

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Ahmet Muzaffer DEMİR

**İLERİ EVRE KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER
KANSERİNDE, PLAZMA VASKÜLER ENDOTELYAL
BÜYÜME FAKTÖRLERİ VE TROMBOSİT FAKTÖR 4
DÜZEYLERİNİN PROGNOSTİK ÖNEMİ VE
SAĞKALIM SÜRELERİ İLE İLİŞKİSİ**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Volkan DEMİR

EDİRNE-2008

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde katkıları bulunan tüm hocalarıma, bilgi ve tecrübesinden yararlandığım tez danışmanım Prof. Dr. Ahmet Muzaffer Demir'e, tez yardımcı danışman hocam Prof. Dr. Tuncay Çağlar'a, tez aşamasındaki katkılarından dolayı Doç. Dr. Gülsüm Emel Pamuk'a ve Uzm. Dr. İrfan Çiçin'e, tüm çalışma arkadaşlarıma, Hematoloji laboratuvarı çalışanlarına ve sevgili eşime teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
AKCİĞER KANSERİ.....	3
ANJİOGENEZİN TEMEL MOLEKÜLER MEKANİZMALARI VE	
TÜMÖR ANJİOGENEZİ.....	6
VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ AİLESİ.....	11
KEMOKİNLER VE TROMBOSİT FAKTÖR 4.....	16
AKCİĞER KANSERİNDEKİ ANJİOGENEZDE VEGF VE TF4'ÜN	
ROLÜ	20
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	24
BULGULAR.....	28
TARTIŞMA.....	45
SONUÇLAR.....	54
ÖZET.....	56
SUMMARY.....	58
KAYNAKLAR.....	60
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

CRP	: C - reaktif protein
ECM	: Ekstraselüler matriks
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
flk	: fetal liver kinase
flt	: fms - like tyrosine kinase
HGF	: Hepatosit büyüme faktörü
ICAM-1	: İntraselüler adhezyon molekülü-1
IL	: İnterlökin
kDa	: kiloDalton
KHDAK	: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri
KHAK	: Küçük hücreli akciğer kanseri
LDH	: Laktat dehidrogenaz
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
pg	: pikogram
PGI2	: Prostoglandin I2
TF-4	: Trombosit faktör - 4
TG	: Thromboglobulin
TGF	: Transforme edici büyüme faktörü
VCAM-1	: Vasküler hücre adhezyon molekülü-1
VEGF	: Vasküler endotelial büyüme faktörü

GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde kanser ekonomik ve sosyal boyutuyla dünyadaki en önemli sağlık sorunlarından birini oluşturmaktadır. Sıklığında, morbidite ve mortalitesinde belirgin bir artış gözlenmektedir. Gelişmiş ülkelerdeki verilere bakıldığında ölüme yol açan nedenler arasında kalp ve damar hastalıklarından sonra ikinci sırayı almakta ve tüm ölümlerin yaklaşık %28'ini oluşturmaktadır (1). Akciğer kanseri, dünyadaki kanser ölümleri arasında birinci sıradadır (2). Tüm akciğer kanserlerinin %85'den fazlasını küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) oluşturmaktadır (3). İleri evre akciğer kanserli hastalarda mevcut tüm yeni tedavi modellerine karşın hastalığın kontrolü son derece zordur. Yapılan bir çalışmada, ileri evre KHDAK ilk seçim tedavisinde standart yaklaşım olarak uygulanan platinli rejim ile yeni kuşak kombine tedavi uygulamaları arasında yanıt oranı ve sağkalım açısından (medyan sağkalım 7,9 ay, 1 yıllık sağkalım %33) fark olmadığı ve tedavideki tüm gelişmelere rağmen, sağkalımda yaklaşık 2 ay gibi sınırlı bir fayda sağlanabildiği gösterilmiştir (4). Yeni etkin tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi, kanserli hücrenin davranış ve biyolojisinin anlaşılması ile ilişkilidir. Bu nedenle, son yıllarda akciğer kanseri moleküler biyolojisindeki çalışmalara hız verilmiş ve bu konuda önemli bir bilgi birikimi sağlanmıştır.

Yeni damar yapımı (neoanjiogenez, neovaskülarizasyon) vücutta fizyolojik olarak yara iyileşmesi, embriyogenez, menstrüel siklus vb. durumlarda söz konusudur. Ancak kontrolsüz anjiogenez başta tümör büyümesi ve tümör metastazı olmak üzere, inflamatuvar hastalıklar, kronik inflamasyon, proliferatif retinopati gibi birçok patolojik olayda rol oynar (5,6). Anjiogenez, tümör büyümesi ve ilerlemesi için gereklidir ve neoplastik süreçteki en önemli olaylardan biridir (7). Anjiogenik moleküller içinde en önemlisi ve üzerinde en çok durulan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)'dür (8). Vücutta her homeostatik sistemde

olduğu gibi anjiogenezin de doğal inhibitörleri mevcuttur ve anjiogenez, aktivatörlerin/inhibitörlerin arasındaki dengeye bağlı olarak aktive veya inhibe olmaktadır (9). Doğal antianjiogenik moleküller içinde Trombosit Faktör 4 (TF4) üzerinde çalışılan bir moleküldür (10). Anjiogenez sürecinde yer alan moleküllerin ana kaynağı halen tartışmalıdır. Tümör hücreleri dışında; lökositler, makrofajlar gibi inflamatuvar hücreler ve trombositler ile fibroblastlarında anjiogenik ve antianjiogenik molekülleri ihtiva ettiği ve salgıladığı gösterilmiştir (11).

Sonuç olarak, son yıllarda kanser tedavisi için yapılan araştırmalarda tümör çoğalması ve metastazının mekanizmalarının anlaşılması için uğraşılmakta ve bu mekanizmaları hedef alan tedaviler geliştirilmeye çalışılmaktadır (12). Anti-anjiogenik tedavide bu görüşle ortaya atılmış, gerek tek başlarına gerekse geleneksel tedavilere ek olarak kullanılmaya başlanmış ve yan etkilerinin klasik ilaçlara göre az olmasıyla kanser tedavisinde önemli bir yer bulmuştur (13). Günümüzde yeni ve daha etkili ajanların kullanıma girmesiyle kanser tedavisinde önemli adımlar atılmış olacaktır. Bu nedenle tümörün damarlanma miktarı, damar oluşturma yeteneği ve in vivo ortamda anjiogenik ve antianjiogenik faktörlerin dengesinin bilinmesi gelecekte akciğer kanseri gibi tümörlerde yeni bir tedavi seçeneği gündeme getirecektir.

Bu çalışmanın temel amaçları:

1) KHDAK'li hastalarda, tedavi öncesi in vivo ortamda anjiogenik ve antianjiogenik moleküllerin plazma düzeylerinin belirlenip, tedavi öncesindeki değerlerin ve oluşturulacak basit bir anjiogenik/antianjiogenik oranın KHDAK'de prognostik öneminin saptanmasıdır.

[Bu amaçla, KHDAK'li hastalarda tedavi öncesi VEGF-A (human VEGF veya VEGF olarakta isimlendirilmektedir), VEGF-C (VEGF ailesinin bir üyesi olup lenfanjiogeneziste rolü olduğu düşünülmektedir), TF4 plazma düzeylerinin ve VEGF-A/TF4, VEGF-C/TF4 ve VEGF-A/VEGF-C arasında oluşturulacak basit bir anjiogenik oranın sağ kalım süreleri üzerine olan etkisini araştırdık].

2) KHDAK'de, tedavi öncesi VEGF-A, VEGF-C ve TF4 plazma değerlerinin metastaz durumu ve tedavi yanıtı ile ilişkisini belirlemektir.

3) Tümör dışı kaynaklarının olduğu da bilinen, VEGF-A, VEGF-C ve TF4 plazma düzeylerinin, KHDAK'li hastaların tedavi öncesindeki trombosit sayısı, ortalama trombosit hacmi (MPV) ve lökosit sayısı, LDH , CRP gibi inflamatuvar belirteçler ile olan ilişkisini saptayabilmektir.

GENEL BİLGİLER

AKCİĞER KANSERİ

Epidemiyoloji

Akciğer kanseri 20. yüzyılın başlarında nadir görülen bir hastalık iken günümüzde erkeklerde ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Kadınlarda da sıklığı giderek artmaktadır. Çoğu kanser türünde ölüm oranlarında azalma varken, akciğer kanseri dünya çapında epidemi yapmıştır. Dünyada tüm kanser olgularının %12.8'ini, kanser ölümlerinin %17.8'ini akciğer kanseri oluşturur. Tüm dünyada global olarak insidans her yıl % 0,5 artmaktadır (14). Ülkemizde istatistiksel veriler güvenilir olmamakla birlikte, Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Dairesi'nin 1999 yılında yayınladığı, tüm sağlık kuruluşlarında tanı alan kanser olgularının kaydedildiği pasif kanser kayıt sistemi verilerine göre, akciğer kanseri erkeklerde % 29.38 ile tüm kanserler arasında birinci, kadınlarda % 4.07 ile 5. sırada olup, insidansı erkeklerde 14.19/100.000, kadınlarda 1.24/100.000'tür (15).

