



**T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

KÜÇÜK HÜCRE DİŞİ AKCİĞER KANSERİNİN ERKEN TANISINDA BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİN ROLÜ

Dr. Esra PAYDAŞ HATAYSAL

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV

KONYA-2019

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**KÜÇÜK HÜCRE DIŞI AKCİĞER KANSERİNİN ERKEN TANISINDA BAZI
BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİN ROLÜ**

Dr. Esra PAYDAŞ HATAYSAL

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV

KONYA-2019

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü
tarafından 18102046 proje numarası ile desteklenmiştir.

UZMANLIK TEZİ JÜRİ TUTANAĞI

Uzmanlık Öğrencisinin Adı Soyadı : Dr. Esra PAYDAŞ HATAYSA

Uzmanlık Dalı : Tıbbi Biyokimya

Tez Danışmanı : Doç.Dr. Hüsamettin VATANSEV

Tezin Adı : Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanserinin Erken Tanısında Bazı
Biyokimyasal Parametrelerin Rolü

Dr. Esra PAYDAŞ HATAYSA'ın hazırlamış olduğu tezini 22/10/2019 tarihinde aşağıda isimleri yazılı olan jüri huzurunda savunmuştur.

SONUÇ:

TEZ BAŞARILI

TEZ BAŞARISIZ ()

Jüri

Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV

Jüri

Prof. Dr. Mehmet GÜRBİLEK

Jüri

Prof. Dr. Ali ÜNLÜ

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Tüm uzmanlık eğitimim boyunca yetişmeme katkıda bulunan, uzmanlık tezimin seçiminde, hazırlanmasında ve tüm aşamalarında yardım ve katkılarını esirgemeyen, tez sürecinde daima arkamda olduğunu hissettiğim hocam ve tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV'e teşekkür ederim.

Eğitim hayatıma katkılarından dolayı Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Ali ÜNLÜ başta olmak üzere Doç. Dr. Abdullah SİVRİKAYA, Doç. Dr. Sedat ABUŞOĞLU ve tezimdaki yardımlarından ötürü Prof. Dr. Fikret KANAT, Dr. Öğt. Üyesi Hülya VATANSEV, Dr. Öğt. Üyesi Farise YILMAZ, Arş.Gör.Dr. Muslu Kazım KÖREZ ve Arş.Gör.Dr. Büşra ECER'e teşekkürlerimi sunarım. Sadece bir sene beraber çalışabilme fırsatı yakalasak da kendisinden çok fazla şey öğrendiğim Dr. Öğrt. Üyesi Beyza SARAÇLIGİL'e, ayrıca birlikte çalıştığım tüm mesai arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Her daim yanımda olan, benden desteklerini hiç esirgemeyen çok değerli eşim Ahmet Ercan HATAYSAI'a, evimizin neşesi Tony'e, desteklerini hep arkamda hissettiğim, beni bu günlere getiren aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	i
SİMGELER ve KISALTMALAR	iv
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Akciğer Kanseri.....	3
2.1.1 Akciğer Anatomisi.....	3
2.1.2. Akciğer Embriyolojisi Ve Histolojisi	5
2.1.3. Akciğer Kanseri Epidemiyolojisi	5
2.1.4. Akciğer Kanseri Etyolojisi	9
2.1.5. Akciğer Kanserinde Tanı Yöntemleri.....	11
2.1.6. Akciğer Kanserinde Laboratuvar Bulguları.....	12
2.1.7. Akciğer Kanserin Histopatolojik Sınıflandırılması	13
2.1.8. Akciğer Kanseri Semptom Ve Bulguları	15
2.1.9. Akciğer Kanserinde Evreleme	17
2.1.10. Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanserinde Tedavi	20
2.1.11. Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanserinde Prognoz.....	20
2.2. Anjiyogenezis	21
2.3. Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF)	23
2.4.Nitrik Oksit (NO)	26
2.4.1.Nitrik Oksit Sentezi	26
2.4.2. Nitrik Oksit'in Etkileri.....	27
2.5. Asimetrik Dimetil Arginin(ADMA)	28
2.5.1. Asimetrik Dimetil Arginin'in Yapısı ve Sentezi	29
2.5.2. Asimetrik Dimetil Arginin'in yıkımı.....	30
2.5.3. Asimetrik Dimetil Arginin ve Klinik Önemi.....	31
2.6. Karsinoembriyonik Antijen (CEA)	33
2.7. Sitokeratin fragman 19 (Cyfra-21-1).....	34
2.8. Nöron Spesifik Enolaz (NSE)	35
2.9. Laktat Dehidrogenaz (LDH)	36
2.10. Kanseri Antijen-125 (CA-125).....	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	38
3.1. Çalışma Popülasyonu	38
3.2. Kullanılan Cihaz, Kimyasal Ve Kitler	39

3.2.1. Cihazlar.....	39
3.2.2. Kimyasallar ve Malzemeler.....	39
3.2.3. Kitler.....	40
3.3. Biyokimyasal Analizler.....	40
3.3.1. VEGF Analizi.....	40
3.3.2. Nitrik Oksit Analizi.....	41
3.3.3. CEA, CYFRA21-1,NSE, CA-125 Analizi.....	43
3.3.4. LDH analizi.....	44
3.3.5. ADMA ANALİZİ.....	44
3.4.İstatistiksel Analiz.....	47
4. BULGULAR.....	49
4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarına Ait Bulgular.....	49
4.2. Histolojik Alt Tipe Göre Bulgular.....	51
4.3.Erken Evre ve İleri Evre Gruplarına Ait Bulgular.....	54
4.4.Korelasyon Analizleri.....	56
4.4. Evrelere Göre Değerlendirme.....	59
5. TARTIŞMA.....	61
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	73
KAYNAKLAR.....	74
ÖZET.....	84
SUMMARY.....	85
EKLER.....	86
ÖZGEÇMİŞ.....	87

SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

°C	Santigrat derece
Ca ⁺²	Kalsiyum
HCl	Hidroklorik asit
IU/ml	International Unit / mililitre
ng/ml	Nanogram/ mililitre
NO ³	Nitrat
O ²	Oksijen
mm	Milimetre
ml	Mililitre
ml/dk	Mililitre/dakika
μM	Mikromolar
μmol/L	Mikromol/litre

Kısaltmalar

ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
ADH	Anti-diüretik Hormon
ADMA	Asimetrik Dimetilarginin
ALL	Akut lenfoblastik lösemi
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
BT	Bilgisayarlı Tomografi
cGMP	Siklik guanidin monofosfat
DDAH	Dimetilarginin dimetilaminohidrolaz
DM	Diyabetes Mellitus

ECM	Ekstraselüler matriks
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FAD	Flavin adenin dinukleotid
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
FMN	Flavin Mononükleotid
GA	Güven Aralığı
GMP	Güanozin Monofosfat
GTP	Güanozin Trifosfat
IFCC	Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu
IL-1	İnterlökin-1
IP3	Fosfatidil inositol 1,4,5 trifosfat
KHAK	Küçük hücreli akciğer kanseri
KHDAK	Küçük hücre dışı akciğer kanseri
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografi-TandemKütleSpektrometre
LDH	Laktat dehidrogenaz
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
L-NMMA	N-monometil-L-arjinin
MRG	Magnetik rezonans görüntüleme
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
NPV	Negatif Prediktif Değer
PPV	Pozitif Prediktif Değer
PRMT	Protein Arginin Metil Transferaz

PTHrp	Parathormon ilişkili peptit
SAH	S-adenozil homosistein
SAM	S-Adenozil Metiyonin
SDMA	Simetrik Dimetil Arginin
sGC	Çözünebilen Gualilat Siklaz
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VKİ	Vücut kitle indexi



1.GİRİŞ VE AMAÇ

Tüm dünyada en sık görülen ve kansere bağlı mortalitede ilk sırada yer alan akciğer kanseri önemli bir halk sağlığı sorunudur. En son küresel analizde, 2018'de dünya genelinde 2,09 milyon akciğer kanseri yeni tanısı ve aynı yıl 1,76 milyon akciğer kanserine bağlı ölüm tahmin edilmektedir (Ferlay ve ark., 2019). Mevcut yöntemlerin tanı olanaklarının ve tarama testlerinin kısıtlı olması, geç klinik bulgu vermesi ve erken teşhis için etkili biyobelirteçlerin bulunmaması nedeniyle, akciğer kanseri hastalarının sadece % 12-18'i küratif tedavi şansı bulunan erken evrede teşhis edilmektedir. Hastalarda sıklıkla tanı anında uzak metastaz bulunmaktadır ve yaşam beklentisi kısadır.

Akciğer kanseri; Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (KHAK) ve Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri (KHDAK) olarak 2 gruba ayrılmıştır. KHDAK; kendi içinde adenokarsinom, yassı hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinom olmak üzere gruplandırılır. Akciğer kanserlerinde KHAK ve KHDAK olmak üzere ayırım yapılmasının nedeni KHAK'lerin daha agresif seyretmeleri, genellikle tanı anında metastaz bulunması ve genellikle cerrahi şansın olmamasıdır. Tüm bu nedenlerden dolayı, KHDAK taraması ve erken teşhis için güvenilir ve invazif olmayan araçlar geliştirmek önemli hale gelmiştir.

Kanserlerinde, tümör boyutunun 1-2 mm'nin üzerinde boyutlara ulaşabilmesi için oksijen ve besin ihtiyaçlarını karşılayacak yeni damar oluşumuna ihtiyaç vardır (Nishida ve ark., 2006). Anjiyogenezis, mevcut kan damarlarından yeni kılcal damarların oluşumudur. Anjiyogenezis, tümör oluşumu ve ilerlemesi için bir ön koşuldur. Anjiyogenik moleküllerin, endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve göçünü de içeren çok aşamalı bir süreç olan anjiyogenezisi uyarması gerekmektedir (Carmeliet, 2005).

Molekül ağırlığı yaklaşık 45 kDa olan Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) homodimerik glikoproteindir ve anjiyogenezisteki ana modülatördür. Vasküler permeabilite faktörü olarak da bilinen VEGF, biyolojik aktivitesini endotel hücreleri

üzerindeki transmembran tirozin kinaz reseptörleri vasıtasıyla gerçekleştirir. NO, memelilerde L-argininden O^2 varlığında Nitrik Oksit Sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenir. Anjiyogeneziste vasküler geçirgenliği artırır, endotel hücre proliferasyonunu ve göçünü indükler ve VEGF ekspresyonunu uyarırken, anjiyojenik etkilerinin çoğuna da aracılık eder. Metil arjininler proteinlerdeki arjinin rezidülerinin posttranslasyonel modifikasyon ile metillenmesi sonucu oluşan türevlerdir ve metil arjinin türevi olan Asimetrik dimetilarjinin (ADMA), NOS enziminin yarışmalı endojen inhibitörüdür.

Cyfra 21-1, bir yapı proteini olan ve epitelyal hücrelerin stabilitesi için gerekli ara filament proteini olan sitokeratin 19'un bir fragmanıdır. Cyfra 21-1, KHDAK'de, özellikle de akciğer skuamöz hücre tümörleri için en hassas tümör belirteçidir (Stieber ve ark., 2006). Müsin glikoproteini olan Kanser Antijen-125 (CA125), oküler yüzeyin (kornea ve konjunktiva dahil), solunum yolunun ve dişi üreme sistemi epitelinin (over dokusu içinde, endometrium, endoserviks ve fallop tüpü epiteli) yapısında bulunur. Epitelyal hücrelerin apikal zarı üzerindeki yabancı partiküllere ve bulaşıcı ajanlara karşı kayganlaştırıcı bir bariyer görevi gören hidrofilik bir ortam oluşturur. Moleküler ağırlığı 180-200 kDa olan yaklaşık % 60 karbonhidrattan oluşan bir hücre yüzeyi glikoproteini olan CEA, karsinomlarda ve fetal dokuda daha yüksek konsantrasyonda olmasına rağmen, birçok normal dokuda da düşük miktarda bulunur (Meng ve ark., 2017). Enolaz tüm hücre sitoplazmalarında bulunabilen glikolitik bir enzimdir. Enolaz, glikolitik yoldaki 2-fosfo-D-gliserat'ın Fosfoenolpirüvat'a dehidratasyonunu katalizleyen, çift yönlü bir metalloenzimdir. NSE, öncelikle nöronlar ve nöroendokrin hücrelerde bulunan, 39 kDa ağırlığında olan bir γ -enolazdır.

Bu çalışmada, kansere bağlı ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer alan ve toplumda önemli bir halk sağlığı sorunu olan KHDAK'de anjiyogenez ve proliferasyondan sorumlu moleküllerden serum VEGF, NO, ADMA düzeyleri ile tanı ve tedavide etkinliği bilinen tümör belirteçleri olan Cyfra21-1, CEA, CA125, NSE ve LDH düzeylerinin, tümörün yaygınlığı ile ilişkisini ve erken tanı açısından kullanılabilirliğini değerlendirdik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akciğer Kanseri

2.1.1 Akciğer Anatomisi

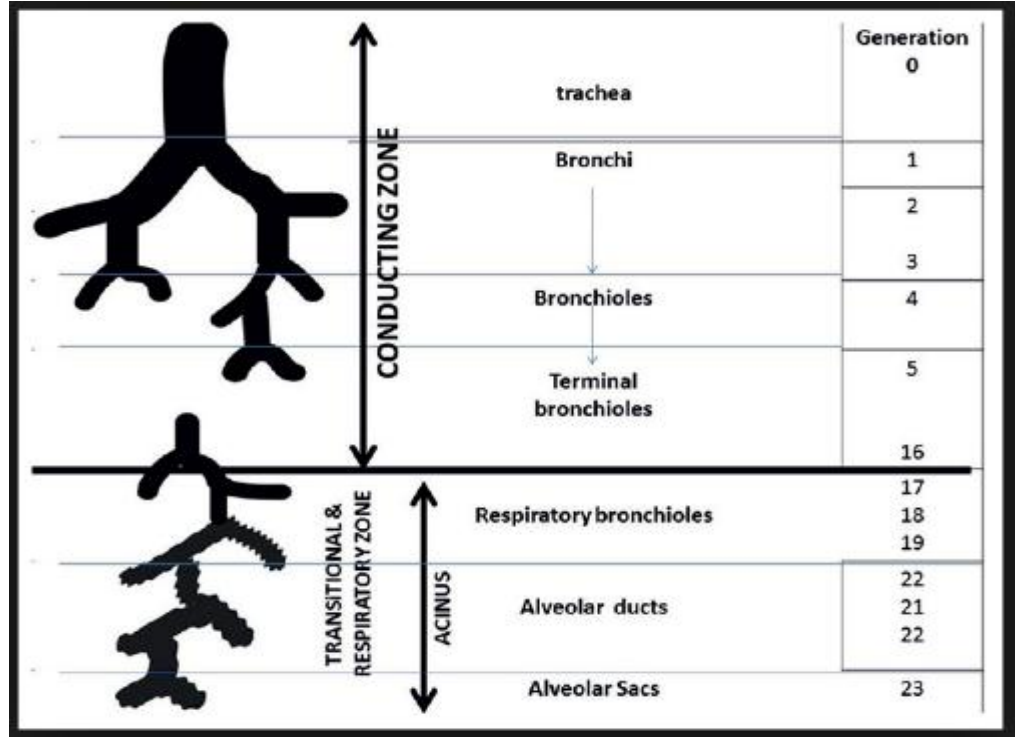
Akciğerler, torasik kavitede bulunan bir çift solunum organıdır ve torasik kavitedeki ana hava yolu olan trakea ile birlikte alt solunum yollarını oluşturur. Trakea, yaklaşık servikal 3. ve 6. vertebralar arasında bulunan larinksin alt ucundan başlar ve karina olarak isimlendirilen, bifürkasyon yaptığı 4. veya 5. torasik vertebra seviyelerinde sonlanır (Murray, 2010). Karina'dan sonra sağ ve sol ana bronşlar başlar ve bronşlar lobar bronşlara bölünür. Lobar bronşlar, daha küçük yapılar olan segmenter bronşları oluşturur. Sağ akciğer 10 tane bronkopulmonar segmentten oluşurken, sol akciğer genellikle 8 nadiren de 9 bronkopulmonar segmentten oluşur. Segmenter bronşlardan da çapları 5 mm veya daha az olan bronşiyoller oluşur. Bronşiyollerin duvarında kıkırdak ya da bez yoktur. Bunlar sırasıyla; lobüler bronşiyol, terminal bronşiyol ve respiratuvar bronşiyoldür. Bronşiyoller, akciğerin fonksiyonel üniti olan alveol yapılarını oluşturur (Şekil.2.1). İki ya da daha fazla alveol, ortak bir açıklıkla sakkus alveolarise açılır. Her bir akciğerde 300 milyonun üzerinde alveolus vardır. Akciğerler visseral ve parietal plevrayla örtülüdür. Visseral ve parietal plevra arasındaki boşluğa plevral kavite denir. Bu iki zar ve plevral sıvı, ventilasyon sırasında oluşabilecek sürtünmeyi azaltır.

Sağ akciğer oblik ve horizontal fissürle ayrılmış 3 lobdan oluşurken, sol akciğer sadece oblik fissürle ayrılmıştır ve iki lobdan oluşur. Akciğerlerin hilusu, kan damarları, lenfatik damarlar ve sinirlerin akciğere giriş çıkış yaptığı bir bölümdür.

Hava, burun ve ağız yoluyla farinkse, sonra larinkse sonra da trakeaya ulaşır. Trakea'da hava vücut ısısına göre ayarlanır, filtre edilir ve nemlendirilerek akciğerlere iletilir. Alveol hücreleri ile kapiller kan arasında difüzyon oluşarak alveollerde gaz değişimi yapılır. Asinüs yapısı; respiratuvar bronşiyol, duktus alveolaris, sakkus alveolaris ve alveoli pulmonis yapılarından oluşur. Gaz değişimi sadece asinüse ait yapılarda olur.

Ventilasyonda havanın akciğerlere girmesine inspirasyon denir, diyafram ve eksternal interkostal kasların çalışması ile aktif bir olaydır. İnspirasyonda diyafram kasılarak karın içi organlar aşağı itilir. Göğüs kafesi büyür ve akciğer hacmi genişler. Azalan intrapulmoner basınç sayesinde akciğere dışardan hava girişi olur. Ventilasyonda, havanın akciğer dışına çıkmasına ise ekspirasyon denir. Dinlenme sırasında ekspirasyon pasiftir ancak egzersiz durumunda internal interkostal kaslar ve karın akslarının çalışması ile aktif hale gelir.

Sağ akciğer, bir tane arteriya bronchialis sol akciğer ise iki tane arteriya bronchialis tarafından beslenir. Sağ akciğeri besleyen bronşiyal arter, aorta torasika'nın dalı olan a.interkostalis posterior III'den gelirken, sol akciğeri besleyen bronşiyal arterler aorta torasika'dan direkt gelir (Kandathil ve Chamarchy, 2018). Akciğerlerin venöz dolaşımı, ikişer tane vena bronchialis tarafından yapılır. Sağ akciğerin bronşiyal venleri v.azigoz'a, sol akciğerin bronşiyal venleri v.hemiazigoz accessoria'ya açılır (Kandathil ve Chamarchy, 2018, Murray, 2010).



Şekil.2.1. Trakeobronşiyal ağaç (Patwa ve Shah, 2015)

2.1.2. Akciğer Embriyolojisi Ve Histolojisi

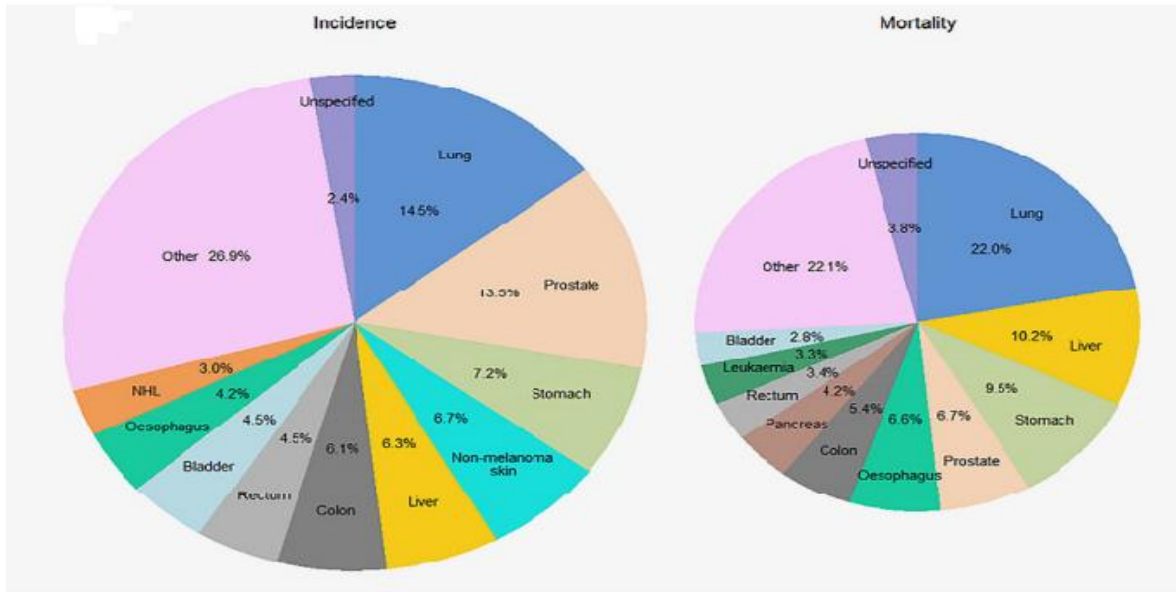
Akciğerlerin gelişimi dört evrede gerçekleşmektedir. Bunlar; 6.-16. haftalar arası olan psödoglanduler dönem, 16.-26. haftalar arasında olan kanaliküler dönem, 26. haftada başlayan ve doğuma kadar süren terminal kese dönemi ve 32. haftada başlayıp 8 yaşına kadar süren alveoler dönemdir. Kanaliküler dönemde, 20.haftaya kadar sürfaktan salgısı başlamaktadır. Terminal kese döneminde ise hava-kan bariyeri oluşur. Alveol gelişimi esas olarak doğumdan sonra olmaktadır. Alt solunum yolu organlarının salgı bezleri ve epitel dokusu laringotrakeal tipin endoderminden gelişirken bağ dokusu, kıkırdak, kas ve lenf damarları splanknik mezenşimden gelişir.

Trakea ve bronş mukozası yalancı çok katlı silli silindirik epitelle döşeli iken bronşiyoller tek katlı silli silindirik epitelle döşelidir. Bronşiyollerde goblet hücresi, bez ve kıkırdak bulunmaz. Belirgin düz kas tabakası vardır. Bronşiyol epitelindeki Klara hücreleri, sürfaktan benzeri madde salgırlar, klor transportunda görev alırlar ve bölünerek çoğalırlar (Rokicki ve ark., 2016). Alveollerde alınan temiz havadaki oksijen, kapiller kana basit difüzyonla geçerken, venöz damarlardan gelen karbondioksit kapillerden alveollere yine basit difüzyon ile geçer. Alveoller; Tip 1 pnömosit, Tip 2 pnömosit ve alveoler makrofaj hücrelerinden oluşur (Wright ve Churg, 2012). Tip 1 pnömosit; tek katlı yassı epitelden oluşan, alveolar yapının yaklaşık %95'ini oluşturan ve difüzyon için selektif bir bariyer oluşturan hücrelerdir. Tip 2 pnömositler ise sürfaktan sentezleyen ve depolayan, kan-hava bariyerine katılmayan kübik hücrelerdir.

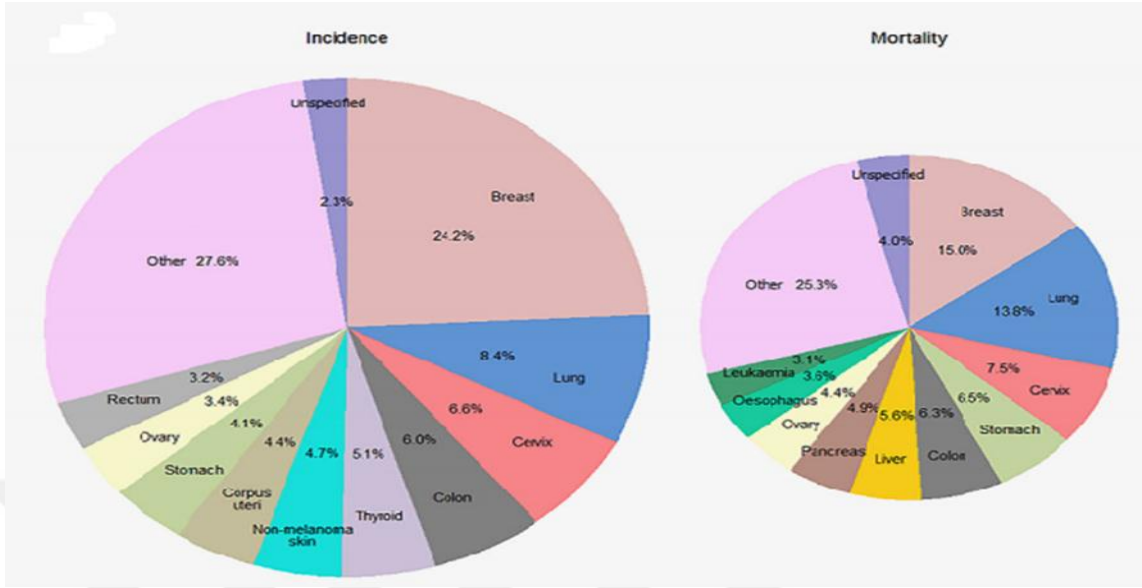
2.1.3. Akciğer Kanseri Epidemiyolojisi

Kanser, 2018'de tahmini 9.6 milyon ölümle sonuçlanan, dünya çapında önde gelen ölüm nedenlerinden biridir (Ferlay ve ark., 2019). Küresel olarak, 6 ölümden yaklaşık 1 tanesi kanserden kaynaklanmaktadır. Kanser ölümlerinin yaklaşık% 70'i düşük ve orta gelirli ülkelerde görülür. Tütün kullanımı kanser için en önemli risk faktörüdür ve kanser ölümlerinin yaklaşık %22' sinden sorumludur. Hepatit ve insan papilloma virüsü gibi kansere neden olan enfeksiyonlar, düşük ve orta gelirli ülkelerde kanser vakalarının% 25'inden sorumludur (Plummer ve ark., 2016).

Akciğer Kanseri nadir bir hastalıkken, son yüzyılda dünyadaki en yaygın kanser ve kanserden en yaygın ölüm nedeni olmuştur (De Groot ve ark., 2018). Öyle ki 1912'lere kadar sadece 374 yayınlanmış akciğer kanseri vakası tespit edilmiştir (De Groot ve ark., 2018, Rubin, 1991). En son küresel analizde, 2018'de dünya genelinde 2,09 milyon yeni akciğer kanseri vaka tanısı ve aynı yıl 1,7 milyon akciğer kanserine bağlı ölüm tahmin edilmektedir (Ferlay ve ark., 2019). Akciğer kanserinin insidans eğilimleri ve coğrafi patternleri, kadın ve erkek cinsiyetleri için farklıdır ve sigara içimindeki tarihi, bölgesel ve kültürel farklılıklardan kaynaklanmaktadır (De Groot ve ark., 2018). 2018 yılında, dünya genelinde en sık görülen kanserler sırasıyla 2,09 milyon yeni tanı alan Akciğer kanseri hastası birinci sıradayken, onu 2,08 milyon yeni tanı alan hasta ile Meme kanseri, 1,8 milyon yeni tanı alan Kolorektal kanser hastası ve 1,28 milyon Prostat kanseri tanısı izlemektedir (Ferlay ve ark., 2019). Kansere bağlı mortalitede ise 2018 yılında, birinci sırada 1,76 milyon ölüm ile akciğer kanseri iken onu 862 bin ölüm ile Kolorektal kanseri, 783 bin ölüm ile Mide kanseri ve 782bin ölüm ile Karaciğer kanseri izlemektedir (Ferlay ve ark., 2019). Dünyada kansere bağlı mortalitenin en önemli nedeni olan Akciğer kanserinde, tüm akciğer kanserli hastaların yaklaşık %15.9'u tanıdan sonra 5 yıl veya daha fazla yaşamaktadır (Gurz, 2018). Cinsiyete bağlı insidans ve mortalite hızları Şekil2.2 ve Şekil.2.3'de gösterilmiştir.



Şekil.2.2. Erkek cinsiyette 2018 yılında kanser türlerinin insidans ve mortalite sıklıkları (Ferlay ve ark., 2019)



Şekil.2.3. Kadın cinsiyette 2018 yılında kanser türlerinin insidans ve mortalite dağılımı (Ferlay ve ark., 2019)

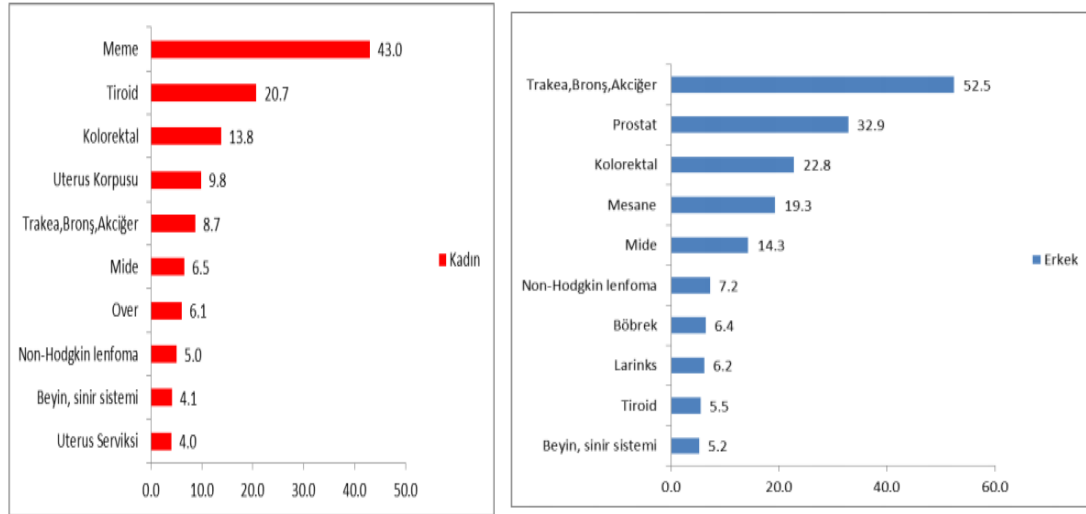
Amerika birleşik devletinde 2019 yılında hem erkeklerde hem de kadınlarda, Şekil.2.4’de gösterildiği gibi kansere bağlı mortalitenin ana sorumlusunun akciğer kanseri olması öngörülmektedir (Siegel ve Miller, 2019). Ayrıca bu rapora göre Amerika birleşik devletlerinde 2019 yılında hem erkeklerde hem de kadınlarda akciğer kanserinin en sık ikinci kanser olması beklenmektedir.

