: 345-8.
27. Ellerby LM, Hackam AS, Propp SS, Ellerby HM, Rabizadeh S, Cashman NR, et al. Kennedy's disease: caspase cleavage of the androgen receptor is a crucial event in cytotoxicity. *J Neurochem* 1999; 72: 185-95.
28. Mehlen P, Rabizadeh S, Snipas SJ, Assa-Munt N, Salvesen GS, Bredesen DE. The DCC gene product induces apoptosis by a mechanism requiring receptor proteolysis. *Nature* 1998; 395: 801-4.
29. Bordeaux MC, Forcet C, Granger L, Corset V, Bidaud C, Billaud M, et al. The RET proto-oncogene induces apoptosis: a novel mechanism for Hirschsprung disease. *EMBO J* 2000; 19: 56-63.
30. Liambi F, Causeret F, Bloch-Gallego E, Mehlen P. Netrin-1 acts as a survival factor via its receptors UNC5H and DCC. *EMBO J* 2001; 20: 2715-22.
31. Thibert C, Teillet MA, Lapointe F, Mazelin L, Le Douarin NM, Mehlen P. Inhibition of neuroepithelial patched-induced apoptosis by sonic hedgehog. *Science* 2003; 301: 843-6.
32. Matsunaga E, Tauszig-Delamasure S, Monnier PP, Mueller BK, Strittmatter SM, Mehlen P, et al. RGM and its receptor neogenin regulate neuronal survival. *Nat Cell Biol* 2004; 6: 749-55.
33. Carmeliet P. Angiogenesis in life,disease and medicine. *Nature* 2005; 438: 11-3.
34. Lu X, Le Noble F, Yuan L, Jiang Q, De Lafarge B, Sugiyama D et al. The netrin receptor UNC5B mediates guidance events controlling morphogenesis of the vascular system. *Nature* 2004; 432: 179-186.
35. Wilson BD, Li M, Won Park K, Suli A, Sorensen LK,Larrieu-Lahargue F, et al. Netrins promote developmental and therapeutic angiogenesis. *Science* 2006; 313: 640-4.

36. Navankasatussas S, Whitehead KJ, Suli A, SorensenLK, Lim AH, Zhao J, et al. The netrin receptor UNC5B promotes angiogenesis in specific vascular beds. *Development* 2008; 135: 659-67.
37. Castets M, Coissieux MM, Delloye-Bourgeois C, Bernard L, Delcros JG, Bernet A, et al. Inhibition of endothelial cell apoptosis by netrin-1 during angiogenesis. *Dev Cell* 2009; 16: 614-20.
38. Maitra A, Hruban RH. Pancreatic Cancer. *Annu Rev Pathol* 2008, 3: 157-188.
39. Degterev A, Boyce M, Yuan J. A decade of caspases. *Oncogene*. 2003, 22: 8543-8567.
40. Yunbo Wei, Tingjun Fan, and Miaomiao Yu Inhibitor of apoptosis proteins and apoptosis. *ActaBiochim Biophys Sin*. 2008-4; 40: 278-288
41. Rainer Hamacher, Roland M Schmid, Dieter Saur and Günter Schneider. Apoptotic pathways in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Molecular Cance*.2008; 7: 64.
42. Adams JM, Cory S. Bcl-2-regulated apoptosis: mechanism and therapeutic potential. *Curr Opin Immunol* 2007, 19: 488-496.
43. Fas SC, Fritzsching B, Suri-Payer E, Krammer PH. Death receptor signaling and its function in the immune system. *Curr Dir Autoimmun* 2006; 9: 1-17.
44. Carsten Scaffidi, Simone Fulda, Anu Srinivasan, Claudia Friesen, Feng Li, Kevin J, Tomaselli, Klaus-Michael Debatin, Peter H. Krammer and Marcus E. Peter. Two CD95 (APO1/Fas) signaling pathways. *The EMBO Journal*. 1998; 17, 6: 1675–1687.
45. Forcet C, Ye X, Granger L, Corset V, Shin H, Bredesen DE, et al. The dependence receptor DCC (deleted in colorectal cancer) defines an alternative mechanism for caspase activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 3416-21.
46. Liu J, Yao F, Wu R, Morgan M, Thorburn A, Finley RL, et al. Mediation of the DCC apoptotic signal by DIP13 alpha. *J Biol Chem* 2002; 277: 26281-5.
47. Tanikawa C, Matsuda K, Fukuda S, Nakamura Y, Arakawa H. p53RDL1 regulates p53-dependent apoptosis. *Nat Cell Biol* 2003; 5: 216-23.
48. Thiebault K, Mazelin L, Pays L, Llambi F, Joly MO, Saurin JC, et al. The netrin-1 receptors UNC5H are putative tumor suppressors controlling cell death commitment. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 4173-8.
49. Mille F, Liambi F, Guix C, Delloye-Bourgeois C, Guenebeaud C, Castro-Obregon S, et al. Interfering with multimerization of netrin-1 receptors trigger tumor cell death. *Cell Death Differ* 2009; 16: 1344-51.