Etiyolojik Etmenler

1-Sigara (%94):Akciğer kanseri ve sigara ilişkisi tüm kanserler arasında en net şekilde belirlenmiş olanıdır. Sigara kullananlarda bronş karsinomu gelişme riskini etkileyen faktörler sigara içme süresi, başlama yaşı, içilen sigara tipi ve günlük tüketilen sigara sayısıdır. Sigara kullanım öyküsü paket/yıl olarak belirlenir ve özellikle 20 paket/yıl dan sonra göreceli risk belirgin olarak artış gösterir (16).

2-Çevresel etmenler:Atmosfer kirliliği, biyolojik yakıt, radon gazı (sigaradan sonra en önemli faktör), asbestoz, kimyasal ürünler (böcek ilaçları, formaldehid) .etken olarak gösterilmiştir (17).

3-Mesleki karsinojenler:İyonize radyasyon, asbest, krom, kadmiyum, nikel.

4-Besin maddeleri:Vitamin A ve β -karotenden fakir diyet, yüksek yağlı diyet .

5-Akciğer hastalıkları:Tüberküloz, bronşektazi, pnömoni, abse, pulmoner emboli, interstisiyel akciğer hastalıkları.

6-Genetik yatkınlık: Tüm sigara içicilerinin %10-20'sinde akciğer kanseri gelişimi genetik yatkınlığın önemine işaret etmektedir (18). Akciğer kanserli hastaların hem sigara içen hem de içmeyen akrabalarında akciğer kanseri riski 2.4 kat artmıştır (19). Artmış ailesel riskin; yaş, cinsiyet, mesleksel maruziyet ve sigara içiciliğinden bağımsız olduğu ve akciğer kanserine predispozisyon yaratan nadir bir otozomal genin Mendelyen kodominant kalıtımı ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (20). Karsinogenez çok basamaklı bir süreçte değişik karsinojenlerin (kimyasal, fiziksel ve viral) etkisiyle oluşan genetik ve epigenetik hasarlanmalarla gerçekleşir. Klinik olarak akciğer kanseri gelişene dek 10-20 adet genetik hasarın olduğu bilinmektedir (21).

Patoloji

Başlıca dört histolojik tipte akciğer kanseri bulunmaktadır. Skuamöz hücreli, adenokanser, büyük hücreli indifferensiye ve KHAK olarak sınıflandırılmaktadır. Tedavi kararı alınırken çoğu kez ilk üç tip bir kategoriye sokulup KHDAK olarak sınıflandırılmaktadır. Bu şekilde KHAK bu gruptan ayrılır. Bazı olgularda bu histolojik tipler kombine olarak bulunabilirler (Tablo 1) (22).

Tablo 1. Akciğer kanseri histolojik sınıflaması ve yaklaşık insidansı (22)

A. Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (KHDAK) (%70-75)
1. Skuamöz hücreli kanser (%25- 30)
2. Adenokanser (Bronkoalveoler kanser dahil) (%30-35)
3. Büyük hücreli kanser (%10-15)
B. Küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) (%20-25)
C. Kombine tipler (%5-10)
Mikst skuamöz hücreli adenokanser
Mikst skuamöz hücreli ve KHAK

Evreleme

Akciğer kanseri tanısı konduktan sonra, hastaların prognozları hakkında sağlıklı bir yaklaşımda bulunmak, en etkili tedavi yöntemini belirleyebilmek ve alınan tedavi sonuçlarının bilimsel kıyaslamasını yapabilmek için, hastalığın anatomik yaygınlığının saptanması yani evrelendirilmesi gerekir. KHDAK evrelemesi için, primer tümörün büyüklüğü ve yayımına (T), bölgesel lenf bezi tutulumuna (N), uzak metastaz varlığına (M) dayanan TNM sınıflaması yapılmıştır (Tablo 2) (23). TNM sınıflamasına göre hastalar 0' dan 4 'e kadar evrelere ayrılmıştır (Tablo 3) (23).

Tablo 2. Akciğer kanserinde uluslararası TNM sınıflaması (23)

PRİMER TÜMÖR (T)
T0: Primer tümör saptanmaması.
Tx: Radyolojik ve bronkoskopik olarak saptanamayan fakat bronkopulmoner sekresyonlarda malign hücre bulunması.
Tis: İn situ kanser.
T₁: En büyük çapı 3 cm veya daha az olan, akciğer parankimi veya visseral plevra ile çevrilmiş ve bronkoskopik olarak lob bronşunu invaze etmemiş olan tümör.
T₂: 3 cm'den büyük tümör veya herhangi bir büyüklükteki bir tümörün visseral plevraya yayılması veya hiler bölgeye kadar genişleyen atelektazi ve obstrüktif pnömoniye neden olması. Bronkoskopik incelemede karinadan en az 2 cm daha uzakta olan tümör.
T₃: Herhangi büyüklükte bir tümörün, göğüs duvarı (superior sulkus tümörleri dahil), diyafragma, mediastinal plevra, pariyetal perikarda yayılması veya tüm akciğeri kapsayan atelektazi veya obstrüktif pnömoniye neden olması veya bronkoskopik incelemede karinaya 2 cm'den yakın fakat karinaya ulaşmamış tümör.
T₄: Herhangi büyüklükteki tümörün mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, özafagus, vertebra, karinaya yayılması veya malign plevra ve perikard sıvısı saptanması veya akciğerin aynı lobunda birden fazla neoplastik nodül bulunması.
NODAL TUTULUM (N)
N₀: Bölgesel lenf nodlarında metastaz olmaması.
N₁: Aynı taraf peribronşiyal ve/veya hiler lenf bezlerinde metastaz veya direkt yayılım olması.
N₂: Aynı taraf mediastinal ve/veya subkarinal lenf bezlerinde metastaz olması.
N₃: Karşı taraf hiler veya mediastinal lenf bezlerinde metastaz saptanması, aynı taraf veya karşı taraf skalen veya supraklavikuler lenf bezlerinde metastaz olması.
UZAK METASTAZ (M)
M₀: Uzak metastazın olmaması.
M₁: Uzak metastazın olması.

Tablo 3. TNM sınıflamasına göre evrelendirme (23)

Evre 0	Karsinoma in situ (Tis N0 M0)		
Evre IA	T1	N0	M0
Evre IB	T2	N0	M0
Evre IIA	T1	N1	M0
Evre IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Evre IIIA	T3	N1	M0
	T1-2-3	N2	M0
Evre IIIB	T4	N	M0
	T	N3	M0
Evre IV	T	N	M1

Tedavi hastalığın evresi ve hastanın performans durumu göz önüne alınarak planlanmalıdır. Evre sağkalımı belirleyen en önemli faktördür (Tablo 4) (24). KHDAK' li hastalarda biyopsi ile saptanan metastazlar bir çalışmada sıklık sırasına göre kemik, karaciğer, beyin, adrenal, karşı akciğer olarak bulunmuştur (25).

Tablo 4. Evrelere göre sağkalım oranları (aylara göre yüzdeler) (24)

Klinik Evre	12 ay	24 ay	36 ay	48 ay	60 ay
Evre I	70-90	54-79	46-71	41-67	38-61
Evre II	59-79	41-49	33-38	26-34	24-34
Evre IIIA	50	25	18	14	13
Evre IIIB	34	13	7	6	5
Evre IV	19	6	2	2	1

ANJİOGENEZİN TEMEL MOLEKÜLER MEKANİZMALARI VE TÜMÖR ANJİOGENEZİ

Anjiogenez oldukça karmaşık bir mekanizma ile gerçekleşir. Ekstraselüler matriks ve matriksi çevreleyen hücrelerden salınan pek çok büyüme faktörü, sitokinler ve bunların reseptörleri anjiogenezde temel rol oynarlar (26,27). Endotel hücreleri, anjiogenez süreci içinde rol oynayan ana hücrelerden biridir (28). Anjiogenez sürecinde yer alan moleküller,

tümör hücreleri, monosit, makrofaj, fibroblast, mast hücresi, trombosit gibi ortamdaki diğer hücrelerden kaynaklanır veya kollajen matriksin yıkımı sonrasında açığa çıkarlar (29). Henüz tüm anjiogenik etkileşimlerin niteliği açıklığa kavuşmamıştır. En büyük olasılık anjiogenik uyarıcılar ve anjiogenez inhibitörleri arasındaki dengenin, normalde damarsal bileşenlerin sessiz halde kalmalarını sağlıyor olmasıdır. Anjiogenik uyarıların artışı ve anjiogenez inhibitörlerinin azalışı anjiogenezi başlatmaktadır (30,31). Temel anjiogenik ve antianjiogenik faktörler Tablo 5’de gösterilmektedir (32-34).