Estimated New Cases					
		Males	Females		
Prostate	174,650	20%		Breast	268,600 30%
Lung & bronchus	116,440	13%		Lung & bronchus	111,710 13%
Colon & rectum	78,500	9%		Colon & rectum	67,100 8%
Urinary bladder	61,700	7%		Uterine corpus	61,880 7%
Melanoma of the skin	57,220	7%		Melanoma of the skin	39,260 4%
Kidney & renal pelvis	44,120	5%		Thyroid	37,810 4%
Non-Hodgkin lymphoma	41,090	5%		Non-Hodgkin lymphoma	33,110 4%
Oral cavity & pharynx	38,140	4%		Kidney & renal pelvis	29,700 3%
Leukemia	35,920	4%		Pancreas	26,830 3%
Pancreas	29,940	3%		Leukemia	25,860 3%
All Sites	870,970	100%		All Sites	891,480 100%
Estimated Deaths					
		Males	Females		
Lung & bronchus	76,650	24%		Lung & bronchus	66,020 23%
Prostate	31,620	10%		Breast	41,760 15%
Colon & rectum	27,640	9%		Colon & rectum	23,380 8%
Pancreas	23,800	7%		Pancreas	21,950 8%
Liver & intrahepatic bile duct	21,600	7%		Ovary	13,980 5%
Leukemia	13,150	4%		Uterine corpus	12,160 4%
Esophagus	13,020	4%		Liver & intrahepatic bile duct	10,180 4%
Urinary bladder	12,870	4%		Leukemia	9,690 3%
Non-Hodgkin lymphoma	11,510	4%		Non-Hodgkin lymphoma	8,460 3%
Brain & other nervous system	9,910	3%		Brain & other nervous system	7,850 3%
All Sites	321,670	100%		All Sites	285,210 100%

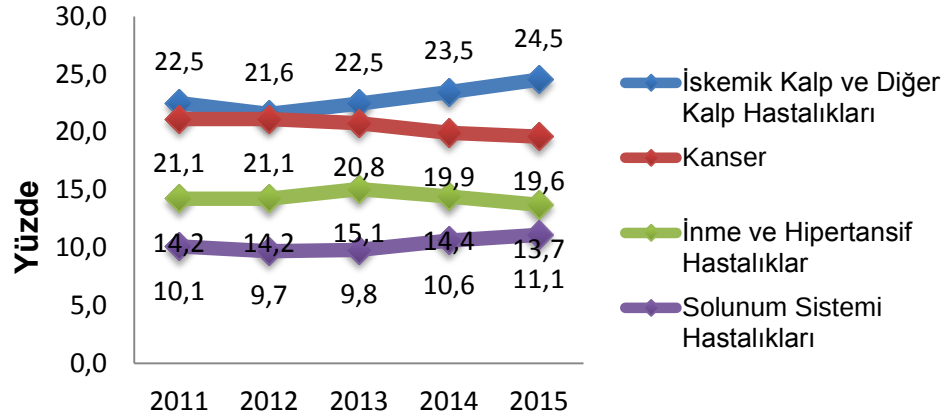
Şekil.2.4. Amerika Birleşik Devletlerinde 2019 yılında cinsiyete göre beklenen yeni kanser vakaları ve kansere bağlı ölümler (Siegel ve Miller, 2019)

Ülkemizde kanser sıklığı Sağlık Bakanlığı ve Türkiye İstatistik kurumu verilerine göre, Şekil.2.5'te gösterildiği gibi, erkeklerde en sık görülen kanser türü sırasıyla Akciğer, Prostat ve Kolorektal kanser iken, kadınlarda en sık görülen görülen kanser türü sırasıyla Meme, Tiroit ve Kolorektal kanserdir. TÜİK verilerine göre ölüm nedeni istatistikleri incelendiğinde; kanser tüm ölümlerin yaklaşık %20 civarını oluşturmaktadır. Kanser, 2015 yılı içerisinde 49.946 erkek, 27.022 kadının ölümüne neden olmuştur (Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, 2017). Şekil.2.6'da da belirtildiği gibi, ülkemizde kansere bağlı ölüm, tüm ölüm nedenleri arasında ikinci sıradadır.

Sağlık Bakanlığı, Türkiye birleşik veri tabanı 2014 yılı raporunda, Akciğer kanserinin %79.2'si Küçük Hücre dışı Akciğer kanseri iken %16,6'sı Küçük hücreli akciğer kanseridir. KHDAK'nin %43,8'ini Adenokarsinom, %37,5'ünü Yassı hücreli karsinom alt tipi oluşturmaktadır. Ayrıca, akciğer kanseri tanı anında hastaların %52,7'si ileri evre ve metastatik Akciğer kanseri iken, hastaların %29,2'si lokalize ileri evre, %18,1'i ise erken evrede tespit edilmiştir.



Şekil.2.5. Erkeklerde ve Kadınlarda En Sık Görülen 10 Kanserın Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide)



Şekil.2.6. TÜİK verilerine göre ülkemizde ölüm nedeni istatistikleri (2011-2015)

2.1.4. Akciğer Kanseri Etyolojisi

Tüm dünyada en sık görülen ve kansere bağlı mortalitede ilk sırada yer alan akciğer kanseri önemli bir halk sağlığı sorunudur. Sigara, akciğer kanseri oluşumunda en önemli etyolojik faktördür ve akciğer kanseri olan hastaların yaklaşık %90'ı sigara içmektedir (Alberg ve ark., 2013). Tütün kullanımı, akciğer kanserine bağlı mortalitenin %85'inden fazlasından sorumludur. Tütün kullanımının yaygınlaşmasına bağlı olarak, erkeklerde Akciğer kanserine bağlı mortalite hızları 1930'lerden sonra hızla yükselerek 1950'lerin ortasında ölüm nedenlerinin ilk sıralarına yerleşmiştir (Ridge ve ark., 2013). Sigara dumanı 5 binden fazla kimyasal madde içerir ve bunların 60'dan fazlası karsinojendir (Talhout ve ark., 2011). Sigara içmenin akciğer kanseri ile ilişkisini açıklayan, üzerinde çok durulan iki yolak vardır. İlk olarak, tütün dumanında mevcut olan polisiklik aromatik hidrokarbonlar, p53 geninde hücre döngüsü bozulumu ve karsinojenez için çok önemli olan mutasyonlara neden olur (Ridge ve ark., 2013). Ayrıca sigarada bulunan kanserojen maddeler, gende guanin ve timin transversiyonuna neden olur. İkinci olarak, N-nitroso bileşikler, tütün dumanında bulunan ve bazıları güçlü hayvan kanserojenleri olan diğer bir ana kimyasal gruptur. Bu bileşikler sigara içenlerin idrarında bulunabilir (Vineis ve ark., 2004). Polisiklik aromatik hidrokarbonlardan benzopiren'in p53 geninde üç ayrı lokusta harabiyet yaptığı, ve bu hasarın primer akciğer kanseri olan hastaların %60'ında olduğu gösterilmiştir (Gibbons ve ark., 2014). Ağır sigara içicilerin neredeyse %20 'sinde Akciğer kanseri oluşur (Furrukh, 2013).

Akciğer kanseri gelişme riski; günlük içilen sigara miktarı sayısı, içilen yıl sayısı, sigaraya erken yaşta başlama, filtresiz veya yüksek katran içerikli sigara içimi ile artar. Sigaranın kesilme süresi ile ise orantılı olarak risk azalır. Ayrıca pasif tütün maruziyeti de akciğer kanseri gelişme riskini artırmaktadır. Sigara ile en fazla ilişkili histolojik tipler erkeklerde yassı hücreli karsinom ve kadınlarda ise küçük hücreli karsinomdur.

Akciğer kanseri etyolojisinde sigara içenlerde ikinci en sık, sigara içmeyenlerde ise en sık karşılaşılan etken radyoaktif radon gazıdır (Choi ve ark., 2018). Radon (radon-222) doğal, radyoaktif bir maddedir; esas olarak toprakta veya kayada bulunan inert bir gazdır. Vücuda girdikten sonra, bu radyoaktif elementler, akciğer dokusunu etkileyen α -ışınlarını yayar ve bu da uzun süre maruziyette akciğer kanserine neden olur (Yoon ve ark., 2016). Radonun yarı ömrü 3,8 gündür ve havada uzun süre kalabilir. dış ortamlarda radon konsantrasyonları çok düşüktür. Bununla birlikte, iyi havalandırılmamış bir iç ortamda, radon konsantrasyonları insan vücudu üzerinde zararlı bir etkiye neden olabilecek seviyelere yükselebilir (Yoon ve ark., 2016). İç mekanda mevcut olan radon kaynağı, radon gazının bir binaya sızdığı yerden ve duvarlarındaki çatlaklardan sızdığı yakındaki toprak ve kayalara, binaya getirilen yeraltı suyu ve yapı malzemelerine kadar izlenebilir. İnsanın yıllık maruz kaldığı radyasyon dozunun yaklaşık % 85'i doğal radyasyona bağlanabilir ve radon bu radyasyon dozunun yaklaşık % 50'sini oluşturur. Radona uzun süre maruz kalmanın akciğer kanseri riskini arttırmaktadır. Ancak radon maruziyetinin doğal olarak oluşan bir radyoaktif madde olduğu için kontrol edilmesi ve yönetilmesi zordur. Bununla birlikte, iç mekan radon seviyelerini belirlemek için dünya genelinde ulusal radon konsantrasyon araştırmaları yapılmıştır (Chambers, 2010). Özellikle bodrum katlarda ve madenlerde radon gazı yoğun olarak birikebilir. Radondan korunmak için evler sık sık havalandırılmalıdır.

Akciğer kanseri için diğer risk faktörleri ise hava kirliliği, asbest maruziyeti, nikel veya kobalt maruziyeti, düşük sosyoekonomik düzey, yüksek yağ ve kolesterol içerikli diyet, cinsiyet, genetik faktörler ve geçirilmiş akciğer hastalıklarıdır (Malhotra ve ark., 2016). Sebzeler ve meyveler açısından zengin bir diyetin, akciğer kanserine karşı koruyucu bir etkisi olabileceğini gösteren vaka kontrol çalışmaları vardır (Lam ve ark., 2009, Malhotra ve ark., 2016). Hava kirliliği, iyi havalandırılmamış evler, evlerde

kömür odun ve diğer katı yakınlarla ısınma sağlanması, akciğer kanseri oluşumunda risk faktörleridir (Lissowska ve ark., 2005). Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, organik maddenin yanması sırasında oluşan karmaşık ve önemli bir kimyasal gruptur. Demir, çelik, alimünyum üretimi, baca temizleme, çatı kaplama gibi çeşitli sektörlerde çalışan işçilerde, artmış akciğer kanseri sıklığı rapor edilmiştir (Rota ve ark., 2014). Asbestlerin tüm farklı türleri insan akciğerine kanserojendir (Berman ve Crump, 2008).

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalar akciğer kanseri için yüksek risk altındadır ve bir dizi çalışma bunun sigaradan bağımsız olduğunu göstermiştir (Malhotra ve ark., 2016). Ayrıca geçirilmiş bazı akciğer enfeksiyöz hastalıkları da özellikle akciğer adenokarsinomu gelişmesi açısından risk faktörüdür (Mayne ve ark., 1999). Akciğer kanseri 40 yaş altında nadir görülür, 80 yaşına kadar risk giderek artar, sonrasında azalmaya başlar. Ayrıca sigara içen kadınlarda akciğer kanseri görülme riski sigara içen erkeklerden üç kat daha yüksektir (Gasperino, 2011).

2.1.5. Akciğer Kanseri Tanı Yöntemleri

Akciğer kanseri için tanısal çalışma; tanının patolojik olarak konmasını, tümörün ne kadar yayıldığını, evrelemeyi ve hastanın fonksiyonel durumunun tedavi olanakları açısından bir analizini içermelidir (Hammerschmidt ve Wirtz, 2009). Akciğer kanserinin tanı ve evreleme sürecinde invaziv ne invaziv olmayan yöntemler kullanılmaktadır.

Tedavi için en önemli şey küçük hücreli ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri arasında ayırım yapmaktır. Küçük hücreli olmayan çeşitli kanser türlerinin çeşitli alt tipleri arasında ayırım yapmak, belirli kemoterapötiklerin ve hedefli tedavilerin ruhsatlandırılmasındaki ve etkililiğindeki farklılıklar nedeniyle de giderek önem kazanmaktadır. Bu nedenle, mümkünse tüm durumlarda histolojik olur tanı konmalıdır.

Posteroanterior ve lateral akciğer grafisi, akciğer kanseri şüpheli olgularda başvurulacak ilk radyolojik yöntemdir. Akciğer grafisinde; hilus genişlemesi, hiler kitle, perihiler kitle, parenkim kitlesi, apikal kitle, lob ve segmentte hiperlüksensi, bronş

obstrüksiyon bulguları, atelektazi, pnömoni, mediastinal genişleme ya da kitle gibi patolojiler akciğer kanserinde görülebilmektedir.

Bilgisayarlı Tomografi (BT) ; kitlenin boyut ve lokalizasyonunun saptanmasında, lezyonlarda kalsifikasyonun varlığını ortaya koyarak benign veya malign lezyon ayırımının yapılmasında, standart akciğer filmlerde görülmeyen nodülleri ortaya çıkarmada, mediastinal lenf bezlerini saptamada, tümör kitlesinin mediastinal yapılarla ilişkisini belirlemede önemli veriler sağlar.

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) yöntemi daha çok mediastinal ve paravertebral hastalık bulgularının tespiti için tercih edilir. Ekstraplevral yağ dokusu, kaslar, süperior sulkus tümörleri ve vertebra invazyonu MRG ile daha iyi gösterilebilir.

Bronkoscopi, tanıda sıkça kullanılan önemli bir tanı yöntemidir. Santral yerleşimli tümörlerde başarı oranı % 90 iken periferik tümörlerde bu oran düşüktür. Transtorasik ince iğne aspirasyonu ise periferik yerleşimli soliter kitlelerde etkili tanı yöntemidir. Torasentez, torakoscopi, metastatik lenf nodu yada kitlenin biyopsisi, balgam sitolojisi ve endobronşiyal ultrasonografi gibi yöntemler akciğer kanseri tanısında diğer kullanılan yöntemlerdir.

Tüm bu tanı yöntemlerine rağmen, akciğer kanserinin hâlihazırda tanıda kullanılan bir biyomarkeri yoktur. Akciğer kanserinin geç klinik bulgu vermesi nedeniyle Akciğer kanseri hastalarının sadece çok az bir kısmı erken evre ile başvurmaktadır.

2.1.6. Akciğer Kanseri Laboratuvar Bulguları

Akciğer kanserli hastalar, özellikle erken evre hastalığında sıklıkla spesifik semptomlar göstermezler. Tüm hastalara tam kan sayımı, serum elektrolitleri, kalsiyum, alkalen fosfataz, albümin, aspartat aminotransferaz (AST) , alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH), bilirubin ve kreatinin içeren geniş biyokimya tetkikleri yapılmalıdır (Zamay ve ark., 2017). Elektrolitler, üre ve kreatinin, en sık

KHAK'de görülen, uygunsuz antidiüretik hormon salgılanması sendromuyla ilişkili değişiklikleri gösterebilir. Karaciğer enzimleri, karaciğer metastazı varlığında yükselebilir. Serum albümini, ileri evre hastalığa işaret eden prognostik bir faktördür (Zamay ve ark., 2017). Günümüzde tümör markerları, asemptomatik popülasyonda ya da akciğer kanseri riski yüksek olanlarda (sigara içenler) tarama amacıyla kullanılmamalıdır (Stieber ve ark., 2006). Cyfra 21-1, Nöron spesifik enolaz (NSE), karsinoembriyjenik antijen (CEA), kanser antijen-125 (CA-125), kanser antijen 15-3 (CA-15-3), kanser antijen 72-4 (CA-72-4) ve progastrin salgılayan peptit (proGRP) akciğer kanserinde ve histolojik alt tip tayininde ve tedavi takibinde faydalı olabilecek tümör belirteçleridir (Stieber ve ark., 2006). Özellikle NSE ve proGRP, KHAK türünde ön plana çıkmakta iken, CEA, CA-125 ve Cyfra21-1 KHDAK'de ön plana çıkmaktadır (Stieber ve ark., 2006).

2.1.7. Akciğer Kanserinin Histopatolojik Sınıflandırılması

Akciğer kanserinin, küçük hücreli akciğer kanseri(KHAK) ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) olmak üzere iki ana alt tip vardır. KHDAK; akciğer kanserinin % 85'ini oluştururken KHAK için bu oran yaklaşık % 15'dir. Akciğer kanserlerinde KHAK ve KHDAK olmak üzere ayırım yapılmasının nedeni KHAK'lerin daha agresif seyretmeleri, tanı anında metastaz yapmaları ve genellikle cerrahi şansın olmamasıdır. KHDAK ayrıca üç tipe sınıflandırılır: skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom ve büyük hücreli karsinom.

2.1.7.1. Küçük Hücreli Akciğer Karsinomu (KHAK)

Akciğer kanserlerinin yaklaşık % 15-25'ini oluşturur. Çoğunlukla büyük bronşlardan kaynaklanırlar. Sigara ile güçlü ilişkisi mevcuttur ve sigara içen kadınlarda sık görülen akciğer kanseri tipidir. KHAK histolojik olarak az sitoplazmalı olması, hücre sınırlarının iyi seçilmemesi, ince granüler kromatin içermesi, nükleolu olmaması ya da belirsiz olması, yüksek mitotik aktivitesinin olması ve nöroendokrin farklılaşma göstermesi (CD 56, sinaptofizin, kromogranin A pozitif) ile KHDAK'nden ayrılır. Hızlı proliferasyon, erken metastazlar ve hızlı relapslarla seyreder. Kemoterapi ve radyoterapiye duyarlıdır. Santral kitle prezentasyonu (nadiren periferik %5) hakimdir.

Erken safhada mediastinal ve hiler lenf bezlerine metastaz yaparlar. Sitoplazmada nöroendokrin salgı özelliği bulunan yoğun granüller görülür. Bu nedenle bronş mukozasında normal olarak bulunan Kulchitsky hücrelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Uygunsuz ADH Sendromu, hiperkalsemi, Cushing Sendromu gibi paraneoplastik sendromların en sık görüldüğü akciğer karsinomudur.

2.1.7.2. Adenokarsinom

Adenokarsinom, bronşiyal mukozanın glandüler hücrelerinden kaynaklanır. Kadınlarda en sık görülen akciğer kanseri türüdür. Sigara içimi ile daha az bağlantılı tümör tipidir. Olguların 3/4'ü periferik yerleşimlidir. Nadiren santralde yer alırlar. Terminal bronşiyol veya alveollerden kaynaklanır. Daha önce geçirilmiş akciğer hastalıklarına bağlı oluşan fibrotik skar zemininde en sık gelişen akciğer kanseri tipidir. Histolojik olarak akciğer parankim yapısını bozmaksızın duvar boyunca yayılır ve % 10-15 oranında psammom cisimcikleri görülebilir. Akciğer adenokarsinomunun bir başka önemli tanısal özelliği de müsin üretimi yapan bez yapısını içerebilmesidir. Adenokarsinomların en sık metastaz yaptıkları yerler; karaciğer, adrenal bezler, kemik ve santral sinir sistemidir. Histolojik olarak tümör; iyi, orta, az diferansiye ve bronkioloalveoler tiplerden oluşmaktadır. Bazı olgular tipik olarak beyaz köpüklü bolca balgam çıkarır (bronkorea). Amerika'da en sık görülen akciğer kanseri tipi adenokanser iken dünya genelinde özellikle de asya ülkelerinde en yaygın histolojik tip yassı hücreli akciğer kanseridir (Spiro ve Porter, 2002).

2.1.7.3. Yassı Hücreli Karsinom

Akciğer kanserinin en sık görülen tipidir (Gandara ve ark., 2015). Erkeklerde daha sıktır. Tümör çoğunlukla ana bronş kökenli santral yerleşimlidir. Tümör kitlesi çoğunlukla hava yolu lümenine yatan duvar içine doğru uzanmaktadır. Tümör büyüme hızı görece daha yavaştır ve diğer türlerine göre erken metastaz yapması daha az beklenir. Az diferansiye formunda metastaz daha sıkken, iyi ve orta diferansiyasyon gösteren türlerinde direkt yayılım ve lenfojen yayılım daha sıktır. Sigara kullanımı ile güçlü ilişkili olan akciğer kanseri türüdür. Dünya Sağlık Örgütünün 2015 sınıflamasına göre; keratinize olan yassı hücreli, keratinize olmayan yassı hücreli ve bazoloid hücreli

kanser türleri olmak üzere alt gruplara ayrılır (Inamura, 2017). Skuamöz akciğer kanseri, bronş epitel hücrelerinden ortaya çıkar ve keratinizasyon, keratin inci oluşumu veya hücreler arası köprülerin varlığı gibi spesifik farklılaşma özelliklerinden biri ile karakterize edilir.

2.1.7.4. Büyük Hücreli Karsinom

Genellikle nekroz alanları içeren ve periferik yerleşimli akciğer kanseri türüdür. Sıklığı %10-20 arasında değişmektedir. Histolojik olarak belirgin pleomorfizm gösteren, belirgin iri ve düzensiz nukleoluslu, oval, fuziform ya da poligonal, soluk ya da eozinofilik sitoplazmalı, 30-50 milimikron büyüklüğündeki hücrelerden oluşur. Histolojik olarak indifferansiyelerdir. Erken metastaz yaparlar ve kötü prognozlulardır.

2.1.8. Akciğer Kanseri Semptom Ve Bulguları

Öksürük, kilo kaybı, nefes darlığı, göğüs ağrısı ve hemoptizi en sık görülen klinik bulgulardır.

2.1.8.1. Primer Tümörün Büyümesine Bağlı Semptom Ve Bulgular

Erken evrelerinde akciğer kanseri genellikle asemptomatiktir. Özellikle periferik primer akciğer kanserleri herhangi bir belirtiye neden olmadan büyük boyuta ulaşabilir.

Öksürük, bronşiyal irritasyona bağlı erken bir semptomdur. En sık klinik bulgu öksürüktür ve yaklaşık görülme sıklığı % 60-75'dir. Santral yerleşimli tümörlerde daha sık bir klinik bulgu olan öksürüğün yeni ortaya çıkması ya da önceden var olan öksürüğün karakter değiştirmesi, şiddetinin artması, tedaviye yanıt vermemesi ya da kanlı balgam ile birlikte olması klinisyen için akciğer kanseri açısından uyarıcı nitelikte olmalıdır.

Dispne, hastaların % 58'inde erken dönemde olan bir semptomdur ve dispne endobronşiyal tümörün hava yollarında tıkama yapmasına bağlı olarak pozisyonel de olabilmektedir .

Hemoptizi; hastaların %25-40'inde görülen, bronşiyal mukozanın tümör tarafından ülserasyonundan kaynaklanan bir bulgudur (Bernard ve ark., 2001).

Wheezing ve stridor ,hastaların yaklaşık % 2-10'unda görülür ve tek taraflı veya yakın zamanda ortaya çıktığında klinik olarak anlamlıdır (Ganie ve ark., 2013). Ana bronş veya trakeanın basıncının artışı ve hava yolunun daralması sonucu ortaya çıkar.

Göğüs ağrısı akciğer kanserinde sık görülen bir semptomdur ve plevra, göğüs duvarı veya mediasten invazyonu olmasa dahi hastaların yarısında görülmektedir (Ganie ve ark., 2013). Ayrıca kilo kaybı, halsizlik diğer klinik bulgulardır.

2.1.8.2. Akciğer Kanserinin İntratorasik Yayılımına Bağlı Semptom Ve Bulgular

Ses kısıklığı, laringeal sinir tutulumuna bağlı olmaktadır. Disfaji, mediastinal lenfadenopatiye bağlı özofagus basısı nedeniyle olabilmektedir. Akciğer kanseri, hastaların yaklaşık % 15-20'si plevral efüzyonla kendini gösterir. Frenik sinir tutulumuna bağlı diyafram felcinden dolayı oluşan dispne, rekürren larenjeal sinir tutulumuna bağlı olarak disfoni de görülebilir (Beckles ve ark., 2003). Vena kava süperior sendromu, kanın vena kava süperior yoluyla sağ atriya boşalmasında obstrüksiyon sonucu gelişen klinik bir durumdur ve en sık nedenlerinden birisi akciğer kanseridir. Ayrıca süperior sulkus tümörlerinde, apikal akciğer tümörünün brakial pleksusa ve servikal sempatik zincire bası yapması sonucunda kol ve el kaslarında ağrı, atrofi ve bu klinik bulgulara eşlik eden Horner sendromu beklenebilir.

2.1.8.3. Akciğer Kanserinin Ekstratorasik Yayılımına Bağlı Semptom Ve Bulgular

Otopsi serilerinde KHDAK'inde ekstratorasik metastaz sıklığı; yassı hücreli karsinomda % 54, adenokarsinomda % 82, büyük hücreli karsinomda % 86 ve KHAK'de % 95'lerdedir (Spiro ve Porter, 2002). Kraniyal metastaz, kemik metastazı, karaciğer ve adrenal metastaza bağlı klinik bulgular olabilmektedir (Beckles ve ark., 2003). Kemik metastazında; bölgesel kemik ağrıları ile laboratuvar da alkalen fosfataz

ve kalsiyum yüksekliği dikkat çekici olmalıdır. Epigastrik ağrı, iştahsızlık, karaciğer büyümesi ve laboratuvarında transaminazların yüksekliği karaciğer metastazı açısından uyarıcı olmalıdır. Santral sinir sistemi tutulumuna bağlı olarak epileptik nöbetler, kişilik değişikliği gibi semptomlar olabilir.

2.1.8.4. Akciğer Kanserine Bağlı Paraneoplastik Sendromlar

Paraneoplastik sendromlar, primer veya metastatik tümörlerin fiziksel etkileri ile doğrudan ilişkili olmayan, ancak tümörün varlığına bağlı gelişen, belirti ve bulgulardan oluşan klinik tablolardır. Akciğer kanseri ile ilişkili paraneoplastik sendromlar; çeşitli organ fonksiyonlarını bozabilir ve nörolojik, endokrin, dermatolojik, romatolojik, hematolojik ve oftalmolojik sendromların yanı sıra glomerulopati ve koagülopatiyi (Trousseau sendromu) de içerebilir (Kanağı ve ark., 2014). Hiperkalsemi, nadiren kemik metastazından bağımsız olarak, tümörün paratiroid hormon ilişkili peptit (PTHrP) sentezlemesine bağlı olarak en sık yassı hücreli akciğer kanseri türü olmak üzere diğer akciğer kanseri türlerinde de gözlenir.

Uygunsuz antidiüretik hormon (ADH) sekresyonu, en sık KHAK'de görünür ve hiponatremiye neden olur. Tümörden adrenokortikotropik hormon (ACTH) salgılanmasına bağlı olarak özellikle KHAK hastalarında Cushing sendromuna neden olur. Karsinoid sendrom, hipoglisemi ve akromegali, akciğer kanserinde endokrin paraneoplastik sendromlardır. Altta yatan kanseri tedavi etmek, genellikle paraneoplastik sendromlar için en etkili tedavi biçimidir.

2.1.9. Akciğer Kanserinde Evreleme

Akciğer kanserinde tümörün histolojik tipi, hastanın klinik durumu ve hastalığın evresi birlikte değerlendirilerek tedavi planı yapılır. Akciğer kanserini evrelemede, primer tümörün büyüklüğü ve yayılımı (T), bölgesel lenf nodu tutulumu (N) ve uzak metastaz varlığını ya da yokluğu (M) durumlarının değerlendirildiği TNM evreleme sistemi kullanılmaktadır. Çizelge.2.1'de ve Şekil.2.7'de KHD AK'de sekizinci evreleme tanımlayıcıları gösterilmiştir.

Akciğer kanserinin evrelendirilmesi; prognozun belirlenmesi, uygun tedavi yönteminin seçilmesinde önemlidir ve ayrıca evrelendirme, dünya genelinde ortak tedavi protokollerinin belirlenmesi ve ortak klinik araştırmaların yapılmasına da olanak sağlar. İlk akciğer kanseri evrelendirilmesi Dr.Pierre Denoix tarafından 1953 yılında yapılmıştır (Cok, 2018, Detterbeck ve ark., 2017). 2017 yılından itibaren, revize edilen, 8. Akciğer kanseri evreleme sistemine geçilmiştir.