50. Williams ME, Wu SC, McKenna WL, Hinck L. Surface expression of the netrin receptor UNC5H1 is regulated through a protein kinase C-interacting protein/protein kinase-dependent mechanism. *J Neurosci* 2003; 23: 11279-88.
51. Vousden KH. p53: Death star. *Cell* 2000; 103: 691–694.
52. Miyashita T & Reed JC. Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human BAX gene. *Cell* 1995; 80: 293–299.
53. Yoon KA, Nakamura Y & Arakawa H. Identification of ALDH4 as a p53-inducible gene and its protective role in cellular stresses. *J. Hum. Genet.* 2004; 49: 134–140.
54. Owen-Schaub LB, Zhang W, Cusack JC, Angelo LS, Santee SM, Fujiwara T, Roth JA, Deisseroth AB, Zhang WW, Kruzel E & Radinsky R. Wild-type human p53 and temperature sensitive mutant induce Fas/APO-1 expression. *Mol. Cell. Biol.* 1995; 15: 3032–3040.
55. Wu GS, Burns TF, McDonald ER, III, Jiang W, Meng R, Krantz ID, Kao G, Gan DD, Zhou JY, Muschel R, Hamilton SR, Spinner NB, Markowitz S, Wu G & El-Deiry WS. KILLER/DR5 is a DNA damage inducible p53-regulated death receptor gene. *Nat. Genet.* 1997 ; 17: 141–143.
56. Mehlen P & Bredesen DE. Meeting report: cellular dependence – old concept, new mechanisms. *Sci. STKE* 2003: pe55.
57. Williams ME, Strickland P, Watanabe K & Hinck L. UNC5H1 induces apoptosis via its juxtamembrane region through an interaction with NARGE. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 17483–17490.
58. Sabbatini P & McCormick F. Phosphoinositide 3-OH kinase (PI3K) and PKB/Akt delay the onset of p53-mediated transcriptional dependent apoptosis. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 24263–24269.
59. Yamaguchi A, Tamatani M, Matsuzaki H, Namikawa K, Kiyama H, Vitek MP, Mitsuda N & Tohyama M. Akt activation protects hippocampal neurons from apoptosis by inhibiting transcriptional activity of p53. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 5256–5364.
60. Detterbeck FC, Boffa DJ, Tanoue LT. The new lung cancer staging system. *Chest* 2009; 136: 260-271.
61. Mazumdar M, Smith A, Schwartz LH. A statistical simulation study finds discordance between WHO criteria and RECIST guideline. *J Clin Epidemiol.* 2004; 57: 358.

62. Mirakaj V, Thix CA, Laucher S, Mielke C, Morote-Garcia JC, Schmit MA, Henes J, Unertl KE, Köhler D, Rosenberger P. Netrin-1 dampens Pulmonary Inflammation during Acute Lung Injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010 200905–07170C.
63. Rosenberger P, Schwab JM, Mirakaj V, Masekowsky E, Mager A, Morote-Garcia JC, Unertl K, Eltzschig HK. Hypoxia-inducible factor-dependent induction of netrin-1 dampens inflammation caused by hypoxia. *Nat Immunol*. 2009; 10: 195–202.
64. Wang W, Reeves WB, Ramesh G. Netrin-1 and kidney injury. I. Netrin-1 protects against ischemia-reperfusion injury of the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008; 294: F739–F747.
65. Bernet A, Mazelin L, Coissieux MM, Gadot N, Ackerman SL, Scoazec JY, Mehlen P. Inactivation of the UNC5C Netrin-1 receptor is associated with tumor progression in colorectal malignancies. *Gastroenterology*. 2007; 133: 1840–1848.
66. Delloye-Bourgeois C, Fitamant J, Paradisi A, Cappellen D, Douc-Rasy S, Raquin MA, Stupack D, Nakagawara A, Rousseau R, Combaret V, Puisieux A, Valteau-Couanet D, Bénard J, Bernet A, Mehlen P. Netrin-1 acts as a survival factor for aggressive neuroblastoma. *J Exp Med*. 2009; 206: 833–847.
67. Fitamant J, Guenebeaud C, Coissieux MM, Guix C, Treilleux I, Scoazec JY, Bachelot T, Bernet A, Mehlen P. Netrin-1 expression confers a selective advantage for tumor cell survival in metastatic breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008; 105: 4850–4855.