Tablo 5. Temel anjiogenik ve antianjiogenik moleküller (32-34)

Anjiogenez uyarıcıları	Anjiogenez inhibitörleri
VEGF-A	Plasminojen
VEGF-C	Trombospondin
Fibroblast büyüme faktörü (FGF)	Fibronectin
Anjiopietin-1	Alfa- 2 antiplasmin
Anjiogenin	β -thromboglobulin
Hepatosit büyüme faktörü (HGF)	Endostatin
İnsülin benzeri büyüme faktörü -1 (IGF-1)	Trombosit faktör 4 (TF4)
Epitelial büyüme faktörü (EGF)	İnterlökin 1ve 12 (IL1-IL12)
Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri(PDGF)	Doku metalloproteinaz inhibitörleri
Tümör nekrozis faktör α (TNF α)	İnterferon α , β , γ
Plasental büyüme faktörü (PGF)	Heparin
İnterlökin 6 ve 8 (IL6-IL8)	Epidermal büyüme faktörü fragmanı
Transforming growth faktörleri (TGF α - β)	Antitrombin III fragmanı
Bradikinin ve türevleri	Prolaktin
İnsülin	Retinoik asit
Tiroid hormonları	Kortikosteroidler
Eksrasellüler matriks proteinleri	Tip-1 kollajen peptidleri
Leptin	Tümör nekrozis faktör α (TNF α)
Glikozaminoglikanlar (GAG)	ELR negatif kemokinler
Doku faktörü	
Nitrik oksid (NO)	
Eritropoietin	
ELR pozitif kemokinler	

ELR: glutamik asid – lösin- arginin

Yeni damar oluşumu aşağıda belirtilen olayları kapsayan çok basamaklı bir süreçtir:

Bazal Membranın Proteolitik Enzimler Tarafından Yıkılması

Anjiyogenez süreci damar endotelini döşeyen kolajen, laminin gibi glikoproteinlerden ve heparan sülfat gibi proteoglikanlardan oluşan bazal membranın proteolitik yıkımı ile başlar (35). Endotel hücreleri göç etmek ve çoğalmak üzere uyarıldığında membran ve hücreler arasında bir bölünme meydana gelir. Normalde, endotel hücreleri yayılma etkisi göstermeyen tek bir tabaka oluştururlar. Ancak anjiyogenez sırasında çoğalıp yayılma gösterirler. Normal, hastalıklı ya da hasarlı dokularda üretilip salgılanan anjiogenik büyüme faktörleri komşu dokulara difüzyon yolu ile geçer. Anjiogenik büyüme faktörleri yakınındaki önceden var olan kan damarlarının endotel hücrelerinde bulunan özgün reseptörlere bağlanırlar. Büyüme faktörleri tarafından aktive edilen proteolitik enzimler bazal membranın ve endotel hücrelerini döşeyen ekstraselüler matriks (ECM) bileşenlerinin yıkımına neden olur. ECM'nin enzimatik yıkılımını, endotel hücrelerinin uyarılması ve kapiller filizlenme izler (36). Endotel hücrelerinin invazyon ve göç süreçleri, plazminojen aktivatör (PA) ve matriks metaloproteinaz (MMP) sisteminin işbirliği içinde aktive olmasını gerektirir.

Endotel Hücrelerinde Göçme ve Çoğalma

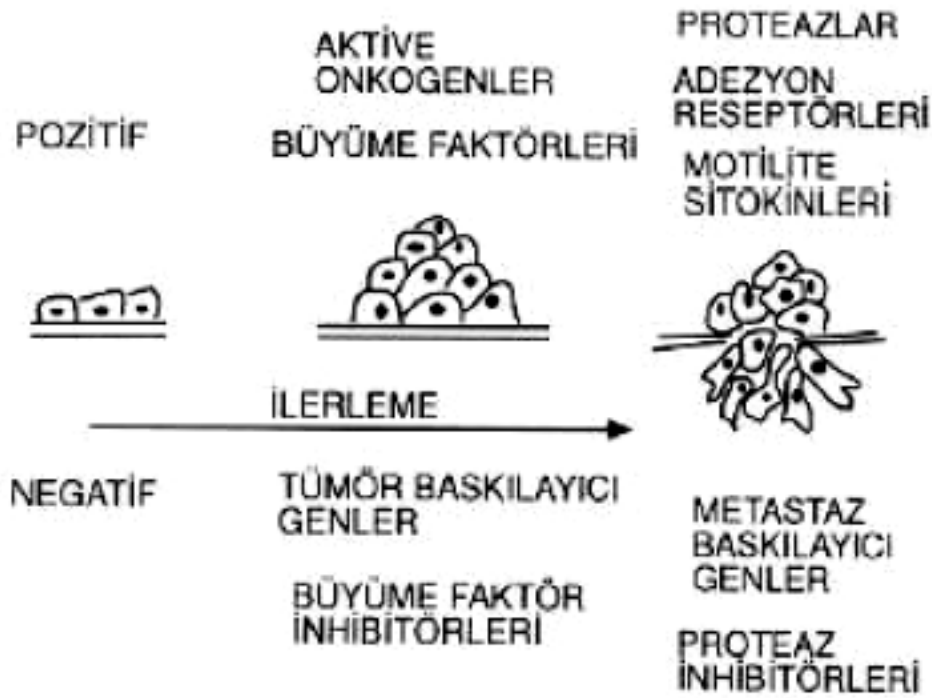
Anjiogenik uyarı, proteolitik yıkım ile kısa bir süre sonra endotel hücrelerini aktive eder. Endotel hücreleri ekstraselüler matrikse göç eder ve çoğalır. Bu süreçte en etkili anjiogenik faktör vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF)'dir (37).

Kapiller Oluşumu ve Damar Olgunlaşması

Endotel hücre çoğalmasından sonra ECM bileşenlerinin depolanması ve bir araya getirilmesi için ekstraselüler proteoliz mutlaka lokal olarak inhibe edilmelidir. Kapiller filizlenme oluşuktan sonra yine bu filizlenmenin ucunda yeni oluşmuş ECM'de yıkılma ortaya çıkar ve bu sayede daha ileri yayılımı mümkün olur. ECM proteolizinin birbirini sırayla izleyen aktivasyon ve inhibisyonları sonucunda kapillerler oluşur. Proteolitik yıkılma ve endotel hücresi göçünden sonra yeni oluşan kapillerler, yeni bazal membranı oluştururlar. Damar olgunlaştıktan ve uygun anjiyogenez ortaya çıktıktan sonra anjiogenik faktörlerde azalma görülürken, anjiogenez inhibitörlerinde artış gözlenir. Böylece endotel hücreleri sessiz bir hale bürünür ve damarlar kan akımını başlatmaya hazır hale gelmiş olur (38).

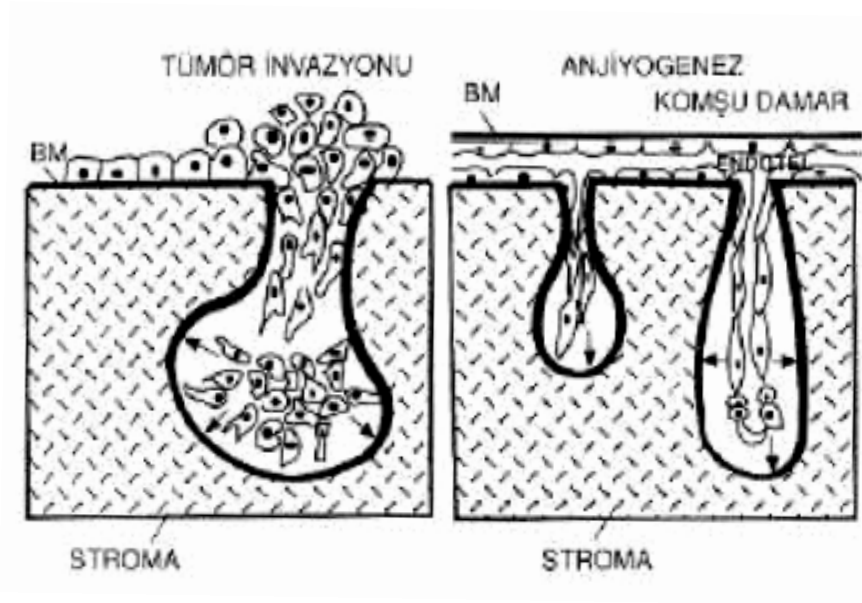
Tümör Gelişimi ve Anjiogenez

Kanser hastalarında tedavinin yetersiz olmasının en büyük nedeni tümör invazyonu ve metastazdır. Metastaz primer tümörün en erken oluşum evresinden itibaren baslar ve zaman içinde tümörün büyümesine paralel olarak büyür. Tümörler histolojik tiplerine göre farklı metastaz gücüne sahiptirler. Pek çok epitel kökenli tümörde tümör hücresinin yayılımı tümörün damarlanmasından kısa bir süre sonra meydana gelmektedir. Tümör oluşumu pozitif yönde (aktive onkogenler, büyüme faktörleri, proteazlar, motilite sitokinleri) ve negatif yönde (tümör baskılayıcı genler, büyüme faktör inhibitörleri, metastaz baskılayıcı genler, proteaz inhibitörleri) etkili olan elemanların pozitif yöne doğru kaymaları sonucunda meydana gelir (39) (Şekil 1).