	No	N1	N2	N3
T1	IA	IIB	IIIA	IIIB
T2a	IB	IIB	IIIA	IIIB
T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB
T3	IIB	IIIA	IIIB	IIIC
T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC
M1a	IVA	IVA	IVA	IVA
M1b	IVA	IVA	IVA	IVA
M1c	IVB	IVB	IVB	IVB

Şekil.2.7. Akciğer kanserinde TNM evreleme sistemine göre evre gruplarının belirlenmesi

Çizelge-2.1. Sekizinci Evreleme Sisteminin T, N ve M Tanımlayıcıları

T-Primer Tümör	
T_x	Primer tümörün değerlendirilemediği veya balgam ya da bronşiyal yıkama sıvısında malign hücrelerin gösterildiği ancak tümörün bronkoskopi veya görüntüleme yöntemleri ile saptanamadığı durumlar
T₀	Primer tümör yok
T₁	Normal akciğer veya viseral plevra ile çevrili, en geniş çapı ≤ 3 cm tümör.
T_{1a(mi)}	Minimal invaziv adenokarsinom
T_{1a}	Tümörün en geniş çapı ≤ 1 cm
T_{1b}	Tümörün en geniş çapı > 1 cm, ≤ 2 cm
T_{1c}	Tümörün en geniş çapı > 2 cm, ≤ 3 cm
T₂	*Tümör çapı < 3 cm ve ≤ 5 cm ya da *Visseral plevra, ana bronş (karina olmadan) veya hiler bölgeye uzanan atelektazi varlığı
T_{2a}	Tümörün en geniş çapı > 3 cm, ≤ 4 cm
T_{2b}	Tümörün en geniş çapı > 4 cm, ≤ 5 cm
T₃	*Tümör < 5 cm ve ≤ 7 cm yada *Göğüs duvarı, frenik sinir ya da perikardiyum invazyonu *Primer tümörle aynı lobda metastatik nodül veya nodüller
T₄	*Tümör > 7 cm ya da *Mediastinum, diyafram, büyük damarlar, kalp, trakea, rekürren laringeal sinir, özefagus, vertebra korpusu, karina invazyonu *Primer tümörle aynı akciğerde fakat farklı lobda nodül veya nodüller
N-Bölgesel Lenf Nodu Tutulumu	
N₀	Bölgesel lenf nodu metastazı yoktur.
N₁	İpsilateral peribronşiyal ve/veya ipsilateral hiler lenf nodlarına ve/veya intrapulmoner lenf nodlarına metastaz veya direkt invazyon
N₂	Ipsilateral mediastinal ve/veya subkarinal lenf nodlarına metastaz
N₃	Kontralateral mediastinal, kontralateral hiler, ipsilateral veya kontralateral skalen veya supraklavikular lenf nodlarına metastaz
M-Uzak Metastaz	
M₀	Uzak metastaz yok
M₁	Uzak metastaz var
M_{1a}	Tek bir ekstratorasik organda, tek metastaz
M_{1b}	Tek ekstratorasik organda tek metastaz
M_{1c}	Tek veya birçok organda birden çok metastaz

2.1.10. Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanserinde Tedavi

Akciğer kanserinde tedavi, hastanın genel medikal durumu, performans durumu, komorbid hastalıkları, doku tanısı ve hastalık evresi göz önünde bulundurularak, multidisipliner bir yaklaşımla yapılmalıdır. KHDAK hastalarının tedavisinde kullanılan üç ana tedavi şekli; cerrahi, kemoterapi ve radyoterapidir. Hastalık evresine ya da tümörün operasyona uygunluk durumuna göre tek başlarına ya da bir arada kullanılabilirler.

Performansı iyi, operasyonu tolere edebilecek, Evre I, II ve seçilmiş IIIA KHDAK olan hastalar, tümör rezektabl olarak bulunursa tipik olarak ilk tedavi cerrahidir. Rezeksiyon ameliyatı geçiren bazı hasta grubu, akciğer kanseri nüks riskini azaltmada adjuvan tedaviden fayda görebilir. Adjuvan tedavi; radyasyon, kemoterapi ve hedefe yönelik tedaviyi içerebilir. Postoperatif radyoterapi, lenf nodu pozitifliğinde ve rezidüel lokal hastalıkta faydalıdır. Rezeke edilemeyen evre III hastalarda eş zamanlı kemoterapi ve radyoterapi uygulanabilir.

Yeni tanı alan akciğer kanseri hastalarının yaklaşık % 40'ı evre IV'tür. Bu hastaların tedavisindeki amaç sağkalımı artırmaktır. Evre IV'de standart tedavi kemoterapidir. İnoperable ileri evre metastatik hastalarda sağkalımı uzatmak için kemoterapi uygulanır. Kullanılan kemoterapötikler genellikle sisplatin, etoposid, vinorelbin, paklitaksel, gemesitabin, bevasizumab, dosetaksel ve irinotekandır. Genelde kombinasyon kemoterapi uygulanır.

2.1.11. Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanserinde Prognoz

Günümüzde yeni tanı yöntemlerine ve tedavi yöntemlerine rağmen akciğer kanseri, prognozu kötü bir kanser türüdür ve 5 yıllık sağkalım oranları % 10-15 civarındadır (Hubbard ve ark., 2012). Evre I hastalarda 5 yıllık sağkalım % 65'lerde iken evre IV hastalıkta %10'un altındadır (Goldstraw ve ark., 2016). Prognoz, akciğer kanserin hücre tipine, evresine, hasta yaşına ve komorbid hastalıklarına bağlıdır. Tümör boyutu arttıkça, tutulan lenf nodu sayısı ve evresi arttıkça ve metastaz varlığında

prognoz kötüleşmektedir (Goldstraw ve ark., 2016). KHAK prognozu daha kötüdür. Serum albümin düşüklüğü, hastanın son 6 ayda % 10 ve daha fazla kilo kaybının olması, LDH yüksekliği, iki veya daha fazla ekstratorasik metastazın saptanması prognozu olumsuz etkileyen faktörlerdir (Brundage ve ark., 2002).

2.2. Anjiyogenezis

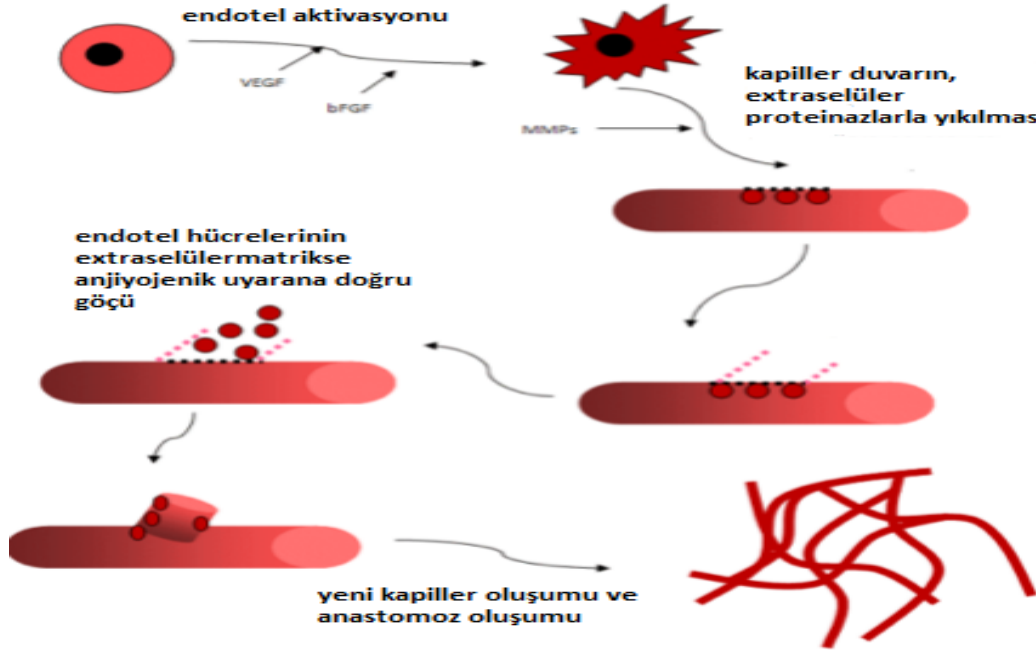
Anjiyogenezis, mevcut kan damarlarından yeni kapiller oluşmasıdır ve fizyolojik süreçlerde anjiyogenezisin önemli işlevleri vardır. Ateroskleroz, diyabetik retinopati, artrit, nörodejeneratif hastalık, preeklampsi ve özellikle tümör büyümesinde ve metastaz oluşumunda oluşum ve ilerleme aşamasında anjiyogenezis önemlidir (Ferrara, 2004). Vaskülojenez ise hematopoetik öncü hücrelerden damarların de nova oluşumudur ve ağırlıklı olarak gelişmekte olan embriyoda gerçekleşir. Anjiyogeneziste esas hücre endotel olmakla beraber, bazal membran, ekstraselüler matriks, büyüme faktörleri, sitokinler, reseptörler ve inhibitör faktörler gibi kaskata yardımcı başka faktörler de görev alır. Premalign bir lezyonun malign lezyona dönüşmesinden metastaza dek anjiyogenezis rol oynamaktadır. Tümör dokusunun 2mm^3 boyutunun üzerine çıkabilmesi için anjiyogenezis şarttır ve vasküler desteğin yokluğunda, tümörler nekroza veya apoptoza uğrayabilir (Nishida ve ark., 2006). Metastaz olması için ise öncelikle primer tümör hücreleri dolaşıma geçmeli ve uzak organa ulaştıktan sonra da anjiyogenezis olmalıdır.

Fizyolojik anjiyogenezis kendini sınırlarken, tümöral anjiyogenezis kendini sınırlandırmaz. Hipoksi, tümöral anjiyogeneziste anjiyogenezis olmasını uyarır ve tümör büyüdükçe hipoksi yeniden oluşur ve anjiyogenezis kısır döngü halinde stimüle olur (Hamutoglu, 2017). Çizelge 2.4’de gösterildiği gibi, anjiyogenezis, hem aktivatör hem de inhibitör molekülleri tarafından düzenlenir (Nishida ve ark., 2006). Şekil.2.8’de anjiyogenezisin basamakları şematik olarak gösterilmiştir.

Tümör anjiyogenezisini evreleyecek olursak (Nishida ve ark., 2006) ;

1. Bazal membran ve ekstraselüler matrisin (ECM) proteolitik enzimlerle yıkımı:
Matris metalloproteinazlar ve plazminojen aktivatör enzimleri aktive olur ve bu enzimler bazal membranın ve ECM'in yıkılmasını sağlar.
2. Anjiyogenik faktörler tarafından aktive edilen endotel hücreleri göç eder.
3. Büyüme faktörlerinin etkisi ile endotel hücre proliferasyonu olur.
4. Kapiller lümen oluşumu ve damarların olgunlaşması: Perisitlerin ve vasküler düz kas hücrelerin endotelyuma katılması ve bazal membranın sentezlenmesi ile anjiyenez tamamlanmış olur. Kapillerler olgunlaşırlar ve son olarak anjiyogenezis inhibe olur ve süreç tamamlanır.

Anjiyogenezisin esas aktivatörü VEGF olup, FGF, EGF, TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, Anjiyogenin, NOS da önemli diğer aktivatörlerdir. Çizelge-2.2'de anjiyogenezisin aktivatörleri ve inhibitörleri gösterilmiştir.



Şekil.2.8. Anjiyogenez basamaklarının şematik gösterimi

Çizelge.2.2 Anjiyogenezisin endojen düzenleyicileri (Nishida ve ark., 2006)

Aktivatörler	İnhibitörler
Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)	IL-10, IL-12
Fibroblast büyüme faktörü (FGF)	Plazminojen aktivatör inhibitör-1
Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)	Endostatin
TNF- α , IL-1,IL-6,IL-8	Vazostatin
Anjiyogenin	Anjiyostatin-2
Nitrik oksit sentaz	İnterferon- α (IFN- α)
Hipoksi	Doku metalloproteinaz inhibitörü

2.3. Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF)

VEGF, molekül ağırlığı yaklaşık 45 kDa olan bir homodimerik glikoproteindir ve pek çok biyolojik fonksiyonu vardır (Carmeliet, 2005). İnsanlarda VEGF geni kromozom 6p21.3 de lokalizedir ve 7 intron ile ayrılmış 8 exondan oluşur (Papaioannou ve ark., 2006). Anjiyogeneziste anahtar bir modülatördür ve vasküler permabilite faktörü olarak da bilinir. VEGF, biyolojik aktivitesini endotel hücreleri üzerindeki transmembran tirozin kinaz reseptörleri vasıtasıyla etkiler. Damar endotel hücrelerinde eksprese edilen iki VEGF reseptörüne (VEGF reseptörü-1 ve VEGF reseptörü-2) bağlanır. VEGF başlangıçta hücre içi boşluklar, veziküler organeller, vakuoller ve fenestrasyonların oluşmasıyla endotelin geçirgenliğini arttırdığı için permabilite faktörü olarak tanımlanmıştır (Bates ve ark., 2002). Endotel hücreleri başta olmak üzere, makrofajlar, stroma hücreleri ve malign hücrelerden de salgılanabilen VEGF, anjiyogenezis, vaskülogenezis ve lenfanjiyogeneziste rol alır.

En bilinen dört ana VEGF izoformu mevcuttur. Bu izoformlar 121, 165, 189 ve 206 amino asit uzunluğundadır. 165 amino asitli formu baskın VEGF türlerini temsil eder. VEGF-A, VEGF-B, plasental büyüme faktörü (PlGF), VEGF-C ve VEGF-D, VEGF ailesi üyeleridir (Tammela ve ark., 2005). PlGF temel olarak önceden var olan arteriyollerden kollateral arterlerin oluşumuna aracılık edebilir ve bu nedenle örneğin tıkalı aterosklerotik hastalıkta terapötik olarak potansiyele sahiptir. VEGF-C ve VEGF-D temel olarak lenfanjiyojenik faktörlerdir, gelişim sırasında olduğu kadar yetişkinlerde de lenfatik damarların büyümesini indüklerler. Etkilerini çoğunlukla VEGFR-3 aracılığı ile gösterirler. VEGF-C ve VEGF-D sinyal transdüksiyonunun inhibisyonu, kanserde lenfatik metastazın inhibisyonunda kritik öneme sahiptir (Tammela ve ark., 2005). VEGF-A, diğer ismiyle VEGF, VEGF ailesinde anjiyogenez sürecinde en önemli olan moleküldür.

VEGF ailesinin reseptörleri; tirozin kinaz yapısındaki VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3 ile non-enzimatik reseptör yapısındaki Neuropilin-1 ve Neuropilin-2'dir. VEGF, endotel hücresi üzerindeki spesifik etkilerini VEGFR-1 ve VEGFR-2 aracılığı ile yapar ve VEGFR-1'e afinitesi daha fazladır ancak etkisi daha zayıftır.

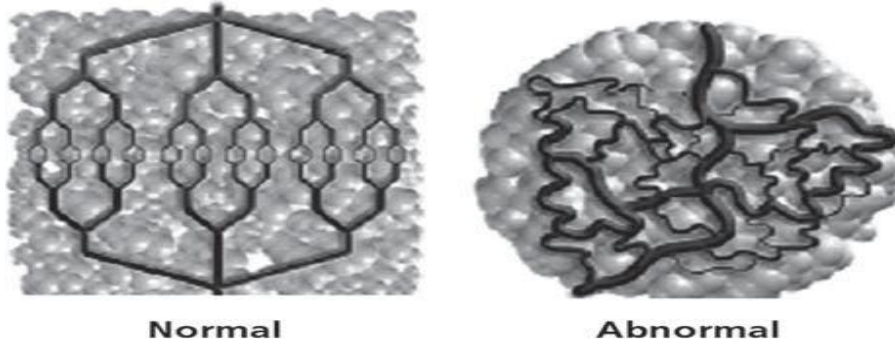
VEGF'nin çoğunlukla endotel hücreler üzerinde etkili olmasına rağmen, hematopoetik kök hücreler, monositler, osteoblastlar ve nöronlar üzerindeki VEGF reseptörlerine de bağlandığı gösterilmiştir (Ferrara ve ark., 2003). EGF, TNF- α , IL-1 ve bazik FGF dahil birçok sitokin hücrelerde VEGF ekspresyonunu indükler. VEGF ayrıca endotel nitrik oksit sentazın (eNOS) indüksiyonu ve ardından nitrik oksit üretiminde artış yoluyla vazodilatasyona neden olur .

Fizyolojik olarak, sağlıklı insanlarda VEGF embriyonik gelişimde anjiyogenezi teşvik eder ve yetişkinlerde yara iyileşmesinde önemlidir. Anjiyogenez, kanser gelişimi ve büyümesi için esastır ve tümörün 1-2 mm'den fazla büyümesi için VEGF'nin anjiyogenezi uyarması gerekmektedir (Carmeliet, 2005). VEGF endotel hücrelerinin proliferasyonunu, göçünü ve kapiller oluşumunu indükler (Tammela ve ark., 2005). VEGF'nin ve diğer büyüme faktörlerinin tümör tarafından üretilmesi, tümörün içinde ve çevresinde yeni damar oluşumunu sağlar ancak Şekil.2.9'da görüldüğü gibi VEGF etkisi

altında oluşan tümör vaskülarizasyonu yapısal ve işlevsel olarak anormaldir. Kan damarları düzensiz şekilli, kıvrımlıdır, çıkmaz noktaları vardır ve venüller, arteriler ve kılcal damarlar halinde düzenlenmezler. Tümör vaskülatürünün düzensiz mimarisi, zayıf tümör perfüzyonuna ve hipoksi alanlarına yol açar; bu da, daha sonra VEGF salınımını uyarır ve tümör anjiyojenezi için ek bir pozitif geri besleme döngüsü oluşturur.

VEGF sentezinin en güçlü uyararı hipoksidir ve hücre kültürü çalışmalarında ortamdaki oksijen oranı % 21'den % 0-3'lere düşürüldüğünde, VEGF mRNA seviyelerinde 10 ile 50 kat arası artış görülmüştür (Shweiki ve ark., 1992). Yetersiz perfüzyonun sonucu olan asidoz da VEGF sentezini uyarmaktadır (Fukumura ve ark., 2001). VEGF'nin malign transformasyonda up-regüle olması; onkogen aktivasyonu, anti-tümör moleküllerinin inhibisyonu ve büyüme faktörlerinin salınması, tümör hipoksisi ve nekrozu gibi bir dizi farklı faktörden kaynaklanabilir.

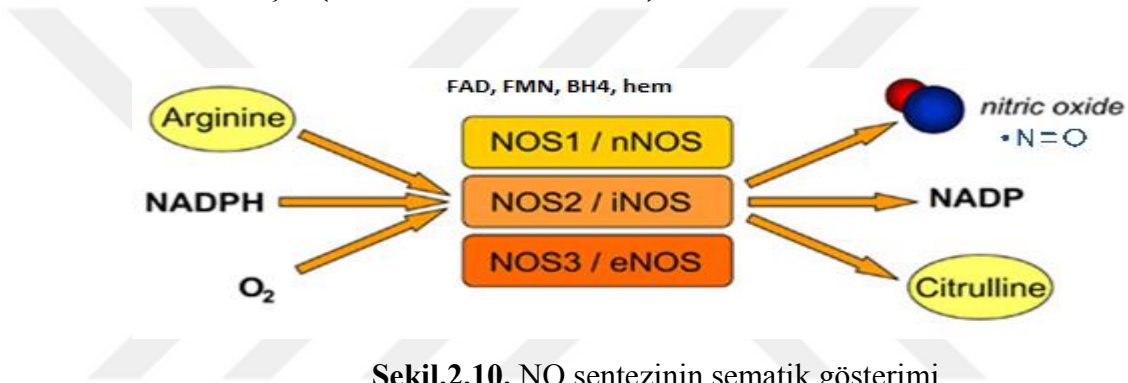
VEGF ayrıca, tümörlerin yeni oluşan kan damarlarını apoptozdan koruyarak tümör büyümesinde önemli bir rol oynar. VEGF, plazminojen aktivatörü ve MMP interstisyel kollajenaz gibi hücre dışı matrisin parçalanmasında rol oynayan enzimlerin salgılanmasına ve aktivasyonuna aracılık ederek başka kan damarlarının engellenmeden gelişmesine izin verir (Carmeliet, 2005).



Şekil.2.9. Tümör dokularında VEGF etkisi altında oluşan kan damarları kan anormal ve verimsizdir.

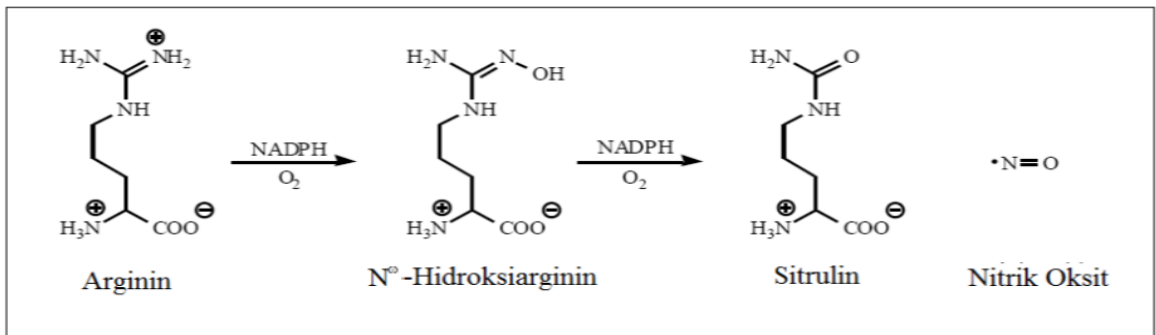
2.4.Nitrik Oksit (NO)

Vasküler tonus ve yapının korunmasında endotelden salınan vazodilatör mediatörlerin önemli rolü vardır. Bu mediatörlerden en önemlilerinden birisi, en küçük sinyal molekülü olan NO'dur (Förstermann ve Sessa, 2012). Suda çözünürlüğü düşüktür, yüksüzdür ve lipofilik bir gazdır. Yağda çözünebilir ve lipid membranları boyunca serbestçe difüze olur. NO depolanmaz fakat de novo sentezlenebilir. NO, ilk olarak Stuehr ve Marletta tarafından 1985 yılında, aktive edilmiş fare makrofajlarının bir ürünü olarak tarif edilmiştir (Stuehr ve Marletta, 1985).



2.4.1.Nitrik Oksit Sentezi

NO, memelilerde L-argininden O₂ varlığında NO sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenir. NOS enzimlerinin aktivasyonu için, flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN), nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), tetrahydrobiopterin (BH₄) ve hem grupları koenzim olarak kullanılır



Şekil.2.11. NO sentez basamakları (Paige ve Jaffrey, 2007)

NOS enziminin nöronal (nNOS, NOS-1,) uyarılabilir (iNOS, NOS-2) ve endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS, NOS-3) olmak üzere, Şekil.2.10'da gösterildiği gibi üç farklı izoformu vardır. NOS enzimlerinin tipleri, farklı hücrelerden sentezlenebilmektedir. NOS-1 ve NOS-3, hücrelerde yapısal olarak bulunurlar ve NOS-2'nin aksine kalsiyum-kalmodülin bağımlıdır. Hücre içi serbest kalsiyum(Ca^{+2}) artışı ile aktive olan NOS-1 ve NOS-3, kısa süreli ve az miktarda NO sentezini sağlar. NOS-2 ise endotoksin ve enflamatuvar sitokinler tarafından indüklenir ve hücre içinde bulunmaz. İndüksiyon sonrası NO sentezi uzun süreli ve çok miktarda olur ve NOS-2 kalsiyumdan görece bağımsızdır. Şekil.2.10 ve Şekil.2.11'de NO sentezi şematik olarak gösterilmiştir.

Adından da anlaşılacağı gibi, nNOS merkezi ve periferik sinir sistemlerinin nöronlarında yüksek oranda eksprese edilir ve ayrıca iskelet kası miyositleri, akciğer epitel hücreleri ve deri mast hücreleri de dahil olmak üzere diğer hücre tiplerinde tarif edilmiştir. NOS-3 endotel hücreleri tarafından yüksek oranda eksprese edilir ve ayrıca nöronlarda, dermal fibroblastlarda, epidermal keratinositlerde, tiroid foliküler hücrelerinde, hepatositlerde ve düz kas hücrelerinde bulunabilir. iNOS ise makrofajlar, nötrofiller, mast hücreleri, kondrositler, epitel hücreleri, hepatositler, glial hücreler ve immün sistemin birkaç hücre tipini içeren çok çeşitli hücre tiplerinde eksprese edilir (Boettger ve ark., 2007, Feng, 2012, Kopincová ve ark., 2011). NOS-2, bakteriyel lipopolisakkaritler, hipoksi ve sitokinler tarafından uyarılarak, Ca^{+2} bağımlı olmadan indüklenir ve mRNA artışı ile transkripsiyonel olarak indüklenen enzim sonucu NO düzeyi artar (Kroncke ve ark., 1995). Etkisi geç başlar ancak kuvvetlidir. NOS-1 ve NOS-3'de hücre içi kalsiyum artışı ile kalsiyum kalmodüline bağlanır, sonrasında ise kalsiyum-kalmodülin kompleksi NOS'a bağlanarak NOS'u aktive eder. Ayrıca, NOS-2 glukokortikoidler tarafından inhibe olur.

2.4.2. Nitrik Oksit'in Etkileri

Vasküler düz kaslarda gevşeme ve vazodilatasyon, trombosit agregasyon ve adezyonunun inhibisyonunu sağlar. Monosit ve lökositlerin kemotaksisini ve düz kas hücre proliferasyonunu inhibe eder. Ayrıca NO, süperoksit radikalinin vasküler

üretimini azaltarak LDL oksidasyonunun bir inhibitörü gibi davranır. Anjiyogeneziste ise, NO vasküler geçirgenliği artırır, endotel hücre proliferasyonunu ve göçünü indükler ve VEGF ekspresyonunu uyarırken, anjiyojenik etkilerinin çoğuna da aracılık eder (Reddy ve ark., 2018).

NO, birkaç farklı mekanizma yoluyla hedef hücreler üzerindeki etkilerine aracılık eder. Çözünmüş Guanilat siklaz (sGC), tüm memeli hücrelerinin sitozolünde bulunan, akciğer ve beyinde en yüksek konsantrasyonlarına sahip, hem içeren bir proteindir (Ghalayini, 2004). Birkaç farklı sGC izoformu tanımlanmıştır. sGC, her alt birim için en az üç fonksiyonel alana sahip bir heterodimerdir. Bu alanlar bir heme bağlayıcı alan, dimerizasyon alanı ve katalitik alandır ve NO etkisini heme bağlanarak gösterir. Guanilat siklaz enziminin NO aracılı aktivasyonu, ikinci haberci cGMP oluşumunu katalize eder. GTP'den cGMP oluşur. cGMP yolağı, NO'nun etkilerini göstermesinde kullandığı ana mekanizmadır. cGMP de etkilerini Protein Kinaz G aracılığı ile yapar, hücre içi kalsiyum düşer ve düz kas hücreleri gevşer. Kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri; cGMP etkisiyle vazodilatasyon, trombosit adezyon ve agregasyon inhibisyonudur. Santral sinir sisteminde; sinyal iletisi, öğrenme, bellek, görme, koklama gibi duyularda önemli rolü vardır. Düşük dozda antiinflamatuvar etkiliyken, uzun süreli ve çok miktarda salınımında inflamasyonu artırır ve doku harabiyeti yapar. Septik şokta, aktif makrofajlardan salınan yüksek NO seviyeleri hipotansiyona neden olur.

NO oldukça labil bir serbest radikaldir ve biyolojik sıvılarda ölçülemeyecek düzeydedir. Çünkü NO sentezlendikten sonra saniyeler içinde nitrite (NO_2^-) ve nitrata (NO_3^-) okside olur. Biyolojik sıvılarda ölçülen formu nitrit ve nitrattır ve NO seviyelerinin biyolojik sıvılardaki in vivo ve in vitro indikatörü olarak kullanılır (Kuo ve Schroeder, 1995).

2.5. Asimetrik Dimetil Arginin(ADMA)

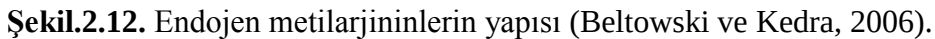
Asimetrik dimetilarjinin (ADMA), N-monometil L-arjinin (L-NMMA) ve simetrik dimetil arjinin (SDMA) başlıca metil arjinin türevleridir. Metil arjininler

proteinlerdeki arjinin rezidülerinin posttranslasyonel modifikasyon ile metillenmesi sonucu oluşan türevlerdir. Öncelikle proteinlerdeki arginin kalıntıları metillenir ve sonra proteoliz ile yıkılarak bu metilli arjininler kana verilir.

Metillenmiş arginin türevleri ilk olarak 1970'de insan idrarından izole edilmiştir. Bununla birlikte, bu alanda araştırmayı başlatan ana çalışma 1992'de Vallance ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır (Vallance ve ark., 1992). Çalışmada, insan idrarından ve plazmasından izole edilen ADMA'nın NO sentezini inhibe ettiğini, deney hayvanı çalışmalarında ise vazodilatasyonu inhibe ettiğini ve kan basıncını artırdığını göstermişlerdir (Vallance ve ark., 1992). Kronik biberk yetmezliğinde ve ciddi karaciğer yetmezliğinde, ADMA düzeylerinin arttığı gözlenmiştir (Beltowski ve Kedra, 2006).

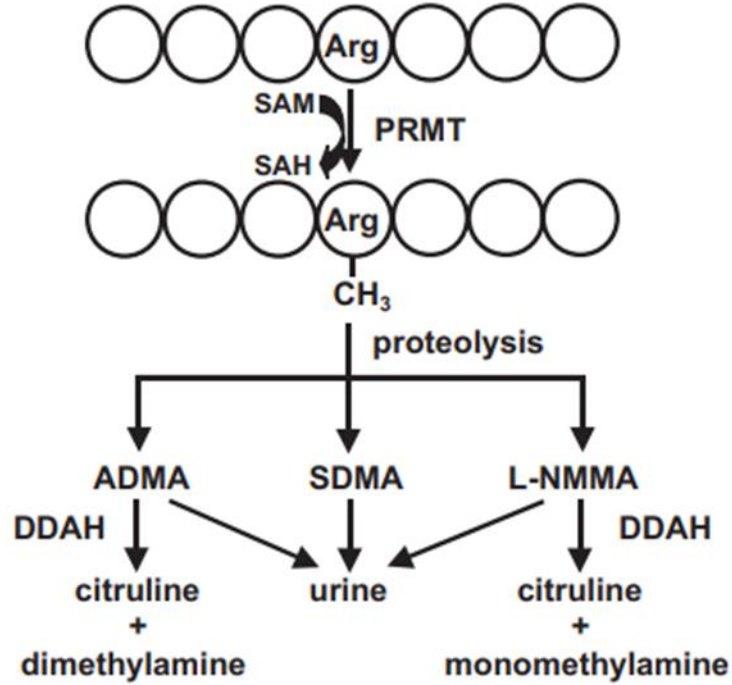
2.5.1. Asimetrik Dimetil Arginin'in Yapısı ve Sentezi

ADMA, SDMA ve L-NMMA oluşumu, protein arginin rezidülerinin metilasyonu sırasında, S-Adenozil Metiyonin(SAM) metil vericisi olarak kullanılır ve Protein Arginin Metiltransferaz (PRMT) enzimi kullanılır. Metil grubu vericisi SAM, S-Adenozil homosisteine (SAH) dönüşür. Sonrasında SAH, homosisteine çevrilir. İki tip PRMT tanımlanmıştır. PRMT-1, histonları ve nükleer RNA bağlayıcı proteinleri metiller ve L-NMMA ve ADMA sentezini sağlar. PRMT-2 ise sadece miyelin bazik proteini metiller ve L-NMMA ve SDMA oluşumunu sağlar (Beltowski ve Kedra, 2006). Son çalışmalar, ayrı genler tarafından kodlanan PRMT-1 ve PRMT-2'nin çoklu izoformlarının mevcut olduğunu göstermektedir ve PRMT enzimleri irreversible olarak metilarginin türevlerinin oluşumunu sağlar. Proteoliz sırasında serbest metilargininler salınır. Normal plazma ADMA seviyesi 1 μ M'den azdır ancak, son dönem böbrek hastalığı olan hastalarda 10 kat, diğer birçok patolojide ise orta derecede (2-3 kat) artar (Vallance ve Leiper, 2004). PRMT reaksiyonları sonucu monometilasyon ya da dimetilasyon oluşur. Dimetilasyon olarak, Tip-1 PRMT reaksiyonu sonucu ADMA oluşurken, Tip-2 PRMT reaksiyonu sonucu SDMA oluşur. Her iki tip PRMT de monometilasyon ile L-NMMA oluşumuna yol açabilir. Hücre yaşamının önemli bir bileşeni olan metillenmiş proteinler hidrolizlenerek, sitozolde serbest metilarginin oluşumunu sağlarlar.



Üç metilargininin tümü, böbrek atılımı ile elimine edilir, ancak, ADMA ve MA'nın % 90'ından fazlası, sırasıyla sitriline ve dimetilamin veya metilamine indirgenen Dimetilarginin Dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzimi ile parçalanır ve parçalanmış polizize edilir (Şekil.2.13). DDAH enziminin doğada 2 izoformu bulunur. DDAH-1; doküman olarak n-NOS içeren dokularda, DDAH-1 ise ağırlıklı olarak i-NOS ve e-NOS dokularda bulunur. Bu izoformlar farklı doku dağılımları göstermelerine rağmen yapıları benzerdir. DDAH'ın farmakolojik inhibisyonu ADMA konsantrasyonunu artırır ve NO üretimini azaltır (Macallister ve ark., 1996). DDAH, endotel hücreleri, pankreas gibi birçok dokuda eksprese edilir, ancak karaciğer ve böbrek ADMA parçalanmasından sorumlu ana organlardır. %15 civarında ADMA ise, hücre içi

yıkımdan kaçır ve kan dolaşımında ya renal yolla atılır ya da karaciğer veya böbrekte hücre içine alınarak DDAH enzimi tarafından metabolize edilir (Kemal Erbil ve ark., 2012). DDAH enzimi ile katabolizma ADMA'nın yıkımında çok önemlidir çünkü renal yolla atılan ADMA miktarı, vücutta oluşan ADMA miktarının yaklaşık %15'idir (Vallance ve Leiper, 2004). Sonuç olarak ADMA'nın esas düzenleyici enzimi, karaciğer, böbrek, kalp, plasenta, akciğer ve beyin gibi birçok dokuda aktivitesi gösterilmiş, sitozolik bir enzim olan DDAH'dır (Kemal Erbil ve ark., 2012). Yüksek konsantrasyonlarda glukoz, homosistein, oksidatif stres, oksitlenmiş LDL-kolesterol ve TNF- α gibi belirteçlerinin DDAH aktivitesini baskıladığı gösterilmiştir (Chachaj ve ark., 2018).



Şekil.2.13. Metilargininlerin sentez ve metabolizması (Beltowski ve Kedra, 2006)

2.5.3. Asimetrik Dimetil Arginin ve Klinik Önemi

ADMA, üç NOS izoformunun hepsinin yarışmalı bir inhibitörüdür ve etkisi, yüksek konsantrasyondaki L-arginin ile tersine çevrilebilir. Bu olaya “arginin paradoksu” denir. L-NMMA, ADMA kadar güçlü NOS aktivitesini azaltır. Ancak plazma konsantrasyonu ADMA konsantrasyonundan 10 kat daha düşüktür. ADMA ile

benzer konsantrasyonlarda üretilen SDMA'nın ise NOS aktivitesine etkisi yoktur. NOS enzim inhibisyonu için ADMA'nın plazmada serbest halde bulunuyor olması gereklidir. ADMA'nın klinikte bu denli önemli olmasını NOS enzimini yarışmalı inhibe etmesi sağlar. NO'nun birçok fizyolojik ve patolojik işlevi vardır. Endotel bağımlı vazodilatasyon, damar duvarında düz kas proliferasyonu, platelet adezyon ve agregasyon inhibisyonu, monosit ve lenfosit adezyon inhibisyonu, anjiyogenezisin uyarılması ve aterom plağı oluşumunu engellemesi bunlardan sadece birkaçıdır (Kemal Erbil ve ark., 2012). ADMA'nın NO ve homosistein ile ilişkisi Şekil.2.14'de gösterilmiştir.

ADMA seviyeleri fizyolojik düzeyinin 3 ile 9 kat üzerine çıktığında NOS'u inhibe etmesi % 10'lardan % 30-70 seviyelerine çıkabilmektedir (Kemal Erbil ve ark., 2012). Karaciğer nakli yapılan hastalarda, nakil sonrası ADMA düzeylerinde düşüş görülmüştür (Ferrigno ve ark., 2015). Prospektif klinik çalışmalarda, özellikle kardiyovasküler risk ile dolaşımdaki ADMA düzeyleri arasında ilişki bulunmuştur (Kemal Erbil ve ark., 2012). Hipertansiyon, tip 2 diyabetes mellitus, insülin direnci ve vasküler disfonksiyonda da ADMA seviyelerinde artış gözlenmiştir (Das ve ark., 2011). ADMA düzeyleri yaşla beraber artmaktadır.

Oksidatif stres, ADMA katabolizmasından sorumlu olan DDAH enziminin aktif bölümünde sistein aminoasitine zarar verir ve enzim aktivitesini azaltır. Sonuç olarak, ADMA'nın yıkımı azalır ve kan düzeyi de artar. Bu nedenle oksidatif stresi arttıran birçok dejeneratif hastalıkta serum ADMA seviyeleri de yüksek bulunmaktadır (Aydın ve ark., 2013).

hayati bir rol oynar (Kuespert ve ark., 2006). Ayrıca CEACAM grubu bazı üyeleri, çeşitli bakteri ve viral patojenlerin reseptörleri olarak görev yapar. PSG'ler, hamilelik sırasında maternal-fetal etkileşimleri düzenlemek için önerilen fetal trofoblastlardan salgılanan proteinlerdir. CEA, kanserojenizde önemli bir rol oynar. Bu ailenin prototipik üyesi CEACAM-5 geninin ürünü , insan CEA olarak adlandırılır (Chan ve Stanners, 2007, Pavlopoulou ve Scorilas, 2014).

Gastrointestinal enfeksiyonlar, peptik ülser, inflamatuvar barsak hastalığı, pankreatit, hipotiroidizm, siroz, gibi birçok benign durumlarda ve farklı birçok kanser türünde arttığı için tanı ve taramada kullanılmaz. Sigara içmeyen erişkinlerde <3ng/ml düzeylerinde iken sigara içenlerde <7ng/ml düzeylerindedir (Menzel ve ark., 2004). Onkofetal bir antijendir ve tümör hücre membranında bulunur ve sonrasında kana salınır. Yükselmiş CEA düzeyleri genellikle kür sağlanamayacak ileri evre hastalıkta gözlenir ve erken tanıda pozitif prediktif değerinin düşük olması ve yüksek yalancı pozitiflik nedeniyle rutinde taramada kullanılmaz. Meme kanseri, kolon kanseri ve over kanseri takibinde kullanılır (Cedres ve ark., 2011).

KHDAK'de prognostik faktör olarak kabul edilmektedir (Arrieta ve ark., 2013, Tomita ve ark., 2010). Özellikle akciğer adenokarsinomunda ileri evre hastalıkta tedavi takibinde ve tekrarlayan hastalık tespitinde bilgi sağlayabilir (Stieber ve ark., 2006). Özellikle KHDAK ayırıcı tanısında CYFRA 21-1 ile beraber değerlendirildiğinde daha faydalı olabilir (Stieber ve ark., 2006).

2.7. Sitokeratin fragman 19 (Cyfra-21-1)

Cyfra 21-1, bir yapı protein olan ve epitelyal hücrelerin stabilitesi için gerekli ara filament proteinlerinin bir parçası olan sitokeratin 19'un bir fragmanıdır. Cyfra 21-1, KHDAK'de, özellikle de skuamöz hücre tümörleri için en hassas tümör belirteçidir (Stieber ve ark., 2006). Şu ana kadar yirmi farklı sitokeratin polipeptidi tanımlanmıştır. Cyfra 21-1, çözünebilir bir sitokeratin 19 fragmanıdır, molekül ağırlığı 40 kDa olan bir asit tipi sitokeratindir. CYFRA 21-1 sadece sitokeratin 19 fragmanlarını belirlediğinden, test, sitokeratin 8, 18 ve 19'un bir karışımını belirleyen doku polipeptit antijeninden daha

yüksek bir özgüllük sergiler. Varsayımlar, Cyfra 21-1'in hücre ölümü sırasında kan dolaşımına salındığı ve bu nedenle seviyesinin tümör kütlesiyle veya daha spesifik olarak tümördeki nekrozla, yani tümör kitlesinin bir fonksiyonu ile korele olduğu yönündedir (Jose ve ark., 2013). Ürolojik, gastrointestinal, jinekolojik kanserlerde ve çeşitli benign durumlarda da yükselebilir ve bu tanı ve taramada kullanılmasının önüne geçer (Stieber ve ark., 2006). Birçok çalışmada KHDAK'de, Cyfra 21-1'in hem erken evre hastalıkta hem de ileri evre hastalıkta bağımsız bir prognostik faktördür (Pujol ve ark., 2004). CYFRA 21-1, ilerlemiş hastalıkta KHDAK tedavisinin izlenmesinde ve primer tedaviden sonra, özellikle skuamöz hücreli akciğer kanserinde tekrarlayan hastalığın saptanmasında önemli bir potansiyele sahiptir (Stieber ve ark., 2006). Belirgin benign karaciğer hastalıkları ve renal yetmezlikte Cyfra 21-1- konsantrasyon artışı görülebilir.

2.8. Nöron Spesifik Enolaz (NSE)

Enolaz tüm hücre sitoplazmalarında bulunabilen glikolitik bir enzimdir. Enolaz (2-fosfo-D-gliserat hidrolaz, EC 4.2.1.11, molekül ağırlığı yaklaşık 80 kD) glikolitik yoldaki 2-fosfo-D-gliserat'ın Fosfoenolpirüvat'a dehidratasyonunu katalizleyen, çift yönlü bir metalloenzimdir (Isgro ve ark., 2015). Glikozun, oksidasyon için uygun metabolitlere dönüşümü için gereklidir. Enolazın katalitik etkinliği için doğal kofaktör Magnezyumdur. İnsan NSE, bölgeye bağlı olarak toplam çözünebilir beyin proteininin % 0.4 ila % 2.2'sini oluşturan ana beyin proteindir (Isgro ve ark., 2015). Enolaz; α , β ve γ şeklinde adlandırılan immünolojik olarak farklı üç alt birimden oluşan çeşitli dimerik izoformlardan oluşur. α -enolaz her hücrede bulunabilirken, β -enolaz kaslarda daha çok bulunur. NSE, γ -enolazdır ve öncelikle nöronlar ve nöroendokrin hücrelerde bulunur ve 39kDa'dur.

NSE taramada kullanım için gerekli duyarlılığa veya özgüllüğe sahip değildir, ancak çok sayıda çalışma küçük hücreli akciğer kanseri tanısında yardımcı olarak kullanımını desteklemektedir. Malignite şüphesi olan hastalarda yüksek serum NSE seviyeleri ($> 100 \mu\text{g} / \text{L}$), ayırıcı tanıda öncelikle KHAK varlığını göstermektedir (Stieber ve ark., 2006). NSE'nin ılımlı yüksekliği, benign akciğer hastalıklarına ek

olarak bazı pankreas, mide, kolorektal ve meme kanserlerinde de olabilir (Isgro ve ark., 2015). Kromogranin A gibi, genel bir nöroendokrin markeri olan NSE, nöroendokrin tümörlerin farklı alt tiplerini ayırt edemez. NSE, KHAK için ilk tercih edilen tümör belirteci olmasına rağmen, KHDAK 'li hastaların% 11,7-28 'inde artmış serum NSE'si bildirilmiştir (Giovanella ve ark., 1997, Zamay ve ark., 2017). NSE özellikle, KHAK'da tedavinin ve hastalığın gidişatının takip edilmesi sırasında faydalı bir prognostik faktör ve aktivite belirtecidir (Ebert ve ark., 1997).

2.9. Laktat Dehidrogenaz (LDH)

Laktat dehidrogenaz (LDH), anaerobik koşullarda Pirüvat'tan laktat oluşumunu reversible olarak katalizleyen, koenzim olarak NAD kullanan, beş izoenzimi olan, tüm hücrelerde bulunan sitozolik bir enzimdir. LDH, karaciğer, böbrek, miyokard, iskelet kası ve kırmızı kan hücrelerinde daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Jurisic ve ark., 2015). Otto Warburg ve arkadaşları, tümörlerin, çevre dokularda görülenlere kıyasla çok büyük miktarda glikoz tükettiklerini gözlemlemişlerdir ve glikozun, oksijen varlığında bile laktat üretmek üzere glikolize yönelir (Liberti ve Locasale, 2016). Tümörlerde artmış glikolizin hücre büyümesini desteklemek için gerekli olduğu öne sürülmüştür.

Serum LDH seviyelerinin, çeşitli neoplazmaların derecesini yansıttığını ve birçok hastalıkta spesifik olmayan bir hücre ölüm göstergesi olduğunu düşündüren çok fazla çalışma vardır (Lee ve ark., 2016). KHAK'de, LDH yüksekliğinin diğer risk faktörlerinden bağımsız bir prognostik faktör olduğu, sağkalım ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Zhang ve ark., 2016). Serum LDH seviyelerinin, KHDAK'de tüm vücut metastatik yayılımı ile anlamlı bir şekilde ilişkili olduğu belirtilmiştir (Lee ve ark., 2016).

2.10. Kanser Antijen-125 (CA-125)

CA-125 (kanser antijeni 125, karsinom antijeni 125 veya karbonhidrat antijeni 125), ayrıca müsin 16 veya MUC16 olarak da bilinir, insanlarda MUC16 geni tarafından

kodlanan bir glikoproteindir. MUC16, MUC1 ve MUC4'ün iki katından daha fazladır ve yaklaşık 22.000 amino asit içerir ve bu da MUC16'yı membranla ilişkili en büyük müsin yapar (Bafna ve ark., 2010). Tüm müsinler, serin, treonin ve prolin bakımından yüksek tekrarlayan amino asit sekanslarına sahiptir. MUC16, oküler yüzeyin (kornea ve konjunktiva dahil), solunum yolunun ve dişi üreme sistemi epitelinin (over dokusu içinde, endometrium, endoserviks ve fallop tüpü epitelinde) yapısında bulunur. MUC16 yüksek oranda glikozile edildiğinden, epitelyal hücrelerin apikal zarı üzerindeki yabancı partiküllere ve bulaşıcı ajanlara karşı kayganlaştırıcı bir bariyer görevi gören hidrofilik bir ortam oluşturur. MUC16 ekspresyonunun göz kuruluğu, kistik fibroz ve çeşitli kanser türlerinde değiştiği gösterilmiştir. MUC16'nın, tümör hücrelerinin metastazını sağlayan hücre-hücre etkileşimlerine de katıldığı düşünülmektedir. MUC16'nın tümörlerin büyümesine yardımcı olmasının bir diğer yolu, natural killer hücrelerin tümör dokusunda cevabını baskılamak ve böylece kanser hücrelerini korumaktır (Patankar ve ark., 2005).

Over kanserinde tedavi takibinde kullanılır (Cedres ve ark., 2011). Erken evre over kanseri vakalarının %50'sinde , ileri evre over kanseri vakalarının ise %90'ında CA-125 seviyesi normal değerlerin üzerinde saptanmaktadır (>35 U/ml) (Jacobs ve Bast, 1989). CA-125 serum seviyesi menstrüel siklusla birlikte değişir ve gebelikte artar.

CA-125'in akciğer kanserindeki rolü iyi bilinmemektedir ancak akciğer kanserinde kötü prognoz için bir belirteç olarak CA 125'in rolünü ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır. CA-125, ileri evre KHDAK hastalarında, prognozda önemli bulunmuştur ve artmış CA-125 seviyeleri kötü prognozu göstermektedir (Cedres ve ark., 2011). CEA ve CA125 seviyelerinin beraber değerlendirilmesi, akciğer kanseri için tek başına CEA ya da CA-125 değerlendirilmesinden daha yüksek tanısal ve prognostik öneme ve güvenilirliğe sahiptir (Wu ve ark., 2018).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Popülasyonu

Çalışmaya 07.11.2018 - 01.05.2019 tarihleri arasında Selçuk Üniversitesi Selçuk Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran, biyopsi sonucunda KHDAK tanısı almış 56 KHDAK hastası ve hasta grubuyla benzer yaş, cinsiyet, vücut kitle indexi (VKİ) ve sigara kullanımı dağılımı gösteren 32 sağlıklı birey dâhil edildi. DM, koroner kalp hastalığı, KOAH, karaciğer hastalığı gibi sistemik hastalığı olan, aktif enfeksiyon geçiren, malignite geçmişi olan, ilaç kullanan ve herhangi bir anti-tümör terapi almış olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Çalışmanın protokolü Selçuk Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna sunulurken, Ek-1'de gösterildiği üzere, 07.11.2018 tarihli toplantı 2018/21 sayılı karar ile araştırma onayı alınmıştır. Çalışmaya dâhil edilen hasta ve kontrol grubundaki bireylere, çalışmayla ilgili bilgi verilip onam formları imzalatıldıktan sonra, anket formları doldurulmuştur. Hastalardan rutin parametreler çalışıldıktan sonra artan serum örnekleri eppendorf tüplere konulup -80 °C'de çalışma anına kadar muhafaza edilmiştir. Çalışmamızda hastalardan, ilgili klinisyenin istediği rutin testler için alınan kan örneklerinden başka ekstra kan örneği alınmamıştır. Hasta ve kontrol grubundaki hastaların meslek, yaşadığı yer, eğitim durumu, cinsiyet, yaş, gibi demografik özelliklerin yanı sıra, sigara-alkol kullanımı öyküsü, vücut ağırlığı, boy, özgeçmiş ve soygeçmişi, aktif şikâyeti, ilaç kullanımı ve ek hastalıkları sorgulanarak veri toplama formlarına kaydedildi.

İlk etapta çalışmaya 151 KHDAK hastası alınmıştır. Ancak, 2 hastanın geçmiş malignite öyküsü, 22 hastanın hastalık evresinin belirlenememesi, 14 hasta eksik veri, 31 hasta kronik hastalık varlığı ve aktif ilaç kullanımı, 26 hasta aktif enfeksiyöz hastalık durumu nedeniyle çalışma dışı bırakılmıştır ve geriye 56 hasta kalmıştır. Hastalardan venöz kan örnekleri, en az 8 saat açlık sonrası, sabah 08:00-10:00 saatleri arasında, BD Vacutainer® SST™ II Advance tüplerine (lot:9092638, Plymouth, İngiltere) yaklaşık 4-5 ml kan alınmıştır ve tüpler yavaşça birkaç kez alt üst edilmiştir. Tüpler, laboratuvara

taşınmıştır ve santrifüjlemeden önce kanın pıhtılaşmasını sağlamak için 20 dakika oda sıcaklığında dik konumda bırakıldı ve sonrasında Sigma 3K30 santrifüj cihazında (Sigma, St. Louis, MO, ABD) 2000 x g'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra serum örnekler eppendorf tüplere konulup -80 °C'de çalışma anına kadar muhafaza edilmiştir.

3.2. Kullanılan Cihaz, Kimyasal Ve Kitler

3.2.1. Cihazlar

- Tandem Kütle Spektrometresi (AB SCIEX API 3200, Singapur)
- Santrifüj cihazı (Beckman Coulter Allegra x-2212, ABD)
- Ultrasonik Banyo
- Ayarlanabilir otomatik pipetler (Brand, Almanya)
- Hassas terazi (Radwag AS 220/C/2, Türkiye)
- Vortex (Vortex Dragonlab MX-S, Almanya)
- Santrifüj cihazı (Sigma 3K30, Sigma, St. Louis, MO, ABD)
- Otomatik elisa okuyucusu (Clariostar, BMG Labtech ,İngiltere)
- Otomatik elisa yıkayıcısı (Rayto RT-2600c, Çin)
- Roche Cobas e 601 Otoanalizör (Roche, Mannheim, Almanya)
- Beckman Au5800 otoanalizörü (Beckman Coulter, Brea, CA, A.B.D)
- Abbott ARCHITECT i 2000 (Abbott Park, Illinois, A.B.D)

3.2.2. Kimyasallar ve Malzemeler

- Phenomenex Luna C18 50 x 2.1 mm (5 µm) kolon (HPLC Brand Katalog No: 00A-4040-B0, ABD).
- ADMA Standart (Calbiochem, Lot: 311204, ABD)
- ADMA İnternal Standart (d7-ADMA)
- HCl (Merck, K 25039614-814, Darmstadt ,Almanya)
- Metanol (Sigma: 34885-2,5L-R ,ABD)

- Asetonitril (gas chromatography SupraSolv® Merck Katalog No:1000172500, Almanya)
- Formik Asit (98-100% Suprapur® Merck Katalog No: 1116701000, Almanya)
- Bütanol (Sigma Katalog No: W217808-1KG-K, ABD)

3.2.3. Kitler

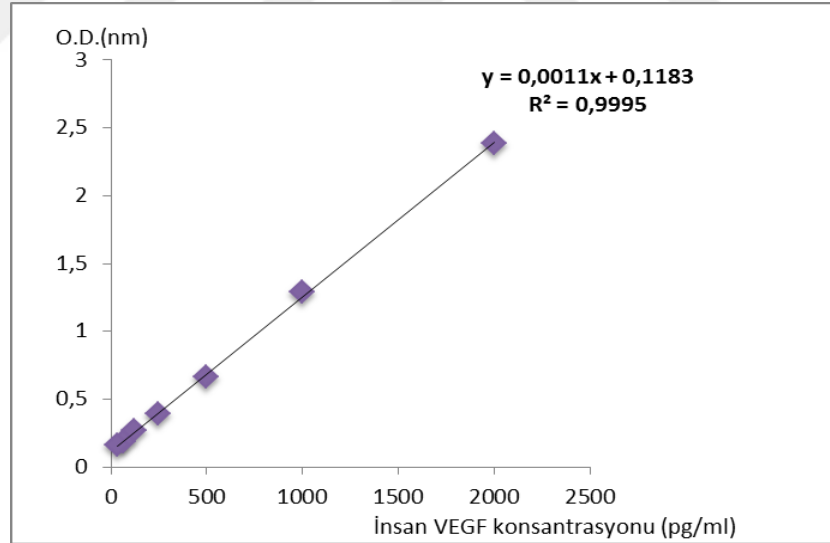
- Quantikine® Human VEGF Elisa(Katalog no:DVE00, R&D systems, ABD)
- R&D systems Total NO/Nitrit/Nitrat İmmünassay (Katalog No:KGE001, ABD)
- Elecsys immünassay NSE kiti(Lot:32204805,Roche, Almanya)
- Elecsys immünassay CEA kiti(Lot:37728801,Roche, Almanya)
- Elecsys immünassay CA-125 kiti(Lot:34951402,Roche, Almanya)
- LDH kiti (Lot:2553, Beckman Coulter, ABD)
- Architect immünassay Cyfra-21-1 kiti(Katalog No: K3229T, ABD)

3.3. Biyokimyasal Analizler

3.3.1. VEGF Analizi

Quantikine® Human VEGF Immunoassay, hücre kültürü süpernatantlardaki, serum ve plazmadaki insan VEGF165 seviyelerini ölçmek için tasarlanmış 4,5 saatlik bir katı faz ELISA'sıdır. Kantitatif sandviç enzim immünassay yöntemi kullanılmıştır. İnsan VEGF' sine özgü bir monoklonal antikor, bir mikrotelate üzerine önceden kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler kuyucuklara pipetlendi ve mevcut VEGF, immobilize antikor tarafından bağlandı. Bağlanmayan maddeleri yıkadıktan sonra, kuyucuklara insan VEGF'sine özgü poliklonal antikor eklendi. Bağlanmayan herhangi bir antikor-enzim reaktifinin uzaklaştırılması için yapılan bir yıkamayı takiben, kuyucuklara substrat çözeltisi eklenir ve ilk aşamada bağlanan VEGF miktarıyla orantılı olarak renk gelişti. Renk gelişimi durdurulur ve rengin yoğunluğu 450nm'de ölçüldü.

Kullanmadan önce tüm reaktifleri ve numuneleri oda sıcaklığına getirildi. Her kuyucuğa 100µL dilüent RD1W eklendi. Sonrasında, kuyucuk başına 100µL standart, kontrol veya numune eklendi. Plate'in üzeri kapatılıp 2 saat oda ısısında inkübe edilir. İnkübasyon sonrası otomatik Elisa yıkayıcısı ile plate içindeki numuneler aspire edildikten sonra, yıkama solüsyonu ile üç kez yıkandı. Ardından, her bir oyuğa 200 µL insan VEGF Konjugatı eklenir ve üzeri kapatılıp 2 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyon sonrası yeniden üç kez yıkama yapıldı. Yıkama sonrası her bir kuyucuğa 200 µL Substrat Solusyonu eklenir ve ışıktan korunarak oda sıcaklığında 25 dakika inkübe edildi. Her bir oyuğa 50 µL stop solüsyonu eklenir ve 30 dakika içinde 450 nm'de mikropate okuyucuda okutuldu. 540 nm veya 570 nm'de de okutulup, okumaları 450 nm'deki okumalardan çıkarılır. Standartlara göre çizilmiş kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak numunelerdeki VEGF konsantrasyonları hesaplandı. Şekil.3.1'de VEGF kalibrasyon grafişi gösterilmiştir.



Şekil.3.1. VEGF için oluşturulan kalibrasyon grafiği

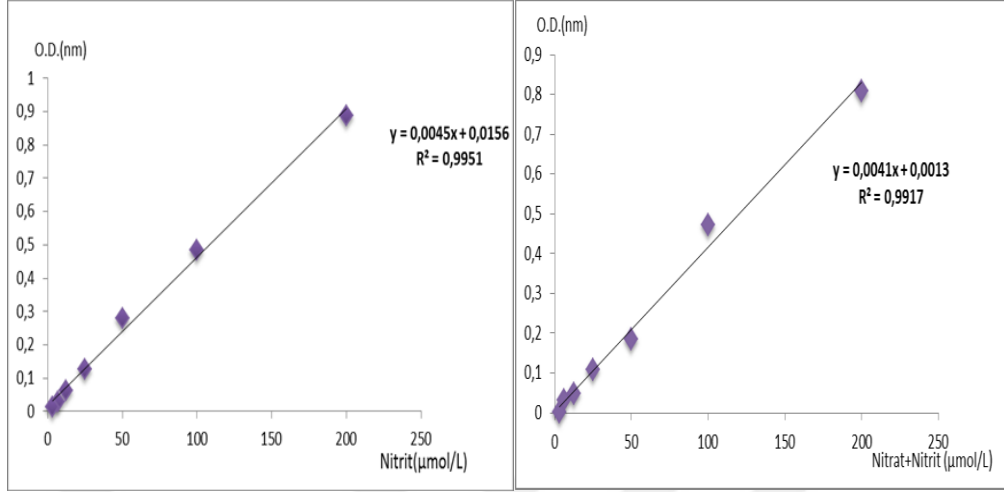
3.3.2. Nitrik Oksit Analizi

R&D Systems®'in Total Nitrik Oksit kiti iki test seçeneğine sahiptir. İlk seçenekte endojen nitrit ölçülür. İkinci seçenekte nitrat, nitrat redüktaz kullanılarak nitrite dönüştürülür ve toplam nitrit ölçülür. Nitrat konsantrasyonunu elde etmek için,

endojen nitrit, toplam nitrit değerinden çıkarılır. Bu prosedürde, nitratin nitrit'e nitrat redüktaz tarafından enzimatik dönüşümü esas alınarak nitrik oksit konsantrasyonları belirlenir. NO yarı ömrü çok kısa olan bir yapı olduğu için, daha kararlı NO metabolitlerinin seviyeleri, nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-), biyolojik sıvılarda NO'nun dolaylı ölçümünde kullanılır.