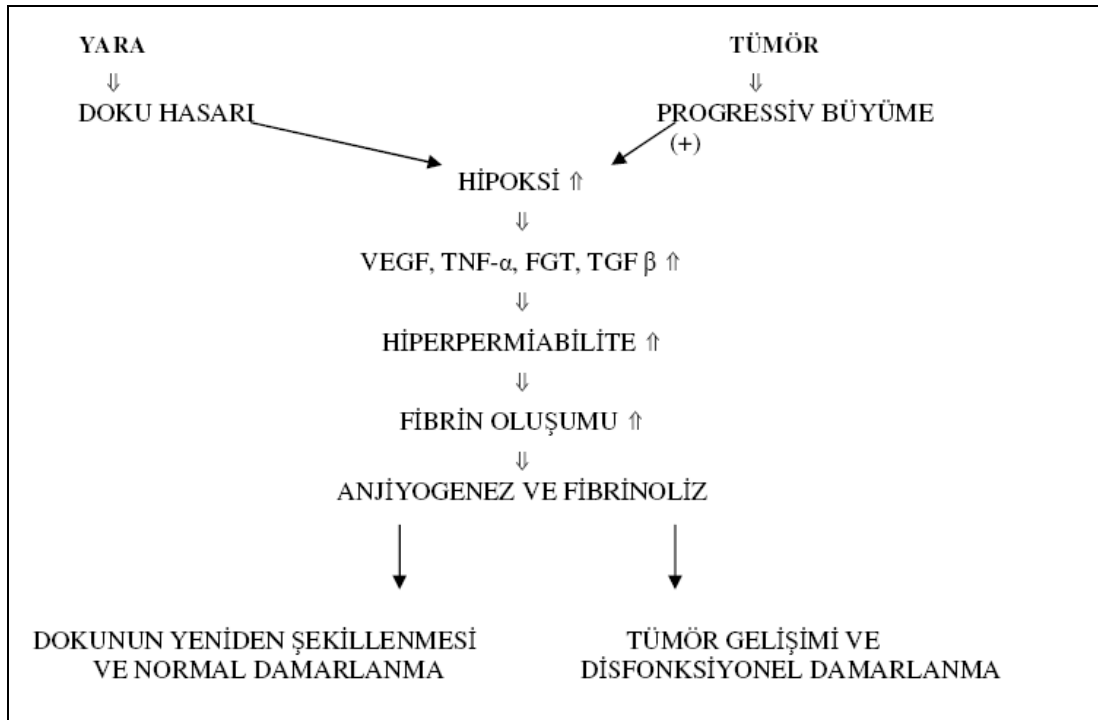
Şekil 1. Tümör oluşumu (39)

Metastaz oluşumunda ise tümör hücreleri, önce primer tümör bölgesinde çoğalır, interstisyel stromaya girer, buradaki kan-lenf damarları yoluyla dolaşıma katılırlar. Dolaşıma katılan tümör hücreleri hedef organa ulaşarak, hedef organın prekapiller venüllerinde endotel bazal membranına penetre olarak metastatik kolonileri başlatırlar (39) (Şekil 2).



Şekil 2. Metastaz oluşumu (39)

Tümörler yeni damar yapımını gerçekleştiremedikleri takdirde etraf damarlardan difüzyonla beslenir ve en fazla $0,5 -1/\text{cm}^3$ 'lük hacme kadar büyüyebilirler. Bu hacimden sonra çoğalmaları ve metastaz yapabilmeleri için anjiogenez gereklidir (40,41) Tümör anjiogenezinin düzenlenmesi normal fizyolojik anjiogenez'e göre farklılık göstermektedir (42) (Şekil 3). Hipoksi, VEGF ve reseptörlerinin yapımını uyararak anjiogenez'i başlatan en etkili uyarıların başında gelir. Artan tümör kitlesi ile birlikte gelişen hipoksi tümör hücrelerinden VEGF ekspresyonunu artırmakta ve anjiogenezisi dahada ilerletmektedir (43).



Şekil 3. Normal doku onarımı ve tümörlerde anjiogenez'i uyaran ortak yollar (42)

İnsan tümörlerinin çoğu tanı konulduğunda neovaskülarizedir. Ancak deneysel ve klinik veriler bu tümörlerin aylarca ve yıllarca anjiogenik olmadan kalabileceğini göstermektedir (44). Tümörler, kapillerleri çekebilecek mi, kan akımı ile bağlantı sağlayabilecek mi sorusunda en belirleyici faktör kritik lokal dengenin anjiogenik faktörler lehinde bozulmuş olması ile açıklanabilmektedir (45). Bir yada birden fazla anjiogenik büyüme faktörleri belirgin olarak aşırı eksprese olmadıkça tümör büyümesinin gerçekleşemeyeceği gösterilmiştir (46). Anjiogenezi uyarmak için yalnızca anjiogenik faktörlerin artması yeterli olmayıp, tümörün anjiogenik özellik kazanması için anjiogenez inhibitörlerinin de azalması gereklidir (47). Vaskülarize bir tümörde tüm tümör hücreleri anjiogenik değildir. Çok iyi vaskülarize tümörlerde bile mikrodamar dansitesinin düşük olduğu alanlar ve yüksek olduğu alanlar gözlenir ve anjiogenik aktivite heterojendir. Tümör popülasyonu genişledikçe de anjiogenik özellik kazanmış tümör hücre varyantlarının oluşma ihtimali artar (48). Anjiogenezin tümörün yayılmasındaki rolünün yanı sıra metastazı kolaylaştırdığı varsayımını destekleyici, deneysel ve klinik kanıtlar bulunmaktadır (49). Bir tümör hücresinin başarıyla metastaz yapabilmesi için; damar sistemine girmek, dolaşımda canlı kalabilmek, hedef organın mikrodamarlarında duraklayabilmek, damar sisteminden dışarı çıkabilmek, hedef organda büyüebilmek ve anjiogenezi uyarmak gibi çeşitli bariyerleri aşabilmesi gereklidir (50,51). Deneysel çalışmalarda, yeniden damarlanmadan önce, tümör hücrelerinin nadiren dolaşıma girdikleri gösterilmiştir (52). Tümör hücresi anjiogenik iken metastaz yaparsa, saptanabilir tümör oluşturma ihtimali daha fazladır (53). Metastatik sürecin başında olduğu kadar sonunda da anjiogeneze ihtiyaç vardır (54). Tümör hücresi başarıyla metastaz yapmış olsa bile hedef organda hemen damarlanmayabilir ve mikroskobik düzeyde kalabilir (54). Klinik veriler metastatik özelliğin anjiogenezin şiddetine bağlı olduğunu göstermektedir (55). Tümör hücrelerinden salınan FGF ve VEGF gibi anjiogenik maddelerin endotel hücrelerinden ekstrasellüler matriksi eritebilme yeteneği olan proteaz, plazminojen aktivatörleri ve kollajenazların yapımını arttırarak invazyon ve metastazı kolaylaştırdığı gösterilmiştir (56,57).

VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ AİLESİ

Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri süperaillesinin üyesi olan vasküler endotel büyüme faktörü ailesi, endotel hücreleri için özgüldür ve önemli etkileri vardır (58). VEGF ailesi ilk keşfedildiğinde, kobay derisinde bir vasküler sızıntı başlattığı için vasküler permeabilite faktörü olarak isimlendirilmiştir (59). 1980'lerin sonunda ise, bu aileden ilk özel

anjiogenik büyüme faktörü ayrıştırılmış ve buna vaskülotropin veya vasküler endotelial büyüme faktörü adı verilmiştir (60).

VEGF Aile Üyeleri ve Moleküler Yapıları

VEGF 46 kDa ağırlığında, homodimerik, heparin bağlı glikoprotein yapısında bir moleküldür (61). VEGF A, B, C, D, E, plasental büyüme faktörü (PIGF) ve yakın zamanda yılan zehirinde bulunmuş VEGF-F adı verilen yedi üyeden oluşmaktadır (62,63). Bu alt gruplar; endotel proliferasyonu, in vitro migrasyon ve in vivo permeabilite açısından benzer özellikler gösterirler (64).