Nitrit ölçümü için, reaktifler ve numuneler oda sıcaklığına getirildi. Önce tüm hasta numuneleri dışarda $\frac{1}{2}$ dilüsyon yapıldı. Sonra ELİSA kuyucuklarına 50 μL numune ya da standart eklendi. Üzerlerine 50 μL reaksiyon dilüent eklendikten sonra tüm kuyucuklara 50 μL Griess Reagent-I ve sonrasında 50 μL Griess Reagent-II eklendi. Plate hafifçe karıştırıldı. Oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilir. 540 nm'de ELİSA okuyucu kullanarak kalibrasyon grafiği çizdirilip, numunedeki Nitrit konsantrasyonu tespit edildi.

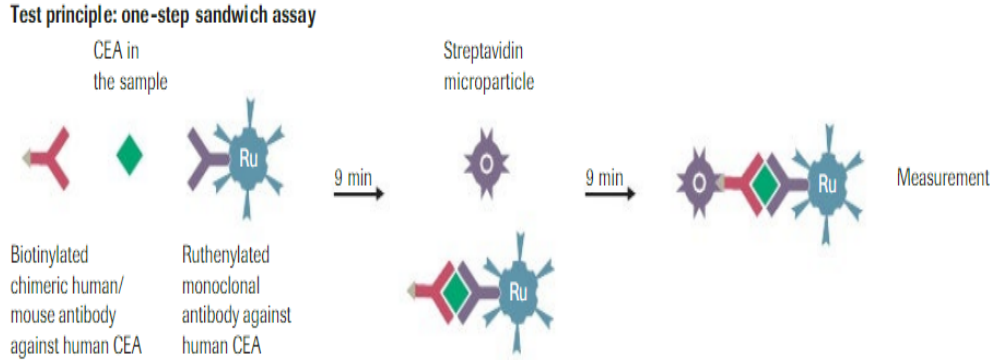
Nitrat ölçümünde, 50 μL numune ya da standart elisa kuyucuklarına eklendi. 5. Tüm kuyucuklara 25 μL NADH eklendi. Sonrasında tüm kuyucuklara 25 μL seyreltilmiş Nitrat Redüktaz eklenerek 37 ° C'de 30 dakika inkübe edildi. Tüm kuyucuklara 50 μL Griess Reagent I ve 50 μL Griess Reagent-II eklendi. Oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildikten sonra 540 nm'de elisa okuyucu kullanarak her kuyucuğun optik dansitesi belirlendi. Bu prosedürde, nitrati nitrite dönüştürerek toplam nitriti ölçüldü. Numunedeki nitrat konsantrasyonunu belirlemek için, Nitrit Test Prosedüründen ölçülen endojen nitrit konsantrasyonunun, bu prosedürde ölçülen dönüştürülmüş toplam nitrit konsantrasyonundan çıkarılması gerekmektedir. Sonuçlar dilüsyon faktörü ile çarpıldı. Şekil.3.2'de nitrit/nitrat ölçümünün kalibrasyon grafisi gösterilmiştir.



Şekil.3.2. Nitrit ve Nitrit+Nitrat için Oluşturulan Kalibrasyon Grafiği

3.3.3. CEA, CYFRA21-1,NSE, CA-125 Analizi

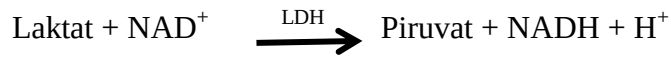
CEA, NSE, CA-125 ve CA-15-3 konsantrasyonları Roche Cobas e601, Cyfra 21-1 konsantrasyonu ise Abbott Architect i2000 otoanalizörü ile analiz edilmiştir. Ölçülecek belirtece göre belirli bir miktar numune, ölçülecek olan tümör belirteciye spesifik biyotinli monoklonal antikor ve rutenyum kompleksi ile işaretlenmiş, spesifik monoklonal antikor bir sandviç kompleksi oluşturur. Numune içindeki analitin konsantrasyonuna ve ilgili immün kompleksin oluşumuna bağlı olarak, işaretli antikor bağlayıcı yer kısmen numune analiti kısmen de rutenyumlu haptene ile doldurulur. İnkübasyon sonrası, Streptavidin-kaplı mikropartiküller eklenir ve sonra biyotin ile streptavidinin etkileşimi aracılığıyla kompleks katı faza bağlanmış hale gelmektedir. Reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrotun yüzeyine manyetik olarak yakalandıkları ölçüm hücresi içine aspire edilir. Daha sonra bağlanmamış maddeler yıkanarak uzaklaştırılır. Elektrot üzerine voltaj uygulanması kemilüminesans emisyonuna neden olup, bu bir foton sayıcı ile ölçülür. Sonuçlar, 2-noktalı kalibrasyon ile cihaza özel olarak oluşturulmuş bir kalibrasyon eğrisi ve reaktif barkodu aracılığıyla edinilen bir master eğri ile tayin edilir. Şekil.3.3’de CEA’nın ECLIA yöntemiyle, ölçüm prensibi şematize olarak gösterilmiştir.



Şekil.3.3. CEA ölçüm prensibinin şematik gösterimi

3.3.4. LDH analizi

LDH, NAD^+ 'nin NADH 'ye indirgenmesi ile eş zamanlı olarak laktatın piruvata oksidasyonunu katalize eder ve oluşan NADH artışı 340 nm'de ölçülmüştür ve numunedeki enzim aktivitesi ile doğru orantılıdır. LDH ölçümü, "Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu(IFCC)"nın önerisi olan bu yöntemle Beckman au5800 otoanalizöründe spektrofotometrik yöntemle yapılmıştır.



3.3.5. ADMA ANALİZİ

Hasta ve kontrol grubumuzun numuneleri -80°C 'den çıkarılıp oda ısısında çözünmesi sağlandıktan sonra, homojeniteyi sağlamak için vortexlendi. Serum numunelerinde ADMA konsantrasyonları, Applied Biosystems MDS SCIEX (ABD) API 3200 kütle spektrometrisi ile elektrosprey iyonizasyonu (ESI) pozitif modda modifiye edilmiş bir yöntemle Phenomenex Luna C18 kolonu ile birleştirilmiş Shimadzu LC-20AD sistemi ile analiz edilmiştir. ADMA (Asimetrik Dimetil Arjinin)'nin molekül ağırlığı: $202.26 \text{ g.mol}^{-1}$ 'dir. ADMA konsantrasyonlarının ölçümünde, Di Gangi ve ark.'nın yaptıkları çalışmadaki metot referans alınıp, modifiye edilmiştir (Di Gangi ve ark., 2010).

3.3.5.1. ADMA STANDART HAZIRLANMASI

ADMA stok standart solüsyonundan (0.5mM) hazırlanan 50 µM standart solüsyondan, 0,1M HCl ile dilüsyonlarla sırasıyla 1,5 µM, 0,75 µM, 0,375 µM, 0,185 µM, 0,0937 µM, olmak üzere ADMA standart çözeltileri hazırlanmıştır. Cihazdan alınan pik alanlarıyla ADMA standart grafiği oluşturulmuştur ve kalibrasyon grafiği çizilmiştir.

3.3.5.2. MOBİL FAZ HAZIRLANMASI

Mobil faz A ve mobil faz B olmak üzere iki mobil faz kullanılır. Mobil faz A ve B, sırasıyla % 0.1 (v v⁻¹) formik asit içeren ve % 0.1 (v v⁻¹) metanol içeren HPLC grade sudan oluşur. Hazırlanan mobil fazlar, 0,45 µm filtreler kullanılarak filtre edilir.

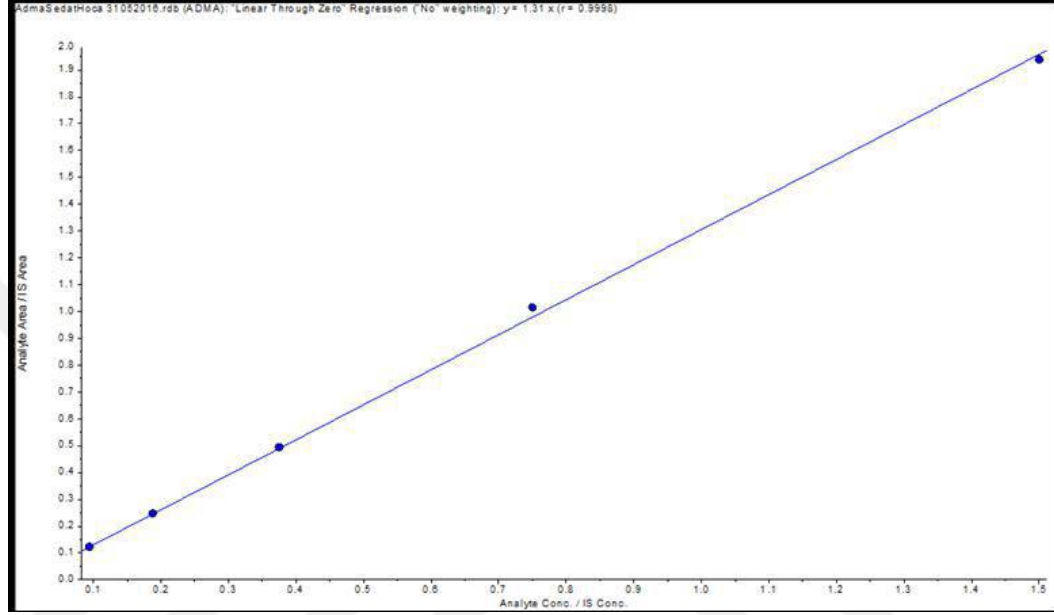
3.3.5.3. TÜREVLEŞTİRİCİ VE ÇÖZÜCÜ REAKTİF HAZIRLANMASI

%5 (v v⁻¹) asetilklorid-bütanol olacak şekilde 1 ml asetilklorid, 19 ml n-bütanol ile karıştırılır ve türevleştirici reaktif hazırlanır. 9 ml HPLC grade distile su alınarak bir cam behere konulup, üzerine 1 ml metanol eklenir. Bu karışımdan 10 µl solüsyon çıkarılıp, yerine 10 µl formik asit eklenerek çözdürücü reaktif hazırlanır.

3.3.5.4. ÇALIŞMA PROSEDÜRÜ

200µL numune cam tüplere pipetlendikten sonra, üzerlerine 100µL internal standart (d7-ADMA) eklenip 3-5 saniye ağzı kapatılan ependorfler vortekslenmiştir. Sonrasında numunelere %100 1 mL metanol eklenip 5 saniye vortekslenir ve protein çökmesi sağlanır. Numuneler 13000rpm'de 10 dakika santrifüj edilir ve sonrasında süpernatant kısmı cam tüplere aktarılıp azot gazı altında 60°C'de su banyosunda çözücü uçurulur. Uçurma işlemi tamamlandıktan sonra, türevleştirme işlemi için taze hazırlanmış 200 µL %5 (v v⁻¹) lik asetil klorid/bütanol solüsyonu eklenip 60°C'de 20 dakika sıcakta inkübe edilir. Sonrasında azot gazı altında 60°C'de uçurma işlemi tekrarlanır. Uçurma işlemi bittikten sonra 200µL, %0.1 (v v⁻¹) formik asit içeren 100 µL su-metanol (90:10, v v⁻¹) ile çözdürme işlemi gerçekleştirilmiştir. Çözünen numuneler viallere aktarılır ve cihaza yüklenir.

1,5 μM , 0,75 μM , 0,375 μM , 0,185 μM ve 0,0937 μM 'lik konsantrasyonlardaki ADMA standartları LC-MS/MS cihazında ölçölüp, Şekil.3.4'de gösterildiği gibi ADMA standartlarına ait kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur.



Şekil.3.4.ADMA kalibrasyon grafiği

Çalışmada kullanılan LC-MS/MS cihazında ayarlanan ADMA metot özellikleri aşağıda verilmiştir.

Kromatografi için;

Pompa Modu: Binary Flow

Total Akış: 0,8 mL/dk

Enjeksiyon volume: 40.00 μL

Analiz süresi: 5 dk

Kütle spektrometresi için;

Ion Source Gas1 (GS1): 40.00

Ion Source Gas2 (GS2): 60.00

Ionisation Mode: Pozitif

Entrance Potential (EP) :7.5

Collision Cell Exit Potential (CXP): 4

Ion spray Voltage (IS): 5500 V

Declustering Potential (DP): 40.00

Collision Gas (CAD): 5.00

Collision Energy (CE): 24.00

Temperature (TEM): 550°C

Q1 Mass: 259.300

Q3 Mass :214.000

3.4.İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler R programı yardımıyla gerçekleştirildi. İstatistiksel analizler öncesinde normallik varsayımı Shapiro Wilk normallik testi ve varyansların homojenliği ise Levene testi ile kontrol edildi.

Normal dağılıma uygunluk gösteren ve gruplar arası varyansın homojen olması durumlarında veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde sunuldu, student t testi ve tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile gruplar arası farklılıklar incelendi. ANOVA testi sonucunda anlamlı farklılık olması durumunda, farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testinden yararlanıldı. Kategorik veriler sayı (n) ve yüzde (%) olarak sunuldu, analizleri ki-kare ve Fisher Exact testi ile test edildi.

Normal dağılıma uygunluk göstermeyen durumlarda veriler medyan (minimum – maksimum) şeklinde sunuldu, Mann Whitney-U testi ve Kruskal Wallis testi ile gruplar arası farklılıklar incelenirken, parametreler arası ilişkiler için Spearman'ın Rho korelasyon katsayısı kullanıldı. Kruskal Wallis testi sonucunda anlamlı farklılık olması durumunda, farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için Conover-Iman testi Bonferroni düzeltmesi yapılarak kullanıldı. Bonferroni düzeltmesi sonucunda istatistiksel anlamlılık için $p < 0,016$ kabul edildi. CEA ve CA-125 için uç değerler atılmıştır ve sonuçları 52 hasta 32 kontrol üzerinden değerlendirilmiştir.

Parametrelerin tanısal değerini değerlendirmek için ROC analizi yapıldı ve her marker ve kombinasyonları için eğri altındaki alanlar (EAA) kullanılmıştır. 0,9'dan büyük EAA'lar çok iyi tanısal etkinliği, 0,7 ila 0,9 arasındaki EAA iyi tanısal etkinliği, 0,5 ila 0,7 arasında bir EAA, zayıf teşhis etkinliğini göstermiştir. Korelasyon analizinde ise, korelasyon katsayısı (r) için, $0,8 < r \leq 1$ için çok güçlü ilişki, $0,6 < r \leq 0,8$ için güçlü ilişki, $0,4 < r \leq 0,6$ orta dereceli ilişki ve $0,2 < r \leq 0,4$ zayıf ilişki olarak kabul edilmiştir. Testlerde genel anlamlılık için $p < 0,05$ alındı.

4. BULGULAR

4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarına Ait Bulgular

Çalışmamıza hiçbir ek hastalığı bulunmayan, ilaç kullanmayan ve hasta grubu ile benzer demografik özelliklere sahip 32 sağlıklı kontrol ile, çoğunluğu ileri evre hastalardan oluşan, kronik hastalığı bulunmayan ve hiç anti-tümör tedavi almamış 56 KHDAK vakası dahil edilmiştir. Hasta grubumuzun 18'i (%32,1) adenokarsinom türü iken, 38'i (%67,9) yassı hücreli karsinom histolojik alt tiplerine sahipti. KHDAK vakalarında 50 hasta (%89,2) erkek ve 6 hasta (%10,8) kadinken, sağlıklı kontrol grubumuzda 26 hasta (%81,2) erkek ve 6 (%18,8) hasta kadındı. Sağlıklı kontrol grubunun VKİ ortalaması (26.39 ± 3.55), hasta grubundan yüksek bulunmuştur (24.39 ± 3.91) ($p=0,019$). Hasta ve kontrol grubunun başlıca klinik ve demografik özellikleri Çizelge-4.1' de gösterilmiştir.

Çizelge-4.1. Grupların klinik ve demografik özellikleri

	Sağlıklı (n=32)	Hasta (n=56)	p-değeri
Yaş (yıl)	58,91 $\pm$ 7,33	62,34 $\pm$ 8,05	0,052
VKİ (kg/m²)	26,39 $\pm$ 3,55	24,39 $\pm$ 3,91	0,019
Sigara Kullanımı (var)	26 (%81,2)	50 (%89,2)	0,8
Sigara (paket/yıl)	30(0-90)	40(0-90)	0,22
Cinsiyet			0,291
Erkek	26 (%81,25)	50 (%89,29)	
Kadın	6 (%18,75)	6 (%10,71)	

KHDAK hastaları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, grupların ADMA ve Arginin/ADMA oranı değerleri parametrik dağılıma uygun olduğu için karşılaştırmalar ortalama ve standart sapma değerleri ile ifade edilirken; VEGF, NO, Arginin, CA125, CEA, LDH, CYFRA21-1 ve NSE değerleri parametrik olmayan dağılıma uygun oldukları için median ve minimum-maksimum değerleri ile ifade edildi. Kontrol grubu ile KHDAK hasta grubu değerlendirildiğinde, hastalarda serum VEGF, NO, ADMA, CA-125, CEA, Cyfra21-1 ve NSE düzeyleri yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0,001$,

p=0,013, p=0,041 , p<0,001, p<0,001, p<0,001 ve p=0,001). Çizelge-4.2’de hasta ve kontrol grubu ile biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki gösterilmiştir. Şekil.4.1’de VEGF, Cyfra21-1, CEA ve CA-125 düzeylerinin sağlıklı ve hasta grubunda box-plot grafisi olarak gösterilmiştir.

Çizelge-4.2. Hasta ve Kontrol Gruplarında serum VEGF, NO, ADMA, Arginin, CA125, CEA, NSE, LDH ve CYFRA21-1 düzeylerine ait bulgular

Parametreler	Sağlıklı (n=32)	Hasta (n=56)	<i>p-değeri</i>
VEGF (ng/mL)	397,97 (150,59 – 779,81)	594.94 (169,48 – 1812,36)	0,001^b
NO (µmol/L)	19,51 (4,80 – 39,10)	24 (10,06 – 78,56)	0,013^b
ADMA(µmol/L)	0,70 ± 0,14	0,77 ± 0,16	0,041^a
Arginin(µmol/L)	268 (186 – 453)	306 (192 – 605)	0,092 ^b
Arginin/ADMA	419,51 ± 107,85	423,56 ± 106,03	0,892 ^a
CA125 (IU/mL)*	13,44 (5,52 – 48,32)	26,84 (9,01 – 126,4)	<0,001^b
CEA (ng/mL)*	2,52 (0,69 – 6,61)	4,62 (1 – 64,33)	<0,001^b
LDH (IU/L)	177 (132 – 346)	194,5 (93 – 280)	0,104 ^b
CYFRA 21-1 (ng/mL)	1,28 (0,72 – 3,86)	6,48 (1,06 – 97,60)	<0,001^b
NSE (ng/mL)	12,92 (6,39 – 21,24)	18,46 (6,58 – 41,49)	0,001^b

^aStudent t testi

^bMann Whitney U testi testi

*CEA ve CA-125 için n=52

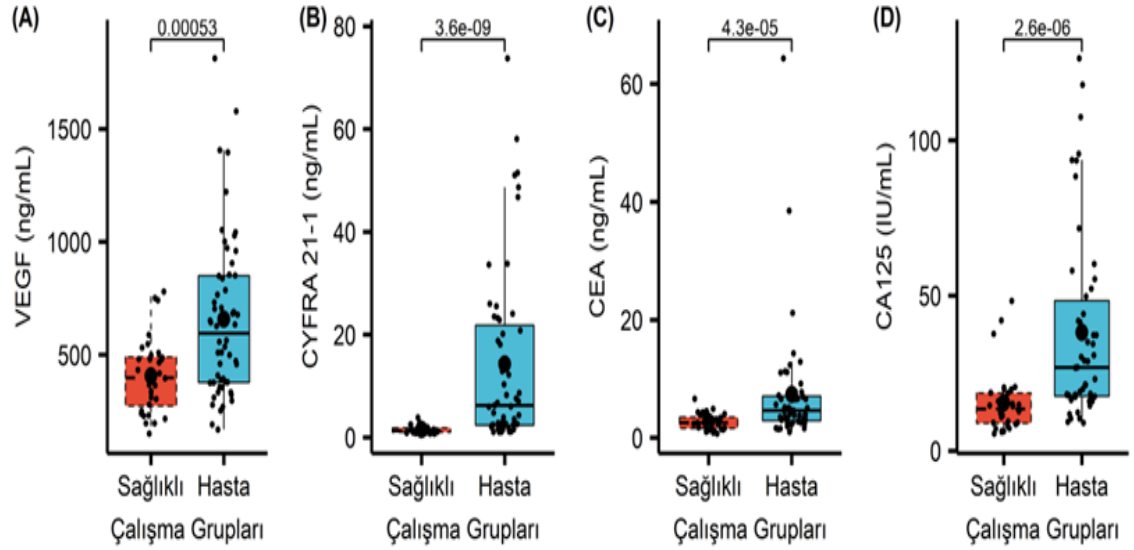
Hasta ve kontrol grubu Cyfra21-1, NSE, CEA , CA-125 ve LDH için referans değerleri baz alınarak, referans değeri üzerinde çıkan bireyler değerlendirildiğinde Çizelge-4.3’de gösterildiği gibi Cyfra21-1, NSE, CEA ve CA-125 pozitifliği kontrol ve hasta grupları arasında farklı bulunmuştur (sırasıyla p<0.001, p=0.006, p<0.001 ve p=0.011) ancak LDH pozitifliği hasta ve kontrol grubunda kıyaslandığında farklı bulunmamıştır.

Çizelge.4.3. Referans değerleri üzerinde çıkan biyokimyasal parametrelerin hasta ve kontrol grubu arasında kıyaslanması

	Çalışma Grupları			<i>p</i> -değeri
	Kontrol (n=32)	Hasta (n=56)	Toplam	
Cyfra21-1 (>2,08 ng/mL)	6 (%18,8)	44 (%78,6)	50 (%56,8)	<0,001^a
NSE (>16,3 ng/mL)	8 (%25)	31 (%55,4)	39 (%44,3)	0,006^a
CEA (>5 ng/mL)	1 (%3,1)	23 (%41,1)	24 (%27,3)	<0,001^b
CA-125 (>35 U/mL)	3 (%9,4)	19 (%33,9)	22 (%25)	0,011^b
LDH (>222 IU/L)	7 (%21,9)	13 (%23,2)	20 (%22,7)	0,885 ^a

^aKi-kare testi

^bFisher Exact testi



Şekil.4.1. VEGF, Cyfra21-1, CEA ve CA-125 düzeylerinin sağlıklı ve hasta grubunda box-plot grafisi olarak gösterimi

4.2. Histolojik Alt Tipe Göre Bulgular

Çalışmamız sonucunda, Çizelge-4.4’de gösterildiği gibi, VEGF KHDAK histolojik alt tiplerine göre analiz edildiğinde, yassı hücreli karsinomda sağlıklı bireylere göre yüksek bulunmuştur ($p<0,001$) ancak adenokarsinom alt tipinde serum VEGF düzeyleri kontrole göre daha yüksek olmasına rağmen, sağlıklı grup ile istatistiksel fark gözlenmemiştir ($p=0,051$). Bu bulgularla benzer şekilde serum NO düzeyleri sadece yassı hücreli karsinom alt tipinde kontrol grubundan yüksek bulunmuştur ($p=0,009$).

Serum ADMA, Arginin, LDH seviyeleri ve Arginin/ADMA oranı histolojik alt tipler ve kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan farklı bulunmamıştır (sırasıyla $p=0,12$, $p=0,23$, $p=0,18$ ve $p=0,63$).

CA125 seviyeleri hem adenokarsinom alt tipinde hem de yassı hücreli karsinom alt tipinde kontrol grubuna kıyasla yüksek bulunmuşken (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$), histolojik alt tipler arasında fark gözlenmemiştir ($p=0,22$). Benzer bulgularla, serum CEA düzeyleri de hem adenokarsinom hem de yassı hücreli karsinom histolojik alt tipinde kontrol grubundan yüksek gözlenir iken (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$) histolojik alt tipler arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,18$).

Cyfra21-1 düzeyleri hem yassı hücreli karsinom hem de adenokarsinom tipinde kontrol grubundan yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$). Ayrıca Cyfra21-1 seviyeleri histolojik alt tipler arasında da farklı gözlenmiştir ve yassı hücreli karsinom tipinde adenokarsinom tipinden yüksek bulunmuştur ($p=0,04$). Normal dağılım gösteren NSE düzeyleri adenokarsinom ve yassı hücreli histolojik alt tiplerinde yüksekti (sırasıyla $p=0,002$ ve $p<0,001$).

Histolojik alt tipe göre hasta ve kontrol gruplarında serum VEGF, NO, ADMA, Arginin, CA-125, CEA, NSE, LDH Ve CYFRA21-1 düzeylerine ait bulgular Çizelge.4.4’de gösterilmiştir. ADMA, Arginin/ADMA ve NSE parametreleri için ANOVA, diğer parametreler için Kruskal Wallis testi yapılmıştır.

Çizelge.4.4. Histolojik Alt Tipe göre Hasta ve Kontrol Gruplarında serum VEGF, NO,ADMA, Arginin, CA-125, CEA, NSE, LDH Ve CYFRA21-1 düzeylerine ait bulgular

	Sağlıklı (a) (n=32)	Adenokarsinom türü (b) (n=18)	Yassı Hücreli Karsinom (c) (n=38)	<i>p- değeri</i>	a/b	b/c	a/c
VEGF (ng/mL)	397,9 (150,5 – 779,8)	486,1 (279,2 – 1578)	664,6 (169,4 – 1812,3)	0,001^b	0,051	0,212	<0,001
NO (μmol/L)	19,51 (4,8 – 39,1)	23,31 (10,62 – 55,46)	24,18 (10,06 – 78,5)	0,033^b	0,172	0,412	0,009
ADMA(μmol/L)	0,70 ± 0,14	0,77 ± 0,15	0,77 ± 0,16	0,124 ^a	-	-	-
Arginin(μmol/L)	268 (186 – 453)	309 (192 – 400)	305,5 (202 – 605)	0,231 ^b	-	-	-
Arginin/ADMA	419,51 ± 107,85	403,97 ± 75,16	432,8 ± 117,6	0,632 ^a	-	-	-
CA125 (IU/mL)	13,44 (5,52 – 48,32)	30,21 (11,81 – 126,40)	26,84 (9,01 – 107,5)	<0,001^b	<0,001	0,223	<0,001
CEA (ng/mL)	2,52 (0,69 – 6,61)	6,57 (1,56 – 38,50)	3,89 (1 – 64,33)	<0,001^b	<0,001	0,181	<0,001
LDH (IU/L)	177 (132 – 346)	214 (134 – 270)	188,50 (93 – 280)	0,184 ^b	-	-	-
CYFRA 21-1 (ng/mL)	1,28 (0,72 – 3,86)	3,57 (1,06 – 73,75)	7,33 (1,18 – 97,60)	<0,001^b	<0,001	0,041	<0,001
NSE (ng/mL)	13,48 ± 3,99	20,60 ± 9,71	19,34 ± 6,84	<0,001^a	0,002	0,787	0,001

Parametrik veriler ortalama ± standart sapma , parametrik olmayan veriler ise medyan (min – max) şeklinde sunuldu.

^aTek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA)

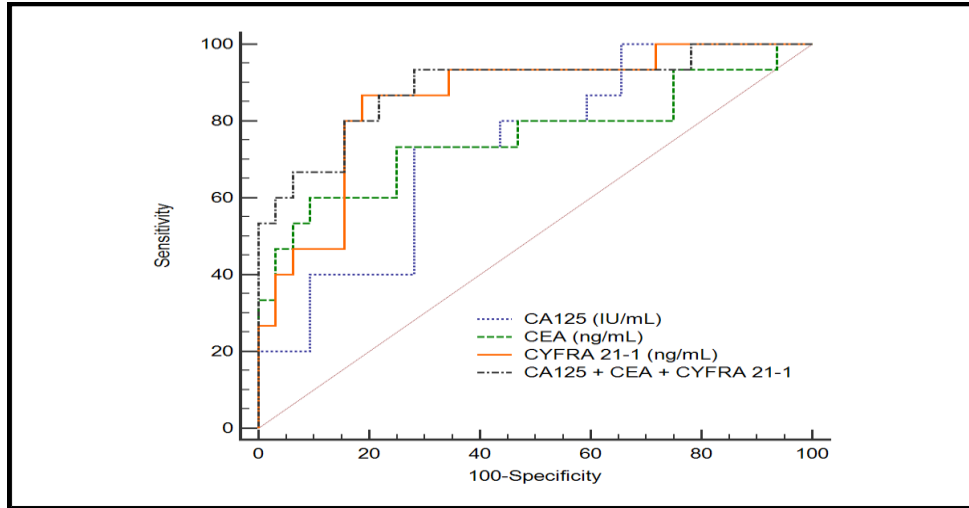
^bKruskal Wallis testi

4.3. Erken Evre ve İleri Evre Gruplarına Ait Bulgular

Çalışmamızda hastalar erken evre (Evre-1 ve Evre-2) ve ileri evre (evre-3 ve evre-4) KHDAK olarak ayrılıp kıyaslandığında, Çizelge.4.5’de de gösterildiği gibi, Evre 1 ve Evre 2 olan hasta grubunda serum CA-125, CEA ve Cyfra21-1 düzeyleri sağlıklı kontrol grubundan yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0,002$, $p=0,002$ ve $p=0,001$). Serum VEGF, NO, ADMA, Arginin, LDH, NSE ve Arginin/ADMA oranı erken evre KHDAK hastaları ve kontrol grubunda anlamlı farklı gözlenmemiştir.

İleri evre hastalar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında ise serum VEGF, NO, CA125, CEA, LDH, Cyfra21-1 ve NSE seviyeleri yüksek olarak bulunmuştur (sırasıyla $p<0,001$, $p=0,002$, $p<0,001$, $p<0,001$, $p=0,015$, $p<0,001$ ve $p<0,001$).

Erken evrede tanı koymadaki etkinliği için ROC analizi yaptığımızda, Çizelge-4.6 ve Şekil.4.2’de gösterildiği gibi CA125, CEA ve Cyfra21-1 erken tanı konmasında etkin bulunmuştur (sırasıyla $p=0,005$, $p=0,001$ ve $p<0,001$) Diğer biyokimyasal parametreler ise erken tanıda istatistiksel olarak etkin bulunmamıştır.



Şekil.4.2 Erken evre KHDAK hastalarında CEA, CA125, Cyfra21-1 ve kombinasyonlarının ROC analizi

Çizelge-4.5. Erken Evre (evre 1 ve 2), İleri Evre (evre 3 ve 4) ve kontrol gruplarında serum VEGF, NO, ADMA, Arginin, CA125, CEA, NSE, LDH Ve CYFRA21-1 düzeylerine ait bulgular

	Sağlıklı (a) (n=32)	Evre 1 ve 2 (b) (n=16)	Evre 3 ve 4 (c) (n=40)	<i>p-değeri</i>	a/b	b/c	a/c
VEGF (ng/mL)	397,9 (150,5 – 779,8)	383,5 (169,4 – 1052,5)	639,09 (253,2 – 1812,3)	<0,001 ^{b*}	0,218	0,032	<0,001
NO (μmol/L)	19,5 (4,8 – 39,1)	21,10 (10,62 – 78,56)	25,92 (10,06 – 78,56)	0,008 ^{b*}	0,585	0,057	0,002
ADMA(μmol/L)	0,70 ± 0,14	0,73 ± 0,19	0,78 ± 0,14	0,063 ^a	-	-	-
Arginin(μmol/L)	268 (186 – 453)	323,5 (220 – 451)	304 (192 – 605)	0,144 ^b	-	-	-
Arginin/ADMA	419,5 ± 107,8	472,7 ± 138,2	403,90 ± 84,34	0,087 ^a	-	-	-
CA125 (IU/mL)	13,4 (5,5 – 48,3)	18,06 (10,4 – 117,9)	29,6 (9,01 – 126,4)	<0,001 ^{b*}	0,002	0,229	<0,001
CEA (ng/mL)	2,52 (0,69 – 6,61)	4,73 (1 – 21,18)	4,36 (1,54 – 64,33)	<0,001 ^{b*}	0,002	0,847	<0,001
LDH (IU/L)	177 (132 – 346)	179,50 (138 – 280)	205 (93 – 277)	0,017 ^{b*}	0,646	0,015	0,015
CYFRA-21-1 (ng/mL)	1,2 (0,72 – 3,86)	2,4 (1,08 – 18,80)	12,2 (1,06 – 73,75)	<0,001 ^{b*}	0,001	0,002	<0,001
NSE (ng/mL)	13,48 ± 3,9	15,15 ± 3,9	21,58 ± 8,2	<0,001 ^{a*}	0,661	0,003	<0,001

Parametrik veriler ortalama ± standart sapma, parametrik dağılmayan veriler ise medyan (min – max) şeklinde sunuldu.

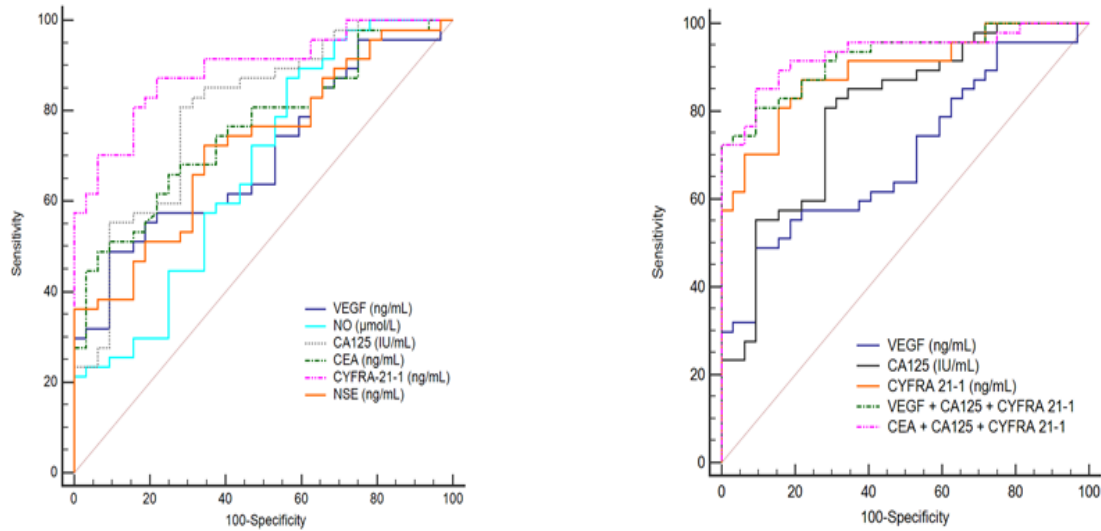
^aTek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA)

^bKruskal Wallis testi

Çizelge.4.6. CEA, CA125 ve Cyfra21-1 seviyelerinin ROC analizine göre erken evrede tanıdaki etkinliği

	ROC Analizi Sonuçları			Tanı Ölçüleri (%)			
	EAA (%95 GA)	<i>p-değeri</i>	Cut-off Değeri	Duyarlılık	Özgüllük	NPV	PPV
CA125 (IU/mL)	0,731 (0,567 – 0,895)	0,005	≥ 16,36	73	72	72	73
CEA (ng/mL)	0,758 (0,600 – 0,917)	0,001	≥ 4,50	60	91	86	69
CYFRA 21-1 (ng/mL)	0,820 (0,682 – 0,958)	<0,001	≥ 2,03	81	81	81	81
CA125 + CEA + CYFRA 21-1	0,888 (0,771 – 1,000)	<0,001	≥ 0,16	93	72	77	92

Hasta ve kontrol grubu arasındaki ayrımı sağlamak için çalışmamızdaki parametrelerin tanıdaki etkinliği değerlendirildiğinde, Çizelge-4.7’de görülebileceği gibi VEGF, NO, CA125, CEA, Cyfra21-1 ve NSE’nin tanıda etkili olduğu gözlenmiştir (sırasıyla $p<0,001$, $p=0,006$, $p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,001$ ve $p<0,001$). Bu parametrelerin arasında Cyfra21-1, 2,61 ng/mL cut-off değerinde % 71 duyarlılık, % 94 özgüllük, % 92 NPV ve % 77 PPV ile en iyi diagnostik etkinliğe sahipti. İkinci en iyi etkinliğe ise % 82 duyarlılık, % 72 özgüllük, % 74 NPV ve % 80 PPV ile 16,3 IU/mL cut-off değerinde CA125 sahipti. VEGF, CA125, CEA ve Cyfra21-1 düzeyleri kombinasyon olarak analiz edildiğinde, KHDAK tanısında en kuvvetli etkinliği gösterdiği, Şekil.4.3 ve Çizelge.4.7’de gösterilmiştir.



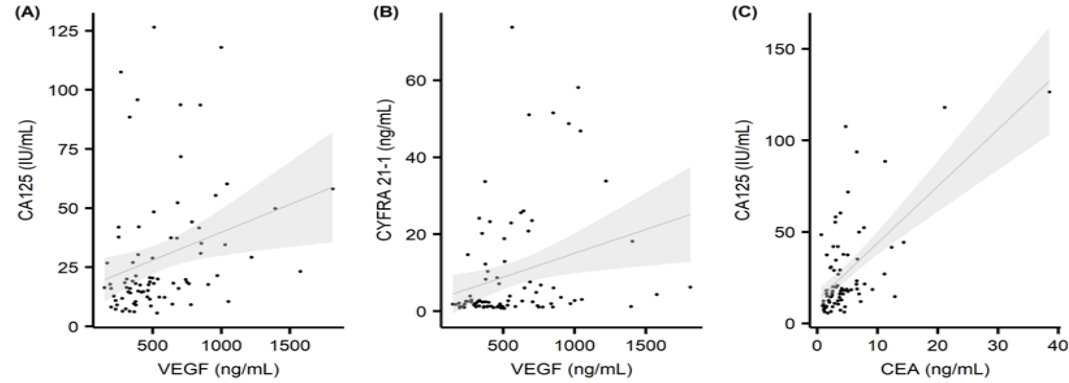
Şekil.4.3 KHDAK hastalarını kontrol grubundan ayırımını sağlamak için VEGF, NO, CEA, CA125, Cyfra21-1 ve kombinasyonlarının ROC analizi

4.4.Korelasyon Analizleri

Biyokimyasal parametreler arasında yapılan korelasyon analizinde VEGF ile CA-125, LDH ve Cyfra21-1 zayıf korelasyon gösterirken, NSE ve Cyfra21-1 düzeyleri orta dereceli korelasyon göstermiştir. Korelasyon analizi sonuçları Çizelge.4.8’de gösterilmiştir.

Çizelge.4.7. KHDAK hastalarını kontrol grubundan ayırmasını sağlamak için VEGF, NO, CEA, CA125, Cyfra21-1 ve kombinasyonlarının ROC analizine göre etkililiği

	ROC Analizi Sonuçları			Tanı Ölçütleri (%)			
	EAA (%95 GA)	p-değeri	Cut-off Değeri	Duyarlılık	Özgüllük	NPV	PPV
VEGF (ng/mL)	0,723 (0,618 – 0,829)	<0,001	≥ 557,43	54	88	81	65
NO (μmol/L)	0,660 (0,545 – 0,774)	0,006	≥ 16,03	86	44	60	75
ADMA(μmol/L)	0,606 (0,485 – 0,726)	0,084	≥ 0,71	66	53	58	61
Arginin(μmol/L)	0,609 (0,489 – 0,729)	0,076	≥ 247	84	47	61	74
CA125 (IU/mL)	0,809 (0,718 – 0,901)	<0,001	≥ 16,36	82	72	74	80
CEA (ng/mL)	0,768 (0,668 – 0,868)	<0,001	≥ 4,62	51	94	89	66
LDH (IU/L)	0,605 (0,485 – 0,725)	0,087	≥ 179	73	53	61	66
CYFRA 21-1 (ng/mL)	0,883 (0,815 – 0,952)	<0,001	≥ 2,61	71	94	92	77
NSE (ng/mL)	0,750 (0,649 – 0,851)	<0,001	≥ 14,02	77	66	69	74
VEGF + CA125 + CYFRA 21-1	0,926 (0,869 – 0,983)	<0,001	≥ 0,824	73	100	100	79
CEA + CA125 + CYFRA 21-1	0,932 (0,877 – 0,987)	<0,001	≥ 0,486	85	91	90	86



Şekil.4.4. CA125, Cyfra21-1 , VEGF ve CEA düzeylerinin birbiri ile korelasyonun şekilsel gösterimi

Çizelge.4.8. Kan Parametrelerinin Birbirleriyle Korelasyon Analizi

	<i>Spearman's Rho</i>	VEGF	NO	ADMA	Arginin	Arg/ADMA	CA-125	CEA	LDH	Cyfra21-1	NSE
VEGF	<i>r</i>	1	0,028	0,154	-0,049	-0,191	0,396	0,147	0,261	0,332	0,181
	<i>p</i>	-	0,792	0,153	0,650	0,074	<0,001	0,196	0,014	0,002	0,092
NO	<i>r</i>		1	0,175	0,092	-0,018	-0,048	0,076	-0,075	0,254	0,307
	<i>p</i>		-	0,104	0,396	0,871	0,672	0,506	0,484	0,017	0,004
ADMA	<i>r</i>			1	0,374	-0,299	0,127	0,069	0,139	0,263	0,178
	<i>p</i>			-	<0,001	0,005	0,262	0,543	0,197	0,013	0,097
Arginin	<i>r</i>				1	0,634	0,117	0,174	-0,161	0,224	-0,021
	<i>p</i>				-	<0,001	0,302	0,126	0,134	0,036	0,845
Arginin/ADMA	<i>r</i>					1	0,038	0,196	-0,232	0,044	-0,147
	<i>p</i>					-	0,737	0,083	0,030	0,685	0,173
CA-125	<i>r</i>						1	0,463	0,305	0,426	0,218
	<i>p</i>						-	<0,001	0,004	<0,001	0,042
CEA	<i>r</i>							1	0,270	0,326	0,314
	<i>p</i>							-	0,011	0,002	0,003
LDH	<i>r</i>								1	0,274	0,269
	<i>p</i>								-	0,010	0,011
Cyfra 21-1	<i>r</i>									1	0,449
	<i>p</i>									-	<0,001
NSE	<i>r</i>										1
	<i>p</i>										-

4.4. Evrelere Göre Değerlendirme

Çalışmamızda biyokimyasal parametrelerimiz, primer tümör büyüklüğüne göre gruplar arasında değerlendirildiğinde, Cyfra 21-1 ve NSE düzeyleri farklı bulunmuştur (sırasıyla $p<0,001$ ve $p=0,034$).

Hastalardaki bölgesel lenf nodu tutulumuna göre, parametrelerimizi gruplar arasında değerlendirdiğimizde serum ADMA, LDH ve Cyfra21-1 düzeyleri farklılık göstermiştir (sırasıyla $p=0,002$, $p=0,022$ ve $p=0,021$).

Parametrelerimiz metastaz varlığı duruma göre gruplar arasında değerlendirildiğinde ise CA125, LDH ve NSE düzeylerinde farklılıklar gözlenmiştir (sırasıyla $p=0,042$, $p=0,048$ ve $p=0,009$).

Sonuçlarımız TNM sınıflamasındaki Evre-1, Evre-2, Evre-3 ve Evre-4 grupları arasında değerlendirildiğinde LDH, Cyfra21-1 ve NSE düzeyleri anlamlı farklı bulunmuştur (sırasıyla $p=0,027$, $p=0,012$ ve $p=0,005$). Evrelendirme sistemlerine göre sonuçlar Çizelge.4.9’da gösterilmiştir.

Hastalar, primer tümör büyüklüğüne göre gruplandırıldığında, hastalardan 8’i (%14) T1, 14’ü (%25) T2, 14’ü (%25) T3 ve 20’si (%35) T4 idi. Hastalarımız bölgesel lenf nodu tutulumuna göre sınıflandırıldığında ise hastaların 16’sı (%28) N0, 8’i (%14) N1, 19’u (%34) N2 ve 13’ü (%23) N3 idi. Hastalardan sadece 18’i (%32) metastatik KHDAK idi.

Çizelge-4.9. Primer tümör (T), Bölgesel Lenf Nodu tutulumu (N), Uzak metastaz (M) ve TNM evresine göre serum VEGF, NO, ADMA, Cyfra21-1, CEA, LDH, NSE ve CA125 düzeylerinin değerlendirilmesi

		VEGF	NO	ADMA	CA-125	CEA	LDH	Cyfra-21-1	NSE
T									
	T1	498,2 ± 364,8	22,9(17,5– 40,4)	0,65± 0,12	17,7 (10,4 –117,9)	4,1(1 – 21,1)	188 ± 27,3	2,31 ^a (1,08 – 20,14)	13,7 ^a ± 3,02
	T2	554,3 ± 242,8	21,4(13,9–72,3)	0,82 ±0,21	27,9(10,4– 107,5)	4,5(1,5 – 12,8)	194,1 ± 37	2,55(1,06 – 10,31)	17,2 ± 6,9
	T3	706,2 ± 424,5	22,9(10,6–60,6)	0,75± 0,11	20,7 (9 – 95,6)	5,1(1,5– 64,3)	197,4 ± 48	5,52(1,06 – 51,02)	22,2 ^b ± 9,4
	T4	747,1 ± 358,1	26,9(10– 78,5)	0,79± 0,14	34,4 (15,9–126,4)	3,8(1,6– 38,5)	207,3 ±38,2	21,8 ^b (1,93 – 73,75)	21,7 ^b ± 7,04
p		0,249	0,401	0,092	0,317	0,804	0,637	<0,001	0,034
N									
	N0	608 (169–1221)	22,9(10,6 –55,9)	0,7± 0,15 ^a	27,9(10,4–117,9)	3,9(1 – 21,1)	183,4± 29,3 ^a	3,26 ^a (1,08 – 51,48)	16,3 ± 5,1
	N1	376 (323 – 849)	31,2(17,1– 55,7)	0,88±0,21	18(10,4 – 93,4)	4,5(1,6– 12,8)	198,8 ± 41,7	2,4(1,06 – 33,61)	18,5 ± 7,01
	N2	499 (253–1812)	22,9(10– 72,3)	0,74± 0,12	22,2 (9,01 – 88,3)	3,9(1,5– 14,3)	195,6± 43	6,90(1,06 – 25,99)	20,7 ± 8,5
	N3	682 (408–1406)	24,8(15,1 –78,5)	0,84±0,15	50,9 (17,4–126,4)	6,5(2,5– 64,3)	226,1 ± 33,3 ^b	23,2 ^b (1,18 – 73,75)	23,6 ± 8,6
p		0,187	0,291	0,020	0,181	0,266	0,022	0,021	0,063
M									
	M0	504 (169–1812)	24(10,6 – 72,3)	0,76± 0,17	21,3 (9–117,9)	4,1(1 – 21,1)	192± 38,9	5,99 (1,08 – 51,48)	15,8(10 – 41,4)
	M1	630(334– 1396)	23,3(10– 78,5)	0,77± 0,12	37,3(12,3– 126,4)	5,8(1,5– 64,3)	214,1 ± 36,2	12,9 (1,06 – 73,75)	25(6,5– 36,6)
p		0,265	0,833	0,823	0,042	0,184	0,048	0,316	0,009
TNM									
	E-1	294(169 –1052)	22,1(13,9 –40,4)	0,64±0,11	22,2(10,4 –117,9)	4,1(1 – 21,1)	178,5±27,4 ^a	2,35(1,08–3,91)	14,07 ± 3,02 ^a
	E-2	450(323– 906)	18,9(10,6 –55,7)	0,82±0,21	18(10,4– 95,6)	4,9(2,5 – 12,8)	184,6 ±41,8	3,01(1,13 –18,8)	16,2± 4,61
	E-3	571(253– 1812)	27,2(14,5 –72,3)	0,79±0,17	21,3(9,01– 58)	3,8(1,5 – 12,3)	193,5 ±37,2	9,29(1,18 –51,48)	19,1 ± 7,43
	E-4	656 (334–1396)	24,6 (10 – 78,5)	0,78±0,11	44,1 (12,3–126,4)	5,8(1,5– 64,3)	218±37,6 ^b	20,7 (1,06 –73,75)	24,02 ± 8,4 ^b
p		0,225	0,215	0,075	0,067	0,280	0,027	0,012	0,005

5. TARTIŞMA

Akciğer Kanseri nadir bir hastalıkken, son yüzyılda dünyadaki en yaygın kanserlerden birisi olmuştur. En son küresel analizde, 2018'de dünya genelinde 2,09 milyon yeni akciğer kanseri vaka tanısı ve aynı yıl 1,76 milyon akciğer kanserine bağlı ölüm tahmin edilmektedir (Ferlay ve ark., 2019). Kansere bağlı mortalitede ise 2018 yılında, birinci sırada 1,76 milyon ölüm ile akciğer kanseri iken onu 862 bin ölüm ile kolorektal kanseri ve 783 bin ölüm ile mide kanseri izlemektedir (Ferlay ve ark., 2019). Bilgisayarlı Tomografi gibi görüntüleme teknikleri erken evre akciğer kanserlerinin tespitini kolaylaştırmış olsa da, bu analizler pahalıdır ve yüksek oranda yüksek yanlış pozitif oranlarda kanser tanısına neden olabilir (Lai ve ark., 2018). Bronşiyal mikroskopi (örneğin, bronkoalveolar lavaj, biyopsi ve iğne biyopsisi) gibi diğer tanı teknikleri mevcuttur, ancak bunlar invaziv ve risklidir, sadece orta derecede duyarlılık verir (% 65-79) ve küçük bir uygulama kapsamı vardır (Yasufuku, 2010). Akciğer kanserinde erken tanı ve tarama yöntemlerinin kısıtlılığı, laboratuvar testlerinin kullanımının tanıdaki yetersizliği, ileri evre dönemine kadar hastalığın klinik bulgu vermemesi gibi nedenlerden dolayı hastaların sadece %16'sı erken evrede tanı almaktadır. Hastalarda sıklıkla tanı anında uzak metastaz bulunmaktadır ve yaşam beklentisi kısadır. Tüm bu nedenlerden dolayı biz çalışmamızda, KHDAK vakalarında serum VEGF, NO, ADMA düzeylerinin ve belirli tümör belirteçlerinin tümörün yaygınlığı ile ilişkisini ve erken tanı açısından kullanılabilirliğini değerlendirdik.

Çalışmamızda toplam 56 KHDAK vakası bulunmaktadır ve hastaların klinik bulguları ve demografik özellikleri literatür verileri ile benzerdi. Beklendiği üzere, çalışmamızda hastaların büyük çoğunluğunu erkek hastalar oluşturmaktadır ve kadın hastalarda akciğer adenokarsinom alt tipi yaygındır. Çalışmamızın genelinde en sık izlenen alt tip yassı hücreli akciğer kanseridir ve hasta grubu yaş ortalaması 62,3±8 yıl olan hastalardan oluşmaktadır. Akciğer kanserinin etiyopatogenezinde en çok suçlanan faktör olan tütün, bizim hasta grubumuzda % 89 oranında kullanılmaktaydı. Hastalık evresi açısından değerlendirme yapıldığında, hastaların erken evrede tanı oranının daha

düşük olması nedeniyle, çalışma popülasyonumuzun çoğunu lokal ileri evre ve ileri evre hastalar oluşturmaktadır.

Akciğer kanserlerinde, diğer malign solit tümörlerde de olduğu gibi, tümörün 2 mm'nin üzerinde boyutlara ulaşabilmesi için oksijen ve besin ihtiyaçlarını karşılayacak yeni damar oluşumuna ihtiyaç vardır. Anjiyogenezis, mevcut kan damarlarından yeni kılcal damarların oluşumudur ve tümör oluşumu ve ilerlemesi için bir ön koşuldur. Tümörün 2 mm'den büyük boyuta gelmesi için VEGF'nin, endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve göçünü de içeren çok aşamalı bir süreç olan anjiyogenezi uyarması gerekmektedir (Carmeliet, 2005). Dolayısıyla, VEGF düzeyleri birçok kanser türünde artmıştır (Saglam ve ark., 2008, Shang ve ark., 2002, Zhan ve ark., 2009). En güçlü uyarıcı hipoksi olan VEGF'nin etkisi altında oluşan tümör vaskülarizasyonu, yapısal ve işlevsel olarak anormaldir. Normal dokuda bu süreci yöneten anjiogenik ve anti-anjiogenik faktörler bir denge halinde çalışırken, tümör dokusunda bu denge yönü anjiogenik faktörler lehine dönmüştür. Anjiyogeneziste rol alan ana mediatör VEGF'dir ve endotel hücrelerine doğrudan etki ederek anjiyogenezi indükler. Bevacizumab, FDA tarafından kanser tedavisi için onaylanan ilk VEGF inhibitörüdür ve KHDAK tedavisinde kombinasyon terapisi olarak kullanılır. Yapılan Faz-3 çalışmasında, 878 hastaya, her 3 haftada bir Karboplatin-Paklitaksel kemoterapisine standart olarak bevacizumab tedavisi verilerek, verilmeyen grupla randomize kontrollü olarak karşılaştırıldığında ortalama yaşam 10,3 aydan 12,3 aya yükselmiştir (Meadows ve Hurwitz, 2012).

Son yıllarda, en önemli anjiogenik aktiviteli faktör olan VEGF'in akciğer kanseri ve diğer kanserlerdeki rolü ile ilişkili birçok çalışma literatürde yer almaktadır. Serum VEGF konsantrasyonları ve tümör dokusunda VEGF ekspresyonu ile tümörün histolojik alt tipi ve tümör evresi arasındaki ilişkiyi inceleyen, farklı değerlendirmeler mevcuttur. Lai ve ark, yaptığı çalışmada, yeni tanı almış, kemoterapi ya da radyoterapi almamış 180 KHDAK hastasından cerrahi sonrasında, 136 benign pulmoner nodülü olan ve 119 sağlıklı kontrol arasında serum VEGF düzeylerini incelemişlerdir. KHDAK'de tanı koydurucu bir belirteç olarak sağlıklı insanlarla ve iyi huylu pulmoner nodülü olan hastalarla serum VEGF düzeyleri karşılaştırıldığında, sırasıyla 0,824 ve 0,839 tanı için

eğri değerleri altındaki alana, % 75 ve %75 duyarlılık ve % 93,3 ve % 95,6 özgüllüklere sahipti (Lai ve ark., 2018). Ayrıca aynı çalışmada VEGF; CA-125, Cyfra-21-1 ve CEA ile beraber değerlendirildiğinde erken tanıda dahi kontrol grubuna göre %79,8 duyarlılık ve %87,4 özgüllük gösterdiği ve serum VEGF düzeylerinin evre ile pozitif korele olarak arttığı raporlanmıştır. Tamura ve arkadaşları, KHDAK'lı hastalarda serum VEGF düzeyleri ile tümör VEGF seviyeleri ve tümör mikrodamar yoğunluğu arasında anlamlı pozitif korelasyon olduğunu ve buna ek olarak, tümör büyüklüğü ve evresi arttıkça hem serum hem de tümöral dokuda VEGF düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir (Tamura ve ark., 2001). Kaya ve arkadaşları ise KHDAK tanısı olan 23'ü erken evre, 52'si ileri evre toplam 75 hastada yaptıkları çalışmada, erken evre KHDAK grubunda serum VEGF konsantrasyonlarının daha düşük olduğunu, serum VEGF seviyeleri ile evre ve tümör büyüklüğü arasında pozitif korelasyon olduğunu ve histolojik alt tipler arasında fark bulunmadığını bildirmiştir (Kaya ve ark., 2004). Bizim çalışmamızda da literatürle benzer olarak, VEGF KHDAK hasta grubunda artmış bulundu ve hastalığın tanısında 557,4 cut-off değerinde eğri altındaki alanı 0,72 bulunmuştur. Ancak erken evreli hastalığın tanısında etkin bulunmamıştır. Erken evredeki hastalarımızın sayısının az olmasının sonuçlarımızı etkilemiş olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmaların çoğu, VEGF düzeylerinin KHDAK histolojik alt tiplerinde farklı olmadığını raporlamıştır (Gkiozos ve ark., 2015, Kaya ve ark., 2004, Marrogi ve ark., 2000). Bu çalışmalardan farklı olarak, Shimanuki ve ark., tedavi almamış 63 KHDAK hastasında yassı hücreli karsinom alt tipinde adenokarsinoma kıyasla serum VEGF düzeylerinin artmış olduğunu, serum VEGF düzeylerinin sadece hastalık evresiyle korele olduğunu, T faktörü ve N faktörü ile ilişkisi olmadığını raporlamıştır (Shimanuki ve ark., 2005). Çalışmamızda biz de yassı hücreli karsinom alt tipinde serum VEGF düzeylerinin adenokarsinom alt tipinden daha yüksek bulduk ancak adenokarsinom hastalarının daha az sayıda olmasının sonuçlarımızı etkilemiş olabilir. Biz de çalışmamızda artmış VEGF düzeylerinin T ve N ile ilişkisi olmadığını tespit ettik.

Bazı çalışmalarda, hem erken hem de metastatik KHDAK vakalarında dolaşımdaki VEGF seviyeleri ile kötü prognoz arasında olası bir ilişki olduğunu öne sürülmüştür ve bazı çalışmalar bağımsız bir prognostik faktör olabileceğini de

bildirilmiştir (Edelman M. J. ve ark., 2011, Hanrahan ve ark., 2009, Laack ve ark., 2005, Niklinska ve ark., 2001, Shimanuki ve ark., 2005, Takigawa ve ark., 1998). Suwinski ve arkadaşları, çoğunluğu ileri evre hastalardan oluşan 337 hastadan, serum VEGF'si yüksek olan grupta 3-yıllık ortalama yaşam süresinin daha kısa olduğunu ve serum VEGF düzeylerinin KHDAK'de bağımsız bir prognostik faktör olduğunu göstermişlerdir (Suwinski ve ark., 2019). Ding ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, ileri evre 77 KHDAK hastalarında serum VEGF düzeylerini kontrol grubuna göre yüksek olduğunu, ayrıca, serum VEGF düzeylerinin ve VEGF mRNA ekspresyon düzeyinin radyoterapiden sonra anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir (Ding ve ark., 2018). Chakra ve arkadaşları ise, çoğunluğu ileri evre hastalardan oluşan tedavi almamış 451 KHDAK hastasında yaptıkları çalışmada, serum VEGF düzeyinin tümör evresi, lenf nodu tutulum durumu ve hastanın kötü performans durumu ile korele arttığını, yüksek serum VEGF düzeylerine sahip hastaların ortalama yaşam sürelerinin daha kısa olduğunu ancak ana prognostik değişkenlerle ilişkili olması nedeniyle sağkalımın bağımsız bir belirleyicisi olmadığını belirtmiştir (Chakra ve ark., 2008). Park ve arkadaşları, 86 akciğer kanseri hastasının serum VEGF konsantrasyonu yüksek ve düzey olmak üzere iki gruba ayırıp, evrelere göre ve histolojik tiplere göre değerlendirdiğinde, iki grup arasında evre, histolojik tip ve sağkalım oranları açısından serum VEGF konsantrasyonunda anlamlı fark olmadığını belirtmiştir (Park ve Lee, 2003). Ancak çalışma hem KHDAK ve KHAK vakalarını içermektedir ve sadece tedavi öncesi hastaları değil, tedavi süresinde olan hastalar da çalışmaya dâhil edilmiştir.