1) VEGF-A: Aynı zamanda insan -VEGF olarak bilinir. VEGF-A bazı yazılarda sadece VEGF olarak adlandırılmaktadır (65). VEGF-A'nın içerdiği aminoasit sayılarına göre; VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF183, VEGF189 ve VEGF206 olmak üzere altı adet izoformu vardır (66). Bu izoformlardan VEGF121 hariç, hepsi heparine bağlanmaktadır. VEGF121, VEGF145 ve VEGF165 salgılandığında kolayca diffüze olur ve erimiş formları sıvılarda saptanabilir. VEGF189 ve VEGF206 ise salgılandığı halde hücre aracılı olarak kalır ve varlıkları testlerle kolayca saptanamaz (67).

2) VEGF-B: Başlangıçta VEGF-A ile %23'ü homolog olan bir sinyal peptidinin bölünmesinden sonra, 186 aminoasitli bir protein olarak oluşur (68).

3) VEGF-C: VEGF-benzeri protein olarak da bilinir. VEGF-A ile %16'sı benzeyen 388 amino asitten oluşmuştur (69).

4) VEGF-D: 334 aminoasitten oluşan ve VEGF-A'ya %31 oranında aynı amino asitler içeren bir proteindir. VEGF-C ile benzer işlevler yapar (70).

5) VEGF-E: VEGF-A ile amino asit dizilimi %25 oranında aynı olan bir polipeptittir. Güçlü bir mitojen ve permeabilite arttırıcı faktördür (71).

6) Plasental büyüme faktörü (PIGF): VEGF ailesinin tanımlanan ilk üyesidir. VEGF-A ile %37'si benzeyen 152 aminoasitten oluşmuştur (72).

7) VEGF-F: VEGF'nin yapısına çok benzeyen, yılan zehirinde bulunmuş bir moleküldür. Bu yeni bulunan molekülün anjiogenezi VEGF-A'dan 10 kat daha az arttırmasına rağmen, vasküler geçirgenliği şiddetle arttırdığı bildirilmiştir (63).

VEGF Reseptörleri

VEGF ailesinin etkilerini gösterebilmesi için, endotel hücreleri üzerinde bulunan özgün transmembran tirozin kinaz reseptörlerine bağlanması gerekir (73). Bu reseptörler;

VEGF reseptör-1 (VEGFR-1, flt-1), çözünebilir-VEGF reseptör-1 (sVEGFR-1), VEGF reseptör-2 (VEGFR-2, flk-1), çözünebilir-VEGF reseptör-2 (sVEGFR-2) ve VEGF reseptör-3'dür (VEGFR-3, flt-4) (Tablo 6) (74). VEGF reseptörleri özgül ligandına bağlandığında dimerizasyona uğrayarak aktifleşir. Aktif hale gelen VEGF reseptörleri hücre içerisinde sinyal iletisi sağlayan bazı proteinleri fosforile eder. Bu olay da ikincil habercilerin oluşmasına katkıda bulunarak, mesajın hücre içinde taşınmasına olanak sağlar (75). Ayrıca heparan sülfat da VEGF'nin reseptörüne bağlanmasına yardım eder ve bu olayı düzenler (76).

Tablo 6. VEGF reseptörleri, ligandları ve etkileri (74)

Reseptörler	Büyüme Faktörleri	Biyolojik etkileri
VEGFR-1	VEGF-A, B, F, PlGF	Hücre-hücre ve hücre-matriks ilişkisinin kontrolü, vaskülogenez ve tuzak reseptör
VEGFR-2	VEGF-A, C, D, E, F	Anjiogenez, proliferasyon ve migrasyon
VEGFR-3	VEGF-C, D	Lenfanjiogenez, lenfatik metastaz
sVEGFR-1	VEGF-A, B, F, PlGF	VEGFR-1'in kompetitif inhibitörü
sVEGFR-2	VEGF-A, C, D, E, F	sVEGFR-1'e benzer etki (araştırmalar sürüyor)

VEGF Yapımı ve Salınımı

VEGF trombositlerde 10^6 hücrede 0.56 pg konsantrasyonunda bulunur (77). VEGF'nin iki izoformu VEGF-A ve VEGF-C trombositlerde bulunur. Trombositlerde bulunan VEGF A'nın major izoformu VEGF 165 'tir. Ayrıca VEGF 189 ve VEGF 121 'in de trombosit içinde mRNA 'sı tespit edilmiştir (78). VEGF, fizyolojik olarak ovulasyondan hemen önce ovaryum folliküllerinden salgılanarak yeni damarların oluşumunu arttırırken, ovulasyondan sonra bu salgılama görevini korpus luteum üstlenir. Erken implantasyon döneminde embriyo trofoblastlarınca salgılanır (79). VEGF 'nin yetişkinde; akciğerde alveolar hücrelerde, böbrek glomerüllerinde, proksimal tübüllerde, adrenal korteksin tüm hücrelerinde, testiste testosteron üreten leyding hücrelerinde ve düşük seviyede de olsa karaciğer hepatositleri ve beyinde sentezlendiği gösterilmiştir (80). VEGF'nin gösterilmesi için yapılan immunositokimyasal çalışmalarda aktive makrofajlarda, arterioller çevreleyen fibroblastlarda, akciğer bronşiyol epitelinde, koroid pleksus epitelinde ve renal glomerül visseral epitelinde de varlığı gösterilmiştir (80). Başta ras, src ve her-2 onkogenleri olmak üzere VEGF düzeyi; p53 gen mutasyonu, IL-1b, IL-6, IL-10, IL-13, FGF-4, PDGF, TGF- β , IGF-1, TNF- α ve NO gibi

birçok endojen ajan ile düzenlenmekte ve tümör hücrelerinde VEGF ekspresyonu artmaktadır (81). Düşük glukoz düzeyi, oksidatif stres ve özellikle hipoksik ortamda düzeyi hızla artan hypoxia-inducible transcription factor-1 (HIF-1)'de VEGF salınımında etkili rol oynamaktadır (82).

VEGF'nin İşlevleri

VEGF, endotelial hücre büyümesinde rol oynayan anjiogenik bir faktördür. Damar permeabilitesini de arttırıcı rolü vardır. Endotele özgü mitojenik faktör olarak etki gösterir. Endotel hücresinin proliferasyonuna, migrasyonuna ve differensiasyonuna yol açar (83). VEGF; endotel hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonunun yanısıra, kemik iliğinden endotelial öncü hücrelerin periferik dolaşıma geçmesinde de önemli rol oynar (84). Ayrıca, VEGF'nin endotel hücrelerini apoptoza karşı koruduğu da bilinmektedir (85). VEGF, anjiogenez sırasında dokular içine ilerleyen kapillerlerin penetrasyonunu sağlayan kollajenaz ve plazminojen aktivatörlerinin ekspresyonuna da yardımcı olur (86). Nitrik oksid (NO), anjiogenezin VEGF bağımlı bir mediyatörüdür. Endotel hücre migrasyonunda rol alır. VEGF nitrik oksid sentez enzimi uyararak NO salınımını arttırmaktadır (87). VEGF, von-Willebrand faktörün salgılanmasını arttırmakta ve PGI₂ üretimini uyarmaktadır. Ayrıca, araşidonik asit salınımını ve MAP-kinaz bağımlı sitozolik fosfolipaz A₂'yi de aktive etmektedir (88). Vasküler endotel hücrelerin non-mitojenik cevaplarından olan kemotaktik olaylarda VEGF'nin önemli rolü olduğu gösterilmiştir (89). İnflamasyon esnasında vasküler permeabiliteyi; histamin, bradikinin, lökotrien-B₄, lökotrien-C₄ ve lökotrien- E₄'den daha etkili arttırabilir (90). VEGF bu etkilerine ek olarak, inflamasyonun geç dönemlerinde etkili olan monositler için güçlü bir kemotaksindir. Monosit ve makrofaj kökenli sitokinlerle birlikte endotelial doku faktörünün artışı sağlayarak, pıhtılaşmanın ana bileşenleri arasına girer. Bunun yanısıra, granülosit-makrofaj öncül hücrelerin koloni oluşturmalarını sağlar (86). VEGF'nin yapılan bazı çalışmalarda; endotel hücrelerden ICAM-1, VCAM-1 ve P selektin gibi önemli bazı adezyon moleküllerinin yapımını arttırdığı görülmüştür (90). Bu moleküller sayesinde nötrofil, monosit ve doğal öldürücü (natural-killer; NK) hücreler damar dışına çıkmak için endotel hücrelerine yapışmaktadır (91). VEGF, endotel hücrelerinden mast hücre aktive edici faktörler salgılanmasını uyararak mast hücrelerinin de adezyonuna yardım etmektedir (92). Bazı araştırmalarda, VEGF'nin IL-2 bağımlı lenfositleri uyatabildiği ve dendritik hücrelerin farklılaşmasını engellediği de gösterilmiştir (93,94).

Yararlı etkilerinin yanında, VEGF yapımının artması bazı hastalıkların ilerlemesine de sebep olur. Bunun en önemli, örneği tümör büyümesi ve yayılmasıdır. Büyüme eğiliminde

olan solid tümörlerin anjiogeneze bağımlı oldukları, bu yüzden VEGF salgıladıkları bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda, hem tümör hücrelerinde VEGF'ye ait mRNA'ların arttığı, hem de tümöre komşu endotel hücrelerinde VEGF reseptörlerine ait mRNA'larının arttığı gösterilerek; tümör anjiogenezi, tümör büyümesi ve hematojen yolla yayılmasında VEGF'nin önemli rolü olduğu belirlenmiştir (95-97). Romatoid artrit , psöriazis ve kontakt dermatit gibi hastalıklarda VEGF'nin arttığı bildirilmiştir (98,99). Bu çalışmalarla, VEGF'nin bazı hastalıklarda artarak hastalığında ilerlemesine aracılık ettiği gösterilmiştir.

Lenfanjiogenez; doku hasarının ardından ve lenfatik damar obstrüksiyonu veya hasarının ardından oluşan lenfatik damar büyümesidir (100). Fizyolojik veya patolojik olarak oluşur (yara iyileşmesi, inflamasyon, tümör lenfanjiogenezi ve tümör metastazı) (101). VEGFR-3 lenfanjiogenezde kilit rol oynar. VEGF-C ve VEGF-D, VEGFR-3'ün fosforilasyonunu sağlayarak lenfatik damarların büyüme ve farklılaşmasını düzenler (102,103). VEGF-C ve VEGF-D, VEGFR-3'e göre VEGFR-2'yi daha az aktive etmesine rağmen anjiogeneze de katkıda bulunur (104). VEGF-C, küçük bir öncül molekül olarak üretilir. Daha sonra proteolitik enzimler tarafından N ve C terminal uçları uzaklaştırılarak işleme uğrar (105). VEGF-C'nin parçalıyıcı enzimler tarafından ayrıştırılması sırasında 21-30 kDa ağırlığında ara formları da görülür. VEGF-C 'nin bu en büyük işlem görmemiş monomerik formu 58 kDa ağırlığında bir proteindir. Olgun VEGF-C, VEGF-C'nin işlem görmüş 21 kDa ağırlığındaki aktif formudur (105). Bu olgun formdaki VEGF-C, tüm VEGF-C üreten hücrelerde tespit edilemez ve kısmi işleme uğramış formların benzer düzeylerde salınıp salınmadığı açık değildir (102,105). Olgun VEGF-C'nin VEGFR-3'e olan affinitesi daha fazladır ve VEGF-C'nin tam olarak aktif olmuş olgun formu VEGFR-2'yi aktive eder (104). VEGF-C'nin tümörü çevreleyen stromal hücrelerden ve tümör ilişkili makrofajlardan büyük miktarlarda ekspresyonu bildirilmiştir (106). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada kolorektal kanserli hastalarda indirekt ELİSA yöntemi kullanılarak VEGF-C protein düzeyi ölçülmüştür (107). Bu çalışmada kolorektal kanserli hastalarda, sağlıklı bireylere göre VEGF-C düzeyi üç kat yüksek bulunmuştur. Akciğer, meme, prostat, serviks, kolon mide kanseri ve malign melanom ile yapılan klinikopatolojik çalışmalarda, VEGF-C ve VEGF-D'nin insan tümör hücreleri tarafından ekspresyonu ile, tümör progresyonu ve metastatik tümör yayılımı arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir (108-111). Ancak bunun aksini ispat eden bir çalışmada; primer meme kanserli hastaların tümör dokusunda artmış VEGF-C düzeyinin, daha düşük dereceli tümör, daha küçük tümör boyutu ile ilişkili olduğu, nodal tutulum ve damar invazyonu ile VEGF-C ve VEGFR-3 protein düzeylerinin ilişkisinin olmadığı gösterilmiştir (112). Bu çalışmada tümör dokusunda artmış VEGF-C düzeyleri, hastalıktan bağımsız sağ

kalım ve genel sağkalım ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur. Yapılan çok yönlü analizde VEGF-C'nin, primer meme kanserli hastalarda bağımsız bir prognostik gösterge olduğu saptanmıştır. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, VEGF-A'nında tümör lenfanjiogenezinde rolü olduğu bildirilmiştir (113). Tümör kökenli VEGF-A'nın, tümör daha metastaz yapmadan tümörün drene olduğu lenf düğümlerinin içindeki lenfatik ağın genişlemesini teşvik ettiği gösterilmiştir. Bu çalışmada, VEGF-A'nın VEGF-C'yi salan inflamatuvar hücreleri ortama çekmesinin, lenfanjiogeneze dolaylı yoldan bir katkı sağladığı da düşünülmektedir.

Anti VEGF Tedavi Yöntemleri

VEGF'nin endotel hücreleri üzerinde bulunan transmembran tirozin kinaz reseptörlerine bağlanması ile tetiklenen sinyal yolu, birçok seviyede farklı açılardan inhibe edilerek, VEGF'nin etkinliği önlenabilmektedir. Rekombinant insan monoklonal VEGF antikoru olan Bevacizumab ile yapılmış randomize faz III çalışmalarda, metastatik kolorektal kanserli hastalarda geleneksel tedaviye kıyasla klasik IFL (İrinotekan-Fluourasil-lökoverin) tedavisiyle kombine edildiğinde hastalarda yaşam süresinin önemli derecede arttığı, tümör progresyonunda ciddi azalmanın olduğu ve tromboembolik komplikasyonda herhangi bir artış olmadığı bildirilmiştir (114,115). Bevacizumab, metastatik kolorektal kanserli hastaların tedavisinde başarıyla kullanılmaya başlanmıştır. Bunun dışında, VEGF reseptörlerine yönelik tedaviler (VEGFR-1 ve VEGFR-2 inhibisyonu) ve VEGF reseptör tirozin kinaz inhibitörleri (SU5416, SU6668, SU11248, PTK787/ZK22854) gibi anti VEGF stratejileri geliştirilmiştir (116-119). Bu tedavilerin faz I ve faz II klinik çalışmaları devam etmekte olup, umut verici sonuçlar elde edilmektedir.

KEMOKİNLER VE TROMBOSİT FAKTÖR 4

Trombositler kanamanın durdurulmasını yöneten hemostatik sürecin ilk evresinde anahtar görevini üstlenirler. Biyolojik olarak aktif, yapıları ve işlevleri birbirinden çok farklı birçok molekülü barındırırlar. Bunların arasında anjiogenezi düzenleyen anjiogenez uyaranları ve inhibitörleride vardır. Trombositler hemostaza ek olarak ateroskleroz ve tümör metastazı gibi diğer patofizyolojik süreçlerde de yer alırlar (120,121). VEGF, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), fibroblast büyüme faktörleri (FGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), hepatosit büyüme faktörü (HGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), anjiopietin, trombosit fosfolipidleri, CD40 Ligandı, matriks metalloproteinazları (MMP), heparanaz gibi anjiogenez aktivatörleri, anjiostatin, trombospondin-1 (TSP1), trombosit faktör 4 (TF4, CXCL4), endostatin, transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β),

metalloproteinazların doku inhibitörleri (TIMP) gibi anjiogenez inhibitörleri dolaşan trombositlerde hazır bulunur ve trombosit uyarılması ve salınımında serbest kalırlar (122).

Kemokinler

İnflamasyonda ve infeksiyonlara karşı konakçı yanıtında lökositlerin dokulara yerleşimi önemli bir basamağı teşkil etmektedir. Bu süreç kemotaktik sitokinler olarak bilinen kemokinler tarafından kontrol edilmektedir. Kemokinler; 8-12 kDa ağırlığında, heparin bağlayan, çok sayıda farklı işlev ve yapıda bölgesi bulunan, hücre içi özgün reseptörleri aracılığı ile etkilerini gösteren protein yapısında moleküllerdir (123). Kemokinler, organizmada gerçekleşen birçok biyolojik ve patolojik süreçte görev alırlar. Kemokinler ve kemokin reseptörleri anjiogenezin, tümör büyümesinin ve kök hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadırlar (124,125). Moleküldeki sistein (C) amino asidinin N-terminal ucundaki pozisyonuna göre dört alt gruba ayrılmaktadırlar. Fakat bu gruplardan sadece iki tanesi detaylı olarak karakterize edilmiştir. Alpha (α) ve beta (β) kemokinler, yapılarında 4 sistein içermekte olup kemokinlerin en büyük grubudur. Alpha (α) kemokinler, amino terminal ucundaki iki sistein arasında bir amino asit bulunduğu için CXC kemokinleri, Beta (β) kemokinler uçtaki sistein aminoasitleri yan yana olduğu için CC-kemokinleri olarak adlandırılır (126). Alpha kemokinler CXC dizilerinde nötrofiller için kemotaktik özelliğe sahip olan glutamik asid-lösin-arginin (ELR motif) aminoasit dizilerini taşımaktadırlar. ELR (+) CXC kemokinler güçlü bir anjiogenez destekçisidir. Karşıt olarak ELR (-) CXC kemokinler güçlü bir anjiogenez inhibitörüdür (Tablo 7) (127).