VEGF, KHDAK'li hastalarda malign plevral efüzyon tanısı ve klinik tedavisi için de büyük öneme sahiptir (Chen Y. ve ark., 2018b). Birçok çalışma, bevacizumab tedavisinin KHDAK'de malign pulmoner efüzyon tedavisinde hastaların yaşam kalitesinin artmasını sağlamakla kalmayıp, aynı zamanda hastaların ortalama yaşam süresinde uzama sağladığını göstermiştir (Assoun ve ark., 2017, Chen Y. ve ark., 2018b).

VEGF sadece malign hastalıklarda değil, aynı zamanda sigara kullanımı, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), kronik bronşit ve hipoksiye neden olan birçok benign durumda da artmaktadır (Farid Hosseini ve ark., 2014). Serum VEGF düzeyleri

arttıkça KOAH hastalığının aktivitesinin arttığı ve prognozun kötüleştiği belirtilmiştir (Farid Hosseini ve ark., 2014, Kanazawa ve ark., 2003). Bu nedenlerden dolayı hem hasta kontrol grubumuza mevcut malignitesi hariç, başka kronik hastalığı olan hastalar dışlanmıştır.

Hücre içi ve hücreler arası sinyal molekülü olan NO, insan vücudunda vasküler tonusun düzenlenmesi, gastrointestinal motilite, programlanmış hücre ölümü, proliferasyon ve nörotransmisyon gibi geniş bir biyolojik fonksiyon yelpazesini kontrol eden, akciğer de dâhil olmak üzere birçok kanser türünde seviyesi sıklıkla yükselen önemli bir hücre sinyal molekülüdür. Nispeten kısa ömürlü bir lipofilik serbest radikal olan NO, haberci veya efektör sinyal molekülü olarak görev yapar ve endojen olarak L-arjinin metabolizmasından L-sitrüline kadar NOS olarak adlandırılan çeşitli, NADPH'ye bağlı enzimler tarafından katalizlenen kompleks bir reaksiyon yoluyla üretilir. Artan kanıtlar, NO sinyalinin birçok kanser türünün patofizyolojisinde, özellikle beyin, meme, prostat, pankreas ve akciğer de dâhil olmak üzere çeşitli dokularda tümör oluşumu ve ilerlemesinde rol oynadığını göstermiştir (Luanpitpong ve Chanvorachote, 2015). Lipofilik yapısından dolayı NO, komşu hücrelerden hücreler arasında serbestçe yayılabilir ve sonuçta tümör fenotiplerini ve davranışını etkileyebilir (Luanpitpong ve Chanvorachote, 2015). Oksijen varlığında NO hızlı bir şekilde kararlı nitrit ve nitrat ürünlerine oksitlenir. Bu nedenle, $NO^2 + NO^3$ konsantrasyonu, NOS aktivitesinin ve endojen NO üretiminin markeri olarak kullanılır.

Anjiyogenezde NO ve VEGF arasında ilişki olduğu ve iNOS (- / -) farelerden izole edilen akciğer tümörlerinde, tümör dokusunda VEGF konsantrasyonunun % 54 daha düşük olduğu ve tümör miktarının % 80 azaldığı raporlanmıştır (Kisley ve ark., 2002). Bu durum NO'nun akciğer tümörlerinde anjiyogenezi modüle ettiğini düşündürmektedir.

Kemoterapötik ajanların tümü olmasa da birçoğu apoptoz indüksiyonu yoluyla kanser hücresi ölümüne neden olur. NO'un doza bağlı olarak hem pro-apoptotik hem de anti-apoptotik aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, NO'nun anjiyogenezdeki ve karsinogenezdeki rolü ile ilgili çelişkili sonuçlar vardır

(Colakogullari ve ark., 2006). Yüksek konsantrasyonda NO, kaspaz aktivasyonu aracılığı ile apoptozu indüklerken, fizyolojik dozlardaki NO'un apoptozu önlediği gösterilmiştir (Pommier ve ark., 2004). Akciğer kanserinde yapılan hücre kültürü çalışmalarında NO'un hem intrinsik hem ekstrinsik apoptoz yolağını baskılayarak, kemoterapötiklere direnç neden olduğu, ayrıca invazyon ve metastazı da kolaylaştırdığı gösterilmiştir (Chanvorachote ve ark., 2006, Numajiri ve ark., 2011).

Çolakoğulları ve arkadaşları, ileri evre 23 yassı hücreli, 3 adenokarsinom, 5 KHAK ve 15 kontrol hastasında yaptığı çalışmada, serum nitrit/nitrat ve VEGF düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu ($p=0,018$ ve $p=0,001$ sırasıyla), serum VEGF düzeyleri ve nitrit/nitrat düzeyleri arasında korelasyon olmadığını, serum nitrit/nitrat seviyeleri ile evre ve histolojik tür açısından ilişki olmadığını, yüksek serum nitrit/nitrat seviyelerinin kötü prognoz ile ilişkili olduğunu ve yüksek serum NO düzeyi olanların, serum NO düzeyi düşük olanlara göre ortalama sağkalımlarının 8 kat daha düşük olduğu bildirmiştir (Colakogullari ve ark., 2006). Muto ve arkadaşları da standart kemoterapötik tedaviye ek olarak bevacizumab tedavisi alan 15 akciğer adenokarsinom hastasının, tedavi öncesi ve 2 doz tedavi sonrası serum nitrit/nitrat seviyeleri kıyaslandığında, nitrit/nitrat seviyesi tedaviyle düşen grupta progresyonsuz sağkalım daha yüksek bulunmuştur ve serum nitrit/nitrat seviyelerinin bevacizumab için tedaviye yanıtta kullanılabilir olduğu vurgulanmıştır (Muto ve ark., 2017). Bazı çalışmalarda tümör dokusunda NO ve VEGF düzeylerinin, pozitif korele olduğu gösterilmiştir (Marrogi ve ark., 2000, Niklinska ve ark., 2001). Çalışmamızda KHDAK'de serum nitrit/nitrat seviyeleri literatürle uyumlu olarak yüksek bulunmuştur. Ancak, çalışmamız sonucunda VEGF düzeyleri ile nitrit/nitrat düzeyleri arasında ilişki saptanmamış olup, doku NOS tarafından üretilen nitrit/nitrat miktarının serum NO'yu yansıtmayabileceğini düşünüyoruz. Ayrıca, çalışmamızda nitrit/nitrat düzeylerinin T, N ve M faktörü ile ilişkisi olmadığı görülmektedir.

ADMA ve SDMA, insan kanında mikromolar seviyelerinde bulunan L-argininin metil türevleridir ve metillenmiş proteinlerin yıkılması sonucu oluşur. ADMA birikiminin temel nedenleri artmış protein metilasyonu ve metabolizması, DDAH enzim aktivitesinin azalması ve idrar ADMA atılımının azalmasıdır (Branković ve ark., 2017).

ADMA'nın renal ve az miktarda biliyer atılımı mevcuttur ancak esas yıkımı DDAH enzimi tarafından dimetilamin ve L-sitrülin metabolitlerine yıkımıdır ve bu metabolitler idrarla atılır (Chachaj ve ark., 2018). ADMA konsantrasyonu en sık, NO artışı ile birlikte artmakta ve DDAH'ın inflamasyon ve oksidatif stresteki aktivitesinin azalması nedeniyle ortaya çıkmaktadır, bu da kanser oluşumunda önemlidir (Branković ve ark., 2017). L-arginin, NOS ve arginaz enzimlerinin ortak substratlarıdır ve bu iki enzim arasındaki bu etkileşim, NO üretiminin düzenlenmesinde önemli bir potansiyel faktörü temsil eder. Artmış arginaz aktivitesi, NOS için L-arginin kullanılabilirliğini azaltarak NO sentezini sınırlandırabilir. Arginaz aktivitesi, NOS aktivitesinden 5 kat fazladır. Bununla birlikte, kronik böbrek yetmezliği olan hastaların eritrositlerinde arginaz aktivitesi artarken, NOS aktivitesinin azaldığı öne sürülmüştür. Daha önce, meme kanserinde arginaz enzim aktiviteleri ile NO seviyeleri arasında ters bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Erbaş ve ark., 2007). NOS enziminin endojen kompetitif inhibitörü olan ADMA ve NOS enzimi üzerinde bir fonksiyonu olmayan SDMA, yüksek plazma konsantrasyonlarında hücreye girişte arginin ile yarışarak dolaylı olarak NO sentezini azaltabilir (Fleck ve ark., 2003).

Artmış plazma ADMA düzeyleri; renal disfonksiyon, hiperkolestrolemi, hiperhomosisteinemi, periferik arter hastalığı, hipertansiyon, koroner arter hastalığı, kalp yetmezliği de dahil olmak üzere birçok hastalıkta gösterilmiştir (Erbaş ve ark., 2015). Ancak, ADMA ve kanser ilişkisi arasında kısıtlı çalışma bulunmaktadır. Hiçbir anti-tümör tedavi almamış 20 meme kanseri hastası ve 20 kontrol hastası içeren çalışmada, tanı anında ADMA ve NO seviyelerinin kontrol grubundan yüksek olduğu raporlanmıştır (Mansour, 2013). Erbaş ve arkadaşları da, yaptıkları deney hayvanı çalışmasında, deneysel meme adenokanseri yapılan farelerde plazma arginin seviyelerinin düştüğünü, ADMA seviyelerinin ise arttığını göstermiştir (Erbaş ve ark., 2015). Erken evre meme kanseri teşhisi konan 72 hastanın, kemoterapi öncesi ve sonrası serum ADMA düzeyleri incelendiğinde, antrasiklin içeren kemoterapi sonrasında hastaların serum ADMA düzeylerinde yükselme görülmüştür ve bunun kemoterapi tedavisine bağlı olarak artmış oksidatif stresin DDAH enzim aktivitesini azaltmasına bağlı olduğu ifade edilmiştir (Akyol ve ark., 2017). Kolon kanseri hastaları arasındaki

Çalışma serum ADMA düzeylerinin sağlıklı katılımcılardan daha yüksek olduğunu göstermiştir (Li ve ark., 2013).

Sulicka ve arkadaşları, çocukluk ağı akut lenfoblastik lösemisi (ALL) geçirmiş olan genç erişkinlerde, kontrol grubuna göre serum ADMA seviyesinin yüksek olduğunu göstermişlerdir ve kemoterapinin, vasküler endoteli üzerinde veya henüz bilinmeyen diğer hedef hücrelerde, kısmen lipid profilindeki küçük değişikliklerle ilgili olarak geç zarar verici etkilerini yansıtabiliceğini belirtmişlerdir. Hematolojik malignitelede serum ADMA düzeylerini inceleyen bir başka çalışmada akut miyeloid lösemili (AML) 33 hasta, non-hodgkin lenfoma olan 31 hasta, kronik lenfositik lösemili (KLL) 32 hasta ve malignite olmayan 48 hasta değerlendirildiğinde, ADMA ve SDMA, AML, non-hodgkin lenfoma ve KLL'de kontrollere kıyasla yüksek bulundu (ADMA(median): sırasıyla 1,36, 1,24, 1,03, 0,55 $\mu\text{mol/L}$, $p < 0,0001$; SDMA(median): sırasıyla 0,86, 0,76, 0,71, 0,52 $\mu\text{mol/L}$, $p < 0,0001$) (Chachaj ve ark., 2018). Ayrıca aynı çalışmada, yüksek ADMA ve SDMA düzeyleri, KLL grubunda tüm nedenlere bağlı ölüm riskinin artmasıyla ilişkili bulunmuştur. Çalışmamızda ADMA düzeyleri KHDAK grubunda daha yüksek bulunsa da kanser tanısı koymak için yeterli değildir. Ayrıca ileri evre KHDAK hastalarında ADMA düzeyleri yüksek bulunmasına karşın, istatistiksel olarak kontrol grubundan farklı değildi. Çalışmamızda evre grupları ile serum ADMA düzeyleri arasında ilişki gözlenmemiştir.

Kanser türlerinde artmış ADMA konsantrasyonlarının patofizyolojisi henüz bilinmemektedir ve karmaşık bir kökene dayandığı düşünülmektedir. Muhtemelen artmış protein katabolizması nedeniyle artmış bir üretim hızı ve oksidatif strese bağlı olarak azalmış DDAH aktivitesinin bir sonucu olarak katabolizması azalıp, dolaşımdaki konsantrasyonları artmış olabilir. Malign hücreler, antioksidan enzimlerinin down-regülasyonu ile veya mitokondriyal disfonksiyon yoluyla ilişkili anormal oksidatif stres gösterebilirler (Giles, 2006). L-arginin/ADMA oranının NOS aktivitesinin önemli bir belirleyicisi olduğu ileri sürülmektedir (Bode-Boger ve ark., 2007).

Akciğer kanserinde, görüntüleme yöntemleriyle malign görünümlü nodülleri, benign akciğer hastalıklarından ayırt etmek bazı koşullarda zor olabilmektedir.

Asemptomatik popülasyonlarda veya sigara içenler gibi spesifik yüksek riskli gruplarda akciğer kanserinin erken teşhisi için tekli belirteçlerin veya belirteçlerin kombinasyonlarının yararlılığını gösteren herhangi bir rapor yoktur (Stieber ve ark., 2006). Tümör belirteçleri, şüpheli akciğer tümörleri tanısında ve ayırıcı tanı ve histolojik alt tiplendirme için önemli bir potansiyele sahiptir. Sağlıklı kontrollerin ve benign tümörlere sahip hastaların da bu tümör belirteçleri yüksek olabilmesine rağmen, yüksek CEA, CYFRA 21-1, NSE, skuamöz hücreli kanser antijeni(SCCA) ve Progastrin salgılayıcı peptit (ProGRP) konsantrasyonları malignite lehinedir (Stieber ve ark., 2006). Adenokarsinomda CEA; skuamöz hücreli karsinomda CYFRA 21-1 ve SCCA; büyük hücreli kanserde CYFRA 21-1 ve NSE; ve KHAK'de NSE ve ProGRP ön plana çıkmaktadır. Çalışmamızda, Cyfra21-1 düzeyleri, yassı hücreli karsinom alt tipinde adenokanser alt tipinden yüksek bulunmuştur. Tümör markerlarının hepsi hasta grubunda yüksek bulunmuştur ve adenokarsinom alt tipi ile yassı hücreli karsinom alt tipi karşılaştırıldığında, Cyfra21-1 hariç diğer tümör markerları benzer bulunmuştur.

Primer akciğer kanserini benign akciğer hastalığından ayırmada yaygın olarak kullanılan CEA ve Cyfra 21-1'in tanısal değeri ve 655 akciğer kanseri hastasında ve 237 benign akciğer hastasında retrospektif olarak araştırıldığında, BT'ye ek olarak tümör belirteçlerinin kullanılmasının tanıda faydalı olabileceği gösterilmiştir (Okamura ve ark., 2013). Ayrıca CEA için 6,4ng/ml ve CYFRA 21-1 için 7 ng/ml cut-off olarak alındığında, PPD ve duyarlılık % 90'ların üzerinde bulunmuştur. KHDAK 53 hasta ve 27 benign akciğer hastası içeren bir başka çalışmada, CYFRA21-1'in tanı için duyarlılığı %50,9, özgüllüğü % 81,4 ve ROC eğrisinde eğri altında kalan alanı 0,698 bulunmuştur(Dikmen, 2015). Edelman ve arkadaşları ise KHDAK hastalarında yaptığı prospektif çalışmada, bazal CYFRA21-1 düzeylerinin düşüklüğü artmış genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım ile korele olduğunu, tedaviyle CYFRA21-1 düzeylerinde daha fazla düşüş olması ise artmış genel ve hastalıksız sağkalımla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Edelman Martin J. ve ark., 2012). Hiçbir anti-tümör tedavi almamış hastalarda yapılan çalışmamızda, erken tanıda CA125, CEA ve Cyfra21-1'in sırasıyla EAA'ları 0,73, 0,75 ve 0,82 bulunmuşken, bu üç markerin kombinasyon şeklinde kullanılmasında 0,888

bulunmuştur. Erken tanıda Cyfra21-1 %81 ile duyarlılığı en yüksek parametre iken, CEA %91 özgüllüğü en yüksek olan parametreydi.

Yeni tanı almış 211 KHDAK hastasında CEA, CA 125, SCC, CYFRA 21-1 ve NSE düzeyleri prospektif olarak incelendiğinde tümör marker duyarlılığı, CYFRA21-1 için %76, CA125 için % 55, CEA için % 52, SCC için % 33 ve NSE için % 22 idi (Molina ve ark., 2003). Aynı çalışmada, NSE dışında tüm tümör belirteçlerinin tümör evresi, tümör büyüklüğü, nodal tutulum ve tümör histolojisi ile açık bir ilişki gösterdiği, adenokarsinomlarda CEA ve CA125, yassı hücreli tümörlerde ise SCCA düzeyleri daha yol gösterici bulunmasına karşın CYFRA21-1 en sensitif tümör belirteci olarak bulunmuştur. Çalışmada Cyfra21-1, CA125 ve CEA kombinasyon tümör markerları olarak kullanıldığında duyarlılık % 90'lara yükselmiştir.

Chen ve ark, erken evre KHDAK olan 236 hasta ve 44 benign akciğer hastalığı olan katılımcılar arasında, CEA ve CYFRA21-1 kombine olarak değerlendirildiğinde duyarlılık % 47 ve özgüllük % 81 bulunmuştur ve evre ile ilişkili olarak bu belirteçlerin düzeyi artmaktaydı (Chen F. ve ark., 2018a). İleri evre KHDAK prognozunda CEA, CYFRA21-1 ve CA125 in etkinliği değerlendirildiğinde, artmış tümör belirteçleri ile klinik evre ve kötü prognoz arasında anlamlı ilişki belirtilmiştir (Cedr s ve ark., 2011). Çalışmamızda ise Cyfra21-1 ve NSE ileri evre hastalıkta, erken evre hastalıktan yüksek bulunan tümör belirteçleridir. Ayrıca çalışmamızda tümör belirteçleri, birbiri ile korelasyon göstermiştir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, akciğer kanseri oluşum ve yayılımında ADMA, NO ve VEGF yolağının önemini ve tedavide yeni bir seçenek olabileceğini vurgulamıştır. Shiozawa ve ark, 133 adet cerrahi rezeke akciğer adenokarsinomu dokusunda en çok boyanan proteini LC-MS / MS'de tanımladığında, bunun DDAH2 enzimi olduğunu göstermişlerdir (Shiozawa ve ark., 2016). Bu çalışmada, DDAH2 ekspresyonunu incelendiğinde DDAH2'nin, minimal invaziv adenokarsinom ve invaziv adenokarsinomda, in-situ adenokarsinoma göre daha yüksek ekspresyona sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca DDAH2 artışı, NO, eNOS ve VEGF seviyelerini artırmıştır. Son yıllarda yapılan bir başka çalışmada ise, deney hayvanı ve hücre kültürü çalışmasının

ortak sonucu olarak, enzimatik olarak aktif DDAH1'in aşırı ekspresyonunun, ADMA seviyelerini düşürerek, NO ve VEGF seviyelerini artırarak, in vitro ve in vivo olarak prostat kanseri hücrelerinin büyümesini sağladığı gösterilmiştir (Reddy ve ark., 2018).

Hücrel bir oksidan durum, hücrelerdeki proteinlerin ve fonksiyonların değişimi nedeniyle hücreleri neoplastik büyümeye teşvik eder (Masri ve ark., 2005). Nitrik oksit veya metabolitlerinden oluşan reaktif azot türleri, akciğer kanserinde yükselen protein tirozin nitrasyonuna yol açabilir. NO türevlerinde meydana gelen değişikliklerin, akciğer karsinogenezine katkısındaki rollerini belirlemek için yapılmış bir çalışmada, ekshale edilen NO ve NO₂⁻ düzeylerinin artmasına rağmen, endotel NO sentaz veya indüklenebilir NO sentaz ekspresyonu, tümör ve tümörsüz bölgelerde benzerdi (Masri ve ark., 2005). Bununla birlikte, immünohistokimya, tümör taşımayan bölümlere göre tümörlü bölgelerde nitrotirozinin arttığını göstermişlerdir. Sonuç olarak, Masri ve ark., akciğer kanserinde reaktif azot ve oksijen türlerinin rolünün lehine kanıtlar sunmaktadır. Son dönemlerde üzerinde durulan çalışmalar, akciğer kanseri gelişiminde azot oksit ve azot dioksit moleküllerinin akciğer kanseri gelişimindeki önemini vurgulamaktadır. Yapılan metaanalizde, trafiğe bağlı hava kirliliğine maruz kalan bireylerin, azot oksit ve azot dioksit maruziyetinin sonucu olarak akciğer kanserine yakalanma riskinin daha fazla olduğu belirtilmiştir (Hamra ve ark., 2015). Çalışmamız sonucunda, nitrit/nitrat ve ADMA seviyelerinin yüksek bulunması, akciğer kanserinde azot metabolizmasının dengesinin, azot yönüne kaydığını gösterebilir.

İdeal bir biyobelirtecin hastalık için duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek olmalıdır. Ayrıca, ölçümü kolay, non-invaziv, ucuz olmalı ve histopatolojik değişikliklerden erken dönemde etkilenmelidir. Düşük duyarlılıklarından ötürü, tümör belirteçleri genel olarak ortalama risk popülasyonlarında akciğer kanserinin erken saptanması için bir araç olarak önerilmemiştir (Chen F. ve ark., 2018a). Çalışmamız sonucunda, KHDAK'nın erken evrede tanısında CA125, CEA ve Cyfra21-1'in sırasıyla duyarlılıkları % 73, % 60 ve % 81 iken, bu üç markerin kombinasyon şeklinde kullanılmasında duyarlılık % 93 bulunmuştur. Erken evrede tanıda CA125, CEA ve Cyfra21-1'in özgüllükleri sırasıyla % 72, % 91 ve % 81 iken, bu üç markerin kombinasyon şeklinde kullanılmasında duyarlılık % 72 bulunmuştur. KHDAK hastalarını, kontrol grubundan ayırmada tanısız

etkinliği VEGF, CA-125 ve Cyfra21-1'in kombinasyonu şeklinde incelediğimizde duyarlılık % 73 6zgüllük % 100 bulunmuşken; CEA, CA-125 ve Cyfra21-1 kombinasyonu olarak analiz ettiğimizde duyarlılık % 85, 6zgüllük % 91'dir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Akciğer kanseri dünyada en sık görülen kanser türlerindendir ve kansere bağlı ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer alır. Mevcut yöntemlerin tanı olanaklarının ve tarama testlerinin kısıtlı olması, geç klinik bulgu vermesi ve erken teşhis için etkili biyobelirteçlerin bulunmaması nedeniyle, akciğer kanseri hastaları ileri evrede tanı almaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, akciğer kanseri oluşum ve yayılımında ADMA, NO ve VEGF yolağının önemini ve tedavide yeni bir seçenek olabileceğini vurgulamıştır.

Bizde çalışmamızda bu bulgulardan hareketle, hiçbir anti-tümör tedavi almamış KHDAK vakalarında serum VEGF, NO, ADMA, Cyfra21-1, NSE, LDH, CA125 ve CEA düzeylerinin hastalığın tanı ve yaygınlığını belirlemede güvenilirliğini test etmek amacıyla çalışmamızı gerçekleştirdik.

Çalışmamız sonucunda erken evre KHDAK tanısında Cyfra21-1, CEA ve CA125 kombinasyonunun yeterli etkinliğe sahip olabileceğini bulduk. Ayrıca KHDAK hasta grubunda, serum VEGF, NO, ADMA, CA125, Cyfra21-1, CEA ve NSE konsantrasyonlarının artmış olduğunu gözlemledik. Ayrıca KHDAK hastalarının tanısında ise serum VEGF, Cyfra21-1 ve CA125 kombinasyonu etkin bulunmuştur. Elde ettiğimiz bulgulardan hareketle, Cyfra21-1, VEGF, CA125 ve CEA'nın KHDAK tanısında yararlı olduğunu bulduk. Çalışmamızın sonuçları, benign akciğer hastalarını da kapsayan, daha geniş hasta grubunda tekrarlanmalıdır.

KAYNAKLAR

- Akyol M, Kara M, Alacacioglu A, et al. 2017. The Effects Of Adjuvant Chemotherapy On Serum Adma And Endothelin-1 Levels In Early Stage Breast Cancer Patients (Izmir Oncology Group (Izog) Study. *Acta Medica Mediterranea* 33;557-64.
- Alberg AJ, Brock MV, Ford JG, Samet JM , Spivack SD. 2013. Epidemiology of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 143;e1S-e29S.
- Arrieta O, Villarreal-Garza C, Martínez-Barrera L, et al. 2013. Usefulness of Serum Carcinoembryonic Antigen (CEA) in evaluating response to chemotherapy in patients with advanced non small-cell lung cancer: a prospective cohort study. *BMC Cancer* 13;254.
- Assoun S, Brosseau S, Steinmetz C, Gounant V , Zalcman G. 2017. Bevacizumab in advanced lung cancer: state of the art. *Future Oncol* 13;2515-35.
- Aydin M, Erdoğan F, Armutçu F , Ramazan Yiğitoğlu M. 2013. Metabolism of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA). *International Journal of BASIC & CLINICAL MEDICINE* 1;61-6.
- Bafna S, Kaur S , Batra SK. 2010. Membrane-bound mucins: the mechanistic basis for alterations in the growth and survival of cancer cells. *Oncogene* 29;2893-904.
- Bates DO, Hillman NJ, Williams B, Neal CR , Pocock TM. 2002. Regulation of microvascular permeability by vascular endothelial growth factors. *J Anat* 200;581-97.
- Beckles MA, Spiro SG, Colice GL , Rudd RM. 2003. Initial evaluation of the patient with lung cancer: symptoms, signs, laboratory tests, and paraneoplastic syndromes. *Chest* 123;97s-104s.
- Beltowski J , Kedra A. 2006. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a target for pharmacotherapy. *Pharmacol Rep* 58;159-78.
- Berman DW , Crump KS. 2008. Update of potency factors for asbestos-related lung cancer and mesothelioma. *Crit Rev Toxicol* 38 Suppl 1;1-47.
- Bernard A, Deschamps C, Allen MS, et al. 2001. Pneumonectomy for malignant disease: factors affecting early morbidity and mortality. *J Thorac Cardiovasc Surg* 121;1076-82.
- Bode-Boger SM, Scalera F , Ignarro LJ. 2007. The L-arginine paradox: Importance of the L-arginine/asymmetrical dimethylarginine ratio. *Pharmacol Ther* 114;295-306.
- Boettger MK, Uceyler N, Zelenka M, et al. 2007. Differences in inflammatory pain in nNOS-, iNOS- and eNOS-deficient mice. *Eur J Pain* 11;810-8.
- Branković B, Stanojević G, Stojanovic I, et al. 2017. Nitric oxide synthesis modulation - a possible diagnostic and therapeutic target in colorectal cancer. *JBUON* 22;162-9.
- Brundage MD, Davies D , Mackillop WJ. 2002. Prognostic Factors in Non-small Cell Lung Cancer: A Decade of Progress. *Chest* 122;1037-57.

- Carmeliet P. 2005. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Oncology* 69 Suppl 3;4-10.
- Cedres S, Nunez I, Longo M, et al. 2011. Serum tumor markers CEA, CYFRA21-1, and CA-125 are associated with worse prognosis in advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Clin Lung Cancer* 12;172-9.
- Cedrés S, Nuñez I, Longo M, et al. 2011. Serum Tumor Markers CEA, CYFRA21-1, and CA-125 Are Associated With Worse Prognosis In Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer (NSCLC). *Clinical Lung Cancer* 12;172-9.
- Chachaj A, Wisniewski J, Rybka J, et al. 2018. Asymmetric and symmetric dimethylarginines and mortality in patients with hematological malignancies-A prospective study. *PLoS One* 13;e0197148.
- Chakra M, Pujol JL, Lamy PJ, et al. 2008. Circulating serum vascular endothelial growth factor is not a prognostic factor of non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 3;1119-26.
- Chambers DB. 2010. Thoron and decay products, beyond UNSCEAR 2006 Annex E. *Radiat Prot Dosimetry* 141;351-6.
- Chan CHF , Stanners CP. 2007. Recent advances in the tumour biology of the GPI-anchored carcinoembryonic antigen family members CEACAM5 and CEACAM6. *Current oncology (Toronto, Ont.)* 14;70-3.
- Chanvorachote P, Nimmannit U, Stehlik C, et al. 2006. Nitric oxide regulates cell sensitivity to cisplatin-induced apoptosis through S-nitrosylation and inhibition of Bcl-2 ubiquitination. *Cancer Res* 66;6353-60.
- Chen F, Li J, Qi X , Qi J. 2018a. Diagnostic value of CYFRA 21-1 and carcinoembryonic antigen in diagnosis of operable lung cancer from benign lung disease. *J Cancer Res Ther* 14;S400-s4.
- Chen Y, Mathy NW , Lu H. 2018b. The role of VEGF in the diagnosis and treatment of malignant pleural effusion in patients with nonsmall cell lung cancer (Review). *Mol Med Rep* 17;8019-30.
- Choi JR, Koh SB, Kim HR, Lee H , Kang DR. 2018. Radon Exposure-induced Genetic Variations in Lung Cancers among Never Smokers. *Journal of Korean medical science* 33;e207-e.
- Cok G. 2018. TNM Staging of Lung Cancer. *Nükleer Tıp Seminerleri* 4;1-5.
- Colakogullari M, Ulukaya E, Yilmaztepe A, et al. 2006. Higher serum nitrate levels are associated with poor survival in lung cancer patients. *Clin Biochem* 39;898-903.
- Das UN, Repossi G, Dain A , Eynard AR. 2011. L-arginine, NO and asymmetrical dimethylarginine in hypertension and type 2 diabetes. *Front Biosci (Landmark Ed)* 16;13-20.
- De Groot PM, Wu CC, Carter BW , Munden RF. 2018. The epidemiology of lung cancer. *Translational lung cancer research* 7;220-33.