Tablo 7. Temel anjiogenik ve antianjiogenik C-X-C kemokinler (127)

Anjiogenik C-X-C kemokinler	Antianjiogenik C-X-C kemokinler
IL-8	TF4
ENA-78	IP-10
GCP-2	MIG
GRO- α	
GRO- β	
GRO- γ	
CTAP-III	
β - TG	
NAP-2	

ENA-78:epitelyal nötrofil ile aktive protein-78, **epithelial neutrophil-activating protein-78* GRO:büyüme ilişkili onkogen, **growth related oncogene*. GCP-2:granülosit kemotaktik protein-2, **granulocyte chemotactic protein-2*. CTAP-III:bağ dokusu aktive edici protein -3, **connective tissue activating protein-III*. β - TG:beta tthomboglobulin, NAP-2: nötrofil aktive edici protein, **neutrophil activating protein-2*. MIG:IFN- γ ile uyarılan monokin, **monokine induced by IFN- γ* . IP-10: IFN- γ ile uyarılan protein-10, **IFN- γ inducible protein-10*

TF4'ün Yapısı, Sentez ve Salınımı

TF4, 7,8 kDa ağırlığında ve 70 aminoasit uzunluğunda ELR negatif C-X-C kemokin ailesinin üyesi bir proteindir (128). Partikül yapısı IL-8 ve β -TG ile benzer özellik göstermektedir (129). TF4'ün monomer yapısı; 3 adet antiparalel β şiltesinden (24-56. rezidüler), major heparin bağlayan bölge olan, lizin ve argininden zengin alfa heliks yapısındaki C- terminal bölgeden (57-70.rezidüler) ve bir adet N-terminal bölgeden oluşmaktadır (130). İkinci incil yapısı hidrojen bağları ve disülfid bağları ile stabilize edilmiştir (131). Fizyolojik pH ve iyonize halde TF4 tetramer oluşturur (132). Tetramer yapısı 2 adet dimerin hidrofobik etkileşimi ve hidrojen bağlarının kırılması sonucu oluşur (133). N-terminal bölgesi β şilte benzer yapıda ve hidrojen bağları ile bağlıdır (134). TF4, trombositlere özel bir proteindir ve megakaryositler tarafından sentezlenir. Trombositlerin ve megakaryositlerin α granüllerinde bulunur (135). Trombosit aktivasyonu sonrasında dolaşıma salınarak hasarlı kan damarı etrafında yüksek konsantrasyonlarda sekrete edilir ve trombositlerin bağlanmasını sağlar (136). TF4 trombositlerde serbest yada proteoglikanlara bağlı formda bulunabilir. Proteoglikanın major rolü, TF4 'ün α granüllerinde tutulmasıdır (137).

TF4'ün İşlevleri

TF4, ilk olarak 1948 yılında heparinin antikoagülan aktivitesini nötralize etmesi tabanında bulunmuş ve antiheparinik faktör olarak adlandırılmıştır (138). TF4, insan eritrolösemi hücre dizisinden orijinal olarak klonlanmıştır (139). TF4, heparin bağımlı immün trombositopenide rol oynamaktadır (140). TF4, biyokimyasal olarak trombosit kaynaklı heparine yüksek afinite göstererek, G protein bağımlı reseptörlere bağlanan kemotaktik sitokinlerin bağlanmasını ve inflamasyon alanına değişik lökosit alt kümelerinin göçünü sağlar (141). TF4 'ün memeli trombosit α granüllerinde bulunmasının temel nedeni ve temel biyolojik rolü glikozaminoglikanların dallarında bulunan heparan sülfatı nötralize etmesi ve bu yolla vasküler hasar bölgesinde trombüs gelişimini kolaylaştırmasıdır (142). Yapılan çalışmalarda TF4 'ün bazı farklı özelliklerinin de olduğu gösterilmiştir. TF4, mikro ve makrodamarlarda G1 fazında injekte edildiğinde S fazına geçişi engeller. Bunun ötesinde S fazında hücrenin DNA sentezini inhibe eder (143). TF4, aktive insan T lenfosit hücrelerinin proliferasyonunu inhibe eder ve tümörü infiltre eden lenfositlerin proliferasyonunu önleyerek, tümör stromasından sitokin salınımını engeller (144). TF4'ün bazı tirozin kinazları ve fosfatazları inhibe ederek postreseptör sinyalizasyonunun önüne geçtiğine inanılmaktadır (145). Kemokin ailesinin bir üyesi olan TF4, immün ve inflamatuvar sistem üzerindeki etkileri yanında, hematopoez ve angiogenez sürecinde de önemli rol oynar (146).

1) TF4'ün anjiogenezdaki rolü: TF4'ün anjiogenezi inhibe edebileceği ilk kez 1982 yılında gösterilmiştir (147). 1990'da tavuk korioallantoik membranında doz bağımlı bir şekilde anjiogenezi inhibe edebileceği ve farelerde tümörleri inhibe ettiği gösterilmiştir (148). 1995'de TF4'ün invivo seçici olarak vasküler endotele bağlandığı keşfedilmiştir (149). Bunun özellikle selektif olarak anjiogenezin aktif olduğu bölgelerde gerçekleştiği bulunmuştur (150). 1998 'de insanlardaki meme kanserinde TF4 'ün ksenogreftlerde yeni damar oluşumunda belirteç olduğu gösterilmiştir (151). Yapılan çalışmalarda rekombinant insan TF4'ün, kolon karsinomu hücrelerinde insan kolon karsinomu hücresi gelişimini veya melanom hücresi gelişimini önlediği gösterilmiştir (152). Ek olarak TF4 c DNA içeren glioma hücreleri in vivo olarak daha yavaş ve hipovasküler olarak gelişmiştir (153). TF4 in vivo ve in vitro olarak endotel hücre proliferasyonunu, migrasyonunu ve anjiogenezi inhibe eder (154,155). TF4 'ün moleküler yapısı ile ilgili yapılan araştırmalarda, p47-70, p58-70, p17-58, p 47-58 gibi bir çok sentetik peptid tanımlanmıştır (156). TF4' ün heparin bağlayan karboksiterminal (COOH) parçası peptid 47-70'in (TF4/CXCL4) esas olarak antianjiogenik aktiviteden sorumlu olduğu in vivo ve in vitro olarak gösterilmiştir (157,158). Yapılan bir çalışmada, TF4 molekülünün C terminal bölgesinin mutasyona uğramış bir varyantı (TF4 varyantı CXCL4L1) trombinle uyarılmış trombositlerden izole edilerek tanımlanmıştır (159). Bu mutasyona uğramış varyantın, TF4/CXCL4 'e göre daha güçlü anjiogenezi inhibitörü olduğu gösterilmiştir.

TF4'ün anjiogenezi inhibisyonu üzerindeki etkisi, bazı önemli proanjiogenik büyüme faktörlerinin etkilerini değiştirmesi ile gerçekleşmektedir (160).

Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR); apoptozis inhibisyonu, hücre motilitesinde artış, adezyon, invazyon, hücre yaşam süresinde artış, diferansiyasyon, anjiogenezi ve metastaz gelişimi gibi pek çok olayda önemli rol oynar (161). TF4, EGF 'nin dokularda bulunan heparan sülfata bağlanmasını engelleyerek, EGF 'nin reseptörü ile etkileşime girmesini önler ve tümörün büyümesini düzenler (162).

Fibroblast büyüme faktörü (FGF); endotel hücre proliferasyonu, migrasyonu ve kemotaksisini sağlar ve in vivo olarak tümör anjiogeneziyi uyarır (163). TF4, yüzey bağımlı veya çözünür haldeki FGF molekülüne bağlanarak, endojen veya heparinin indüklediği FGF dimerizasyonunu engelleyerek, FGF 'nin reseptörü ile etkileşimini önler (164). .

TF4, VEGF-A'nın (VEGF-121 ve VEGF-165) endotel hücrelerindeki reseptörlerine (VEGFR-2) ve heparan sülfata (VEGF moleküllerinin reseptörleri ile etkileşimini heparan sülfat proteoglikanları sağlar.) bağlanmasını önleyerek anjiogenezi inhibe eder (165,166).

2) TF4 'ün hematopoezdaki rolü: Megakaryopoez; megakaryosit ve trombosit oluşumu ile sonuçlanan multiseri hücre proliferasyon ve diferansiyasyonudur (167).