- Detterbeck FC, Boffa DJ, Kim AW , Tanoue LT. 2017. The Eighth Edition Lung Cancer Stage Classification. *Chest* 151;193-203.
- Di Gangi IM, Chiandetti L, Gucciardi A, Moret V, Naturale M , Giordano G. 2010. Simultaneous quantitative determination of N(G),N(G)-dimethyl-L-arginine or asymmetric dimethylarginine and related pathway's metabolites in biological fluids by ultrahigh-performance liquid chromatography/electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 677;140-8.
- Dikmen E. 2015. Diagnostic Efficiency of HE4 and CYFRA 21-1 in Patients with Lung Cancer. *International Journal of Hematology and Oncology* 25;44-50.
- Ding G, Liu Y , Liang C. 2018. Efficacy of radiotherapy on intermediate and advanced lung cancer and its effect on dynamic changes of serum vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-9. *Oncol Lett* 16;219-24.
- Ebert W, Hoppe M, Muley T , Drings P. 1997. Monitoring of therapy in inoperable lung cancer patients by measurement of CYFRA 21-1, TPA- TP CEA, and NSE. *Anticancer Res* 17;2875-8.
- Edelman MJ, Hodgson L, Rosenblatt PY, et al. 2012. CYFRA 21-1 as a prognostic and predictive marker in advanced non-small-cell lung cancer in a prospective trial: CALGB 150304. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer* 7;649-54.
- Edelman MJ, Hodgson L, Wang X, et al. 2011. Serum vascular endothelial growth factor and COX-2/5-LOX inhibition in advanced non-small cell lung cancer: Cancer and Leukemia Group B 150304. *J Thorac Oncol* 6;1902-6.
- Erbas H, Aydogdu N, Usta U , Erten O. 2007. Protective role of carnitine in breast cancer via decreasing arginase activity and increasing nitric oxide. *Cell Biol Int* 31;1414-9.
- Erbas H, Turksever A, Aydogdu N , Cakir E. 2015. Asymmetric dimethylarginine in experimental breast cancer; action of Vitamin C and E. *J Pak Med Assoc* 65;829-33.
- Farid Hosseini R, Jabbari Azad F, Yousefzadeh H, et al. 2014. Serum levels of vascular endothelial growth factor in chronic obstructive pulmonary disease. *Medical journal of the Islamic Republic of Iran* 28;85-.
- Feng C. 2012. Mechanism of Nitric Oxide Synthase Regulation: Electron Transfer and Interdomain Interactions. *Coordination chemistry reviews* 256;393-411.
- Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C , Parkin DM. 2019. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. 144;1941-53.
- Ferrara N. 2004. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev* 25;581-611.
- Ferrara N, Gerber HP , Lecouter J. 2003. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 9;669-76.

- Ferrigno A, Di Pasqua LG, Berardo C, Richelmi P , Vairetti M. 2015. Liver plays a central role in asymmetric dimethylarginine-mediated organ injury. *World journal of gastroenterology* 21;5131-7.
- Fleck C, Schweitzer F, Karge E, Busch M , Stein G. 2003. Serum concentrations of asymmetric (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginine in patients with chronic kidney diseases. *Clin Chim Acta* 336;1-12.
- Förstermann U , Sessa WC. 2012. Nitric oxide synthases: regulation and function. *European heart journal* 33;829-37d.
- Fukumura D, Xu L, Chen Y, Gohongi T, Seed B , Jain RK. 2001. Hypoxia and acidosis independently up-regulate vascular endothelial growth factor transcription in brain tumors in vivo. *Cancer Res* 61;6020-4.
- Furrukh M. 2013. Tobacco Smoking and Lung Cancer: Perception-changing facts. *Sultan Qaboos University medical journal* 13;345-58.
- Gandara DR, Hammerman PS, Sos ML, Lara PN, Jr. , Hirsch FR. 2015. Squamous cell lung cancer: from tumor genomics to cancer therapeutics. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 21;2236-43.
- Ganie F, Wani ML, Lone H, Wani S , Hussain S. 2013. Carcinoma lung: Clinical presentation, diagnosis, and its surgical management. *The Journal of Association of Chest Physicians* 1;38-43.
- Gasperino J. 2011. Gender is a risk factor for lung cancer. *Med Hypotheses* 76;328-31.
- Ghalayini IF. 2004. Nitric oxide-cyclic GMP pathway with some emphasis on cavernosal contractility. *Int J Impot Res* 16;459-69.
- Gibbons DL, Byers LA , Kurie JM. 2014. Smoking, p53 mutation, and lung cancer. *Molecular cancer research : MCR* 12;3-13.
- Giles GI. 2006. The redox regulation of thiol dependent signaling pathways in cancer. *Curr Pharm Des* 12;4427-43.
- Giovanella L, Piantanida R, Ceriani L, et al. 1997. Immunoassay of neuron-specific enolase (NSE) and serum fragments of cytokeratin 19 (CYFRA 21.1) as tumor markers in small cell lung cancer: clinical evaluation and biological hypothesis. *Int J Biol Markers* 12;22-6.
- Gkiozos I, Tsagouli S, Charpidou A, et al. 2015. Levels of vascular endothelial growth factor in serum and pleural fluid are independent predictors of survival in advanced non-small cell lung cancer: results of a prospective study. *Anticancer Res* 35;1129-37.
- Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, et al. 2016. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Eighth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol* 11;39-51.
- Grunnet M , Sorensen JB. 2012. Carcinoembryonic antigen (CEA) as tumor marker in lung cancer. *Lung Cancer* 76;138-43.

- Gurz S. 2018. Diagnostic value of signal peptide-Complement C1r/C1s, Uegf, and Bmp1-epidermal growth factor domain-containing protein 1 on serum and tissue samples in non-small cell lung cancer. *The Turkish Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 26;246-53.
- Hammerschmidt S , Wirtz H. 2009. Lung cancer: current diagnosis and treatment. *Deutsches Arzteblatt international* 106;809-20.
- Hamra GB, Laden F, Cohen AJ, Raaschou-Nielsen O, Brauer M , Loomis D. 2015. Lung Cancer and Exposure to Nitrogen Dioxide and Traffic: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Environmental health perspectives* 123;1107-12.
- Hamutoglu R. 2017. The role of angiogenesis in physiological and pathological conditions. *Istanbul Bilim University Florence Nightingale Transplantation Journal* 2;56-62.
- Hanrahan EO, Ryan AJ, Mann H, et al. 2009. Baseline Vascular Endothelial Growth Factor Concentration as a Potential Predictive Marker of Benefit from Vandetanib in Non–Small Cell Lung Cancer. *Clinical Cancer Research* 15;3600.
- Hubbard MO, Fu P, Margevicius S, Dowlati A , Linden PA. 2012. Five-year survival does not equal cure in non–small cell lung cancer: A Surveillance, Epidemiology, and End Results–based analysis of variables affecting 10- to 18-year survival. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 143;1307-13.
- Inamura K. 2017. Lung Cancer: Understanding Its Molecular Pathology and the 2015 WHO Classification. *Frontiers in oncology* 7;193-.
- Isgro MA, Bottoni P , Scatena R. 2015. Neuron-Specific Enolase as a Biomarker: Biochemical and Clinical Aspects. *Adv Exp Med Biol* 867;125-43.
- Jacobs I , Bast RC, Jr. 1989. The CA 125 tumour-associated antigen: a review of the literature. *Hum Reprod* 4;1-12.
- Jose J, Pm S, Nirmal M , Susan S. 2013. CYFRA 21-1: AN OVERVIEW. *Oral & Maxillofacial Pathology Journal [OMPJ]* 4;368-71.
- Jurisc V, Radenkovic S , Konjevic G. 2015. The Actual Role of LDH as Tumor Marker, Biochemical and Clinical Aspects. *Adv Exp Med Biol* 867;115-24.
- Kanaji N, Watanabe N, Kita N, et al. 2014. Paraneoplastic syndromes associated with lung cancer. *World journal of clinical oncology* 5;197-223.
- Kanazawa H, Asai K, Hirata K , Yoshikawa J. 2003. Possible effects of vascular endothelial growth factor in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Med* 114;354-8.
- Kandathil A , Chamarthy M. 2018. Pulmonary vascular anatomy & anatomical variants. *Cardiovascular diagnosis and therapy* 8;201-7.
- Kaya A, Ciledag A, Gulbay BE, et al. 2004. The prognostic significance of vascular endothelial growth factor levels in sera of non-small cell lung cancer patients. *Respir Med* 98;632-6.

- Kemal Erbil M, Gulcan Kurt Y, Yaman H, Cakir E, Ozgur Akgul E , Cayci T. 2012. Metabolism of asymmetric dimethylarginine and its clinical significance. *Turkish Journal of Biochemistry* 37;99-105.
- Kisley LR, Barrett BS, Bauer AK, et al. 2002. Genetic ablation of inducible nitric oxide synthase decreases mouse lung tumorigenesis. *Cancer Res* 62;6850-6.
- Kopincová J, Púzszerová A , Bernátová I. 2011. Biochemical aspects of nitric oxide synthase feedback regulation by nitric oxide. *Interdisciplinary toxicology* 4;63-8.
- Kroncke KD, Fehsel K , Kolb-Bachofen V. 1995. Inducible nitric oxide synthase and its product nitric oxide, a small molecule with complex biological activities. *Biol Chem Hoppe Seyler* 376;327-43.
- Kuespert K, Pils S , Hauck CR. 2006. CEACAMs: their role in physiology and pathophysiology. *Curr Opin Cell Biol* 18;565-71.
- Kuo PC , Schroeder RA. 1995. The emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Annals of surgery* 221;220-35.
- Laack E, Scheffler A, Burkholder I, et al. 2005. Pretreatment vascular endothelial growth factor (VEGF) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) serum levels in patients with metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer* 50;51-8.
- Lai Y, Wang X, Zeng T, et al. 2018. Serum VEGF levels in the early diagnosis and severity assessment of non-small cell lung cancer. *J Cancer* 9;1538-47.
- Lam TK, Gallicchio L, Lindsley K, et al. 2009. Cruciferous vegetable consumption and lung cancer risk: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 18;184-95.
- Lee DS, Park KR, Kim SJ, et al. 2016. Serum lactate dehydrogenase levels at presentation in stage IV non-small cell lung cancer: predictive value of metastases and relation to survival outcomes. *Tumour Biol* 37;619-25.
- Li H, Zhou Y, Zhao A, et al. 2013. Asymmetric dimethylarginine attenuates serum starvation-induced apoptosis via suppression of the Fas (APO-1/CD95)/JNK (SAPK) pathway. *Cell Death Dis* 4;e830.
- Liberti MV , Locasale JW. 2016. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? *Trends in biochemical sciences* 41;211-8.
- Lissowska J, Bardin-Mikolajczak A, Fletcher T, et al. 2005. Lung cancer and indoor pollution from heating and cooking with solid fuels: the IARC international multicentre case-control study in Eastern/Central Europe and the United Kingdom. *Am J Epidemiol* 162;326-33.
- Luanpitpong S , Chanvorachote P. 2015. Nitric Oxide and Aggressive Behavior of Lung Cancer Cells. *Anticancer Res* 35;4585-92.
- Macallister RJ, Parry H, Kimoto M, et al. 1996. Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Br J Pharmacol* 119;1533-40.
- Malhotra J, Malvezzi M, Negri E, La Vecchia C , Boffetta P. 2016. Risk factors for lung cancer worldwide. *Eur Respir J* 48;889-902.

- Mansour H. 2013. Asymmetric Dimethylarginine and Nitric Oxide in Breast Cancer Patients. *Arab Journal of Nuclear Science and Applications* 46;278-86.
- Marrogi AJ, Travis WD, Welsh JA, et al. 2000. Nitric oxide synthase, cyclooxygenase 2, and vascular endothelial growth factor in the angiogenesis of non-small cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res* 6;4739-44.
- Masri FA, Comhair SA, Koeck T, et al. 2005. Abnormalities in nitric oxide and its derivatives in lung cancer. *American journal of respiratory and critical care medicine* 172;597-605.
- Mayne ST, Buenconsejo J, Janerich DT. 1999. Previous lung disease and risk of lung cancer among men and women nonsmokers. *Am J Epidemiol* 149;13-20.
- Meadows KL, Hurwitz HI. 2012. Anti-VEGF therapies in the clinic. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* 2;a006577.
- Meng Q, Shi S, Liang C, et al. 2017. Diagnostic and prognostic value of carcinoembryonic antigen in pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis. *OncoTargets and therapy* 10;4591-8.
- Menzel C, Dobert N, Hamscho N, et al. 2004. The influence of CA 125 and CEA levels on the results of (18)F-deoxyglucose positron emission tomography in suspected recurrence of epithelial ovarian cancer. *Strahlenther Onkol* 180;497-501.
- Molina R, Filella X, Auge JM, et al. 2003. Tumor markers (CEA, CA 125, CYFRA 21-1, SCC and NSE) in patients with non-small cell lung cancer as an aid in histological diagnosis and prognosis. Comparison with the main clinical and pathological prognostic factors. *Tumour Biol* 24;209-18.
- Murray JF. 2010. The structure and function of the lung. *Int J Tuberc Lung Dis* 14;391-6.
- Muto S, Takagi H, Owada Y, et al. 2017. Serum Nitric Oxide as a Predictive Biomarker for Bevacizumab in Non-small Cell Lung Cancer Patients. *Anticancer Res* 37;3169-74.
- Niklinska W, Burzykowski T, Chyczewski L, Niklinski J. 2001. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in non-small cell lung cancer (NSCLC): association with p53 gene mutation and prognosis. *Lung Cancer* 34 Suppl 2;S59-64.
- Nishida N, Yano H, Nishida T, Kamura T, Kojiro M. 2006. Angiogenesis in cancer. *Vascular health and risk management* 2;213-9.
- Numajiri N, Takasawa K, Nishiya T, et al. 2011. On-off system for PI3-kinase-Akt signaling through S-nitrosylation of phosphatase with sequence homology to tensin (PTEN). *Proc Natl Acad Sci U S A* 108;10349-54.
- Okamura K, Takayama K, Izumi M, Harada T, Furuyama K, Nakanishi Y. 2013. Diagnostic value of CEA and CYFRA 21-1 tumor markers in primary lung cancer. *Lung Cancer* 80;45-9.
- Paige JS, Jaffrey SR. 2007. Pharmacologic manipulation of nitric oxide signaling: targeting NOS dimerization and protein-protein interactions. *Curr Top Med Chem* 7;97-114.

- Papaioannou AI, Kostikas K, Kollia P , Gourgoulisanis KI. 2006. Clinical implications for vascular endothelial growth factor in the lung: friend or foe? *Respir Res* 7;128.
- Park SH , Lee SS. 2003. The relationship between serum VEGF concentration and prognosis of lung cancer. *The Korean journal of internal medicine* 18;207-11.
- Patankar MS, Jing Y, Morrison JC, et al. 2005. Potent suppression of natural killer cell response mediated by the ovarian tumor marker CA125. *Gynecologic Oncology* 99;704-13.
- Patwa A , Shah A. 2015. Anatomy and physiology of respiratory system relevant to anaesthesia. *Indian journal of anaesthesia* 59;533-41.
- Pavlopoulou A , Scorilas A. 2014. A Comprehensive Phylogenetic and Structural Analysis of the Carcinoembryonic Antigen (CEA) Gene Family. *Genome Biology and Evolution* 6;1314-26.
- Plummer M, De Martel C, Vignat J, Ferlay J, Bray F , Franceschi S. 2016. Global burden of cancers attributable to infections in 2012: a synthetic analysis. *Lancet Glob Health* 4;e609-16.
- Pommier Y, Sordet O, Antony S, Hayward RL , Kohn KW. 2004. Apoptosis defects and chemotherapy resistance: molecular interaction maps and networks. *Oncogene* 23;2934-49.
- Pujol JL, Molinier O, Ebert W, et al. 2004. CYFRA 21-1 is a prognostic determinant in non-small-cell lung cancer: results of a meta-analysis in 2063 patients. *Br J Cancer* 90;2097-105.
- Reddy KRK, Dasari C, Duscharla D, et al. 2018. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase-1 (DDAH1) is frequently upregulated in prostate cancer, and its overexpression conveys tumor growth and angiogenesis by metabolizing asymmetric dimethylarginine (ADMA). 21;79-94.
- Ridge CA, Mcerlean AM , Ginsberg MS. 2013. Epidemiology of lung cancer. *Seminars in interventional radiology* 30;93-8.
- Rokicki W, Rokicki M, Wojtacha J , Dzeljijli A. 2016. The role and importance of club cells (Clara cells) in the pathogenesis of some respiratory diseases. *Kardiochirurgia i torakochirurgia polska = Polish journal of cardio-thoracic surgery* 13;26-30.
- Rota M, Bosetti C, Boccia S, Boffetta P , La Vecchia C. 2014. Occupational exposures to polycyclic aromatic hydrocarbons and respiratory and urinary tract cancers: an updated systematic review and a meta-analysis to 2014. *Arch Toxicol* 88;1479-90.
- Rubin SA. 1991. Lung cancer: past, present, and future. *J Thorac Imaging* 7;1-8.
- Saglam DA, Ursavas A, Karadag M, Yilmaztepe Oral A, Coskun F , Gozu RO. 2008. [The evaluation to relationship between serum vascular endothelial growth factor (VEGF) level, metastases and other tumor markers in patients with lung cancer]. *Tuberk Toraks* 56;50-5.

- Shang ZJ, Li JR , Li ZB. 2002. Circulating levels of vascular endothelial growth factor in patients with oral squamous cell carcinoma. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 31;495-8.
- Shimanuki Y, Takahashi K, Cui R, et al. 2005. Role of serum vascular endothelial growth factor in the prediction of angiogenesis and prognosis for non-small cell lung cancer. *Lung* 183;29-42.
- Shiozawa T, Iyama S, Toshima S, et al. 2016. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2 promotes tumor angiogenesis in lung adenocarcinoma. *Virchows Arch* 468;179-90.
- Shweiki D, Itin A, Soffer D , Keshet E. 1992. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature* 359;843-5.
- Siegel RL , Miller KD. 2019. Cancer statistics, 2019. 69;7-34.
- Spiro SG , Porter JC. 2002. Lung cancer--where are we today? Current advances in staging and nonsurgical treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 166;1166-96.
- Stieber P, Hatz R, Holdenrieder S, et al. 2006. National Academy of Clinical Biochemistry Guidelines for the Use of Tumor Markers in Lung Cancer. *Tumor Biology* 27.
- Stuehr DJ , Marletta MA. 1985. Mammalian nitrate biosynthesis: mouse macrophages produce nitrite and nitrate in response to Escherichia coli lipopolysaccharide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 82;7738-42.
- Suwinski R, Giglok M, Galwas-Kliber K, et al. 2019. Blood serum proteins as biomarkers for prediction of survival, locoregional control and distant metastasis rate in radiotherapy and radio-chemotherapy for non-small cell lung cancer. *BMC Cancer* 19;427.
- Takigawa N, Segawa Y, Fujimoto N, Hotta K , Eguchi K. 1998. Elevated vascular endothelial growth factor levels in sera of patients with lung cancer. *Anticancer Res* 18;1251-4.
- Talhout R, Schulz T, Florek E, Van Benthem J, Wester P , Opperhuizen A. 2011. Hazardous compounds in tobacco smoke. *International journal of environmental research and public health* 8;613-28.
- Tammela T, Enholm B, Alitalo K , Paavonen K. 2005. The biology of vascular endothelial growth factors. *Cardiovascular Research* 65;550-63.
- Tamura M, Ohta Y, Kajita T, et al. 2001. Plasma VEGF concentration can predict the tumor angiogenic capacity in non-small cell lung cancer. *Oncol Rep* 8;1097-102.
- Tomita M, Shimizu T, Ayabe T, Yonei A , Onitsuka T. 2010. Prognostic significance of tumour marker index based on preoperative CEA and CYFRA 21-1 in non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 30;3099-102.
- Vallance P , Leiper J. 2004. Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine:dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24;1023-30.

- Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J , Moncada S. 1992. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 339;572-5.
- Vineis P, Alavanja M, Buffler P, et al. 2004. Tobacco and cancer: recent epidemiological evidence. *J Natl Cancer Inst* 96;99-106.
- Wright JL , Churg AM. 2012. Chapter 1 - Macro and Micro Structure of the Lung*. In: Spiro, SG, Silvestri, GA, Agustí, A, editors. *Clinical Respiratory Medicine* (Fourth Edition). Philadelphia: W.B. Saunders; p. 1-6.
- Wu LX, Li XF, Chen HF, et al. 2018. Combined detection of CEA and CA125 for the diagnosis for lung cancer: A meta-analysis. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 64;67-70.
- Yasufuku K. 2010. Early diagnosis of lung cancer. *Clin Chest Med* 31;39-47, Table of Contents.
- Yoon JY, Lee J-D, Joo SW , Kang DR. 2016. Indoor radon exposure and lung cancer: a review of ecological studies. *Annals of occupational and environmental medicine* 28;15-.
- Zamay TN, Zamay GS, Kolovskaya OS, et al. 2017. Current and Prospective Protein Biomarkers of Lung Cancer. *Cancers* 9;155.
- Zhan P, Wang J, Lv X-J, et al. 2009. Prognostic Value of Vascular Endothelial Growth Factor Expression in Patients with Lung Cancer: A Systematic Review with Meta-Analysis. *Journal of Thoracic Oncology* 4;1094-103.
- Zhang X, Guo M, Fan J, et al. 2016. Prognostic significance of serum LDH in small cell lung cancer: A systematic review with meta-analysis. *Cancer Biomark* 16;415-23.

ÖZET

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanserinin Erken Tanısında Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Rolü

Esra PAYDAŞ HATAYSA

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV

UZMANLIK TEZİ/KONYA-2019

Akciğer kanseri, dünya genelinde en yaygın kanserlerden birisidir ve % 80-85'ini küçük hücre dışı akciğer kanseri (KHDAK) oluşturmaktadır. KHDAK vakalarının büyük çoğunluğuna, kısıtlı tedavi seçeneği bulunan ve yüksek mortaliteye neden olan ileri evrede tanı konulmaktadır. Tanı ve tarama testlerinin kısıtlı olması ve erken teşhis için etkili biyobelirteçler olmaması nedeniyle, KHDAK'li hastaların sadece % 12-18'i küratif tedavi şansı bulunan erken evrede teşhis edilmektedir. Tüm bu nedenlerden dolayı, KHDAK taraması ve erken teşhis için güvenilir ve invazif olmayan araçlar geliştirmek önemli hale gelmiştir.

Anjiyogenez mevcut kan damarlarından yeni kılcal damarların oluşumudur. Anjiyogenez, tümör ilerlemesi için bir ön koşuldur ve bir dizi büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından büyük ölçüde düzenlenir. Asimetrik dimetil arjinin, endotelden nitrik oksit (NO) sentezini sağlayan endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS)'ın endojen bir inhibitörüdür ve endotelial disfonksiyon, lokal vazospazma neden olur. NO, vazodilatasyonu uyarmasının yanında trombositlerin agregasyon ve adezyonunu inhibe eder. NO vasküler geçirgenliği artırır, endotel hücre proliferasyonunu ve göçünü indükler ve vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) ekspresyonunu uyarırken, anjiyojenik etkilerinin çoğuna aracılık eder. Biz çalışmamızda VEGF, ADMA, NO, CEA, NSE, CA-125, Cyfra-21.1, LDH düzeylerini KHDAK erken tanısında, tümör invazyonunda ve evrelemede güvenilirliğini test etmeyi amaçladık.

Çalışmamız, 07.11.2018 - 01.05.2019 tarihleri arasında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesine başvuran 32 sağlıklı kontrol ve 56 KHDAK vakasını kapsamaktadır. Kronik hastalığı veya enflamatuvar hastalığı bulunan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. CEA, Cyfra21-1, CA125 ve NSE düzeyleri elektrokemilüminesans immünolojik yöntemle (ECLIA), LDH düzeyleri spektrofotometrik yöntemle Beckman Coulter Au5800 otoanalizöründe analiz edilmiştir. Serum ADMA ve Arginin düzeyleri API 3200 LC-MS/MS , serum VEGF ve NO düzeyleri ise ELİSA yöntemiyle belirlenmiştir. Veri analizi, R İstatistik yazılımı kullanılarak yapıldı.

Çalışmamızda, kontrol grubu ile KHDAK hasta grubu karşılaştırıldığında, serum VEGF, NO, ADMA, CA-125, CEA, Cyfra21-1 ve NSE düzeyleri KHDAK'de yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0,001$, $p=0,013$, $p=0,041$, $p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,001$ ve $p=0,001$). Ayrıca, Erken evre KHDAK hasta grubunda, serum CA125, CEA ve Cyfra21-1 düzeyleri sağlıklı kontrol grubundan yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0,002$, $p=0,002$ ve $p=0,001$). VEGF, CA125, CEA ve Cyfra21-1 kombinasyonu, % 73 duyarlılık ve % 100 özgüllük ile KHDAK tanısında kuvvetli etkinlik göstermiştir.

Serum VEGF, Cyfra21-1, CEA ve CA125 seviyeleri, KHDAK tanısında yüksek hassasiyet ve özgüllük sergilemiştir ve bu nedenle KHDAK teşhisinde yararlı biyobelirteçler olabilirler.

Anahtar kelimeler: Akciğer kanseri, VEGF, erken tanı, Cyfra21-1, CA125

SUMMARY

SELÇUK UNIVERSITY MEDICINE FACULTY

The Effectiveness of Several Biochemical Parameters in Early Diagnosis of Non-Small Cell Lung Cancer

Esra PAYDAŞ HATAYSAL

Department of Medical Biochemistry

Consultant : Associate Professor Dr. Hüsametttin VATANSEV

Specialization Thesis in Medicine / KONYA-2019

Lung cancer is one of the most common cancer worldwide and about 80-85 % of them are diagnosed as non-small-cell lung cancer (NSCLC). The majority of NSCLC patients are diagnosed with advanced disease which causes high mortality and limited therapy. Because of limited diagnostic possibilities, screening tests and lack of effective biomarkers for early detection, only 12-18 % of patients with NSCLC are diagnosed at early stage that offers curative treatments. For all these reasons, there is an urgent demand for developing accurate and non-invasive tools for non-small-cell lung cancer screening and early detection.

Angiogenesis is the formation of new capillaries from existing blood vessels. Angiogenesis is a prerequisite for neoplasm progression. Angiogenesis is also largely regulated by growth factors and cytokines. Asymmetric Dimethyl Arginine (ADMA) is an endogenous inhibitor of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and reduces nitric oxide (NO) release from the endothelium, and causes endothelial dysfunction and local vasospasm. In addition to inducing vasodilatation, NO inhibits aggregation and adhesion of platelets. NO increases vascular permeability induces endothelial cell proliferation and migration and mediates most of its angiogenic effects while stimulating the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF). The aim of this study was to find out reliability of serum ADMA, NO, VEGF, CEA, CA-125, NSE, Cyfra 21-1 and LDH levels in patients with non small cell lung cancer in the early diagnosis, neoplasm invasion and staging of lung cancer.

In our study, serum samples were collected from 32 healthy control and 56 patients with NSCLC, who apply to the Selçuk University Medicine Faculty between in 07.11.2018 - 01.05.2019. Patients with chronic disease and inflammatory disorders were excluded. CEA, Cyfra21-1, CA125 and NSE levels were measured by electrochemiluminescence immunological methods (ECLIA) , LDH levels were analyzed in Beckman Coulter Au5800 autoanalyzer with spectrophotometric method. The analysis of serum ADMA, and Arginine levels was performed on API 3200 LC-MS/MS system mass spectrometer matched with Shimadzu LC20AD high performance liquid chromatography. Serum VEGF and NO levels were assayed via enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Data analysis was performed using R Statistical Software.

In our study, compared to the control group, serum VEGF, NO, ADMA, CA-125, CEA, Cyfra21-1 and NSE levels were significantly higher in NSCLC group ($p=0.001$, $p=0.013$, $p=0.041$, $p<0.001$, $p<0.001$ and $p=0.001$, respectively). Serum CA125, CEA and Cyfra21-1 levels were found to be higher in the early stage NSCLC patient group than in healthy subjects ($p= 0.002$, $p= 0.002$ and $p= 0.001$, respectively). The combination of VEGF, CA125, CEA and Cyfra21-1 showed a strong efficacy in the diagnosis of NSCLC with 73% sensitivity and 100% specificity.

The serum VEGF, Cyfra21-1, CEA and CA125 levels exhibited relatively high sensitivity and specificity for NSCLC, and may therefore be a useful diagnostic biomarkers.

Key words: Lung cancer, VEGF, early diagnosis, Cyfra21-1, CA125

EKLER

Ek.1.Etik Kurul Onay Belgesi



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARARLARI

Toplantı Sayısı: 2018/21

Toplantı Tarihi : 07.11.2018

Karar Sayısı 2018/381 S.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Hüsamettin VATANSEV'in "Küçük Hücre Dışı Akciğer kanserinin erken tanısında bazı biyokimyasal parametrelerin rolü" başlıklı araştırmasının değerlendirilme talebi ile ilgili 23.10.2018 tarihli dilekçesi ve ekleri görüşüldü.

Yapılan inceleme ve görüşmelerden sonra; Doç.Dr.Hüsamettin VATANSEV'in "Küçük Hücre Dışı Akciğer kanserinin erken tanısında bazı biyokimyasal parametrelerin rolü" adlı araştırmasının kabulüne oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR
07/11/2018
S.Selcen ÇELİK
Sekreteryä

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: Esra PAYDAŞ HATAYSA

Doğum Tarihi: 12.09.1990

Doğum Yeri: Kayseri-Kocasinan

E-posta: dr.esrapaydas@hotmail.com

Adresi: Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.

Eğitim

Lise: Nuh Mehmet Küçükçalık Anadolu Lisesi, 2008

Lisans, mezuniyet yılı: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2015

Uzmanlık: Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Yabancı Dil

İngilizce (YDS:93,75)

Almanca (Telc-B2)