Megakaryopoez, TF4 ve kemokin ailesinin diğer üyelerinden, β -TG, TGF- β ve IL-8 tarafından inhibe edilir (168). TF4'ün invitro olarak mixed colony forming unit-megakaryocyte (mCFU-MK) ve burst forming unit (BFU) üzerinde inhibitör etkinliği gösterilmiştir (169). İn vivo çalışmalarda da TF4 'ün (peptid 47-70,58-70,47-58 ile) bu etkisi görülmüştür (170). Yakın zamanda TF4 aşırı eksprese eden fare modelleri tanımlanmış ve bu farelerde trombosit sayısı istatistiksel olarak anlamlı düşük saptanmıştır (171).

AKCİĞER KANSERİNDEKİ ANJİOGENEZDE VEGF VE TF4'ÜN ROLÜ

Anjiogenezi uyaran ve inhibe eden birçok molekülün akciğer kanserinde rolü araştırılmıştır. KHDAK' lerinin %13-80'inde epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) aşırı ekspresyonu saptanmıştır (172). Yüksek düzeyde EGFR ekspresyonu; ileri evre hastalık, metastatik fenotip gelişimi, sağkalımda azalma ve kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur (173). TGF- β , HGF, FGF, PDGF, IL8 gibi anjiogenezi uyarıcıların akciğer kanserinde artmış ekspresyonu gösterilmiştir (174). VEGF anjiogenik moleküller içinde üzerinde en çok durulandır. Akciğer kanseri, meme kanseri, gastrointestinal sistem kanseri, over kanseri, üriner sistem kanseri ve santral sinir sistemi kanseri gibi birçok kanser türünde tümör dokusunda artmış VEGF ekspresyonu gösterilmiştir (175). VEGF ekspresyonu KHDAK hastalarının %50-95'inde bildirilmiştir (176). İnsanlarda akciğer kanseri ve VEGF ile ilgili yapılmış olan bazı çalışmaların özeti aşağıda gösterilmektedir (Tablo 8) (177-184).

Tablo 8. Akciğer kanseri ve VEGF ile yapılan bazı çalışmaların özeti (177-184)

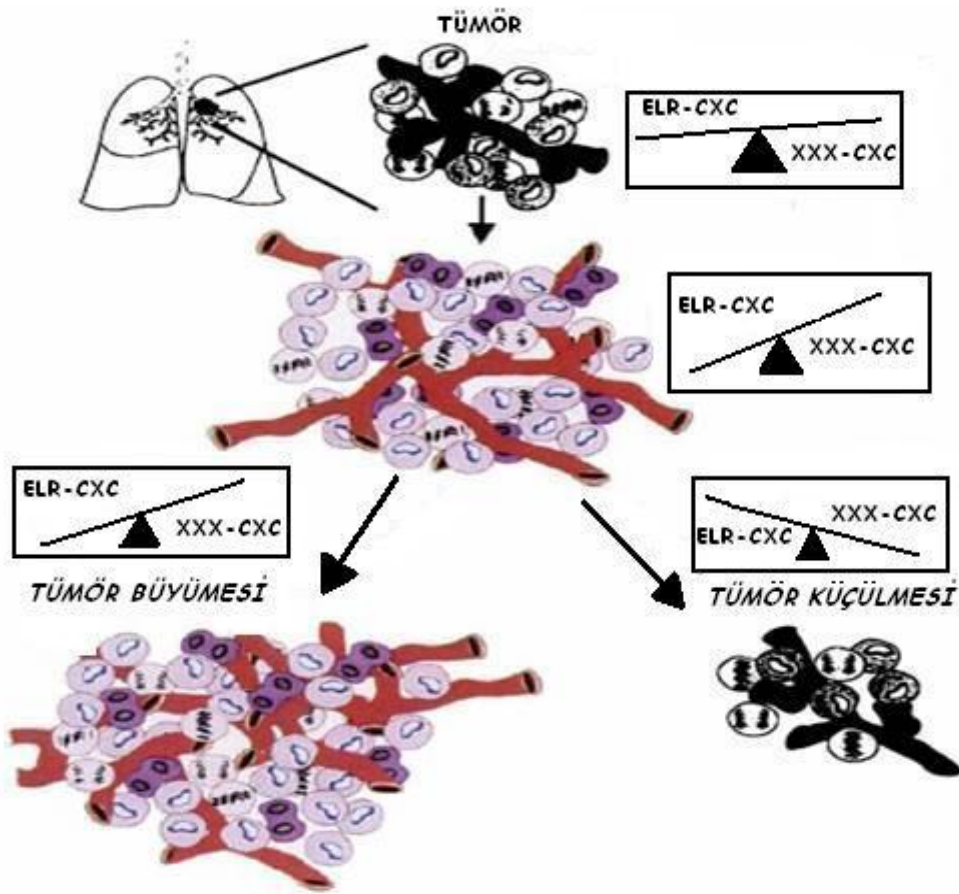
Çalışma Adı	Yazar ve yılı	Özellği	Sonuçlar
"KHDAK'li hastalarda yeni damar oluşumunun metastaz ile ilişkisi"	Macchiarini ve ark. 1992	KHDAK (Evre IA) 87 hasta çalışmaya alınmış. Radikal cerrahi sonrası metastaz gelişen 22 hasta ile, tam remisyonda kalan 65 hasta karşılaştırılmış.	Damar sayısı arttıkça metastaz olasılığının arttığı ve çok yönlü analizde mikrodamar yoğunluğu sayımının yegane bağımsız metastaz belirleyicisi olduğu görülmüştür.
"Yassı hücreli hücreli akciğer kanseri olan hastalarda, tümör içi mikrodamar yoğunluğu ile VEGF düzeyi arasındaki ilişki"	Mattern ve ark. 1996	91 yassı hücreli hücreli akciğer kanserli hastanın tümör dokusu VEGF ile muamele edilmiş.	91 yassı hücreli hücreli akciğer kanserli hastanın 54 'ün de VEGF ile pozitif boyanma saptanmıştır.
"KHDAK 'li hastalarda tümör içindeki p53 ekspresyonu ile VEGF düzeyleri arasındaki ilişki ve prognostik önemi"	Fontanini ve ark. 1997	73 KHDAK 'li hastanın tümör dokularında İmmunohistokimyasal yöntem ile mikrodamar sayımı ve p53 düzeyine bakılmış.	1.p53 negatif az vaskülarize tümörler, p53 pozitif çok vaskülarize tümörlere göre daha düşük VEGF ekspresyonu göstermiştir. 2.Mikrodamar sayımı ve p53 düzeyi; lenf nodu metastazi, hastalığın tekrarlama oranı ve mortalite ile ilişkili bulunmuştur.

Tablo 8 (Devamı) Akciğer kanseri ve VEGF ile yapılan bazı çalışmaların özeti (177-184)

Çalışma Adı	Yazar ve yılı	Özelliği	Sonuçlar
"KHDAK 'li hastalarda serum VEGF düzeyinin prognostik önemi"	Imoto ve ark. 1998	Opere edilmiş olan 91 KHDAK'li hastanın tümör dokularında ve serumunda VEGF düzeyi bakılmış.	Tam rezeksiyon yapılan T3-4 tümörlü hastalarda, T1-2 tümörü olanlara göre tümör dokusunda ve serumda daha yüksek VEGF düzeyi saptanmıştır.
"Yükselmiş olan VEGF düzeylerinin akciğer kanseri ile ilişkisi"	Takigawa ve ark. 1998	25 KHAK'li hastanın ve 45 KHDAK'li hastanın serum VEGF düzeyleri sağlıklı insanların VEGF düzeyi ile karşılaştırılmış.	Akciğer kanserli hastalarda sağlıklı bireylere göre VEGF düzeyi daha yüksek bulunmuştur.
"KHDAK 'li hastalarda serum VEGF düzeyleri"	Demirkazık ve ark. 2002	42 KHDAK 'li hastanın serum VEGF düzeyi ile hastalık evresi arasındaki ilişki araştırılmış.	Hastalık evresi ile serum VEGF düzeyleri arasında istatistiksel anlamlılık saptanamamıştır.
"KHDAK 'li hastalarda serum VEGF düzeylerinin prognostik önemi"	Kaya ve ark. 2004	KHDAK 'li hastaların serum VEGF düzeyleri sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmış.	1.Hasta grubunun serum VEGF düzeyleri, sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur.
"KHDAK 'li hastalarda serum VEGF düzeylerinin tümör anjiogenezi ve hastalık prognozuna katkısı"	Shimanuki ve ark. 2005	KHDAK 'li hastalarda serum VEGF düzeyinin, tümörün histopatolojik alt tipi, trombosit sayıları ile olan ilişkisi ve akciğer kanserinde tanısai değeri araştırılmış.	1.KHDAK'i tanısı olan hastaların operasyon öncesi serum VEGF değerinin bilinmesinin; potansiyel anjiogenezin tespitinde oldukça faydalı olduğu ve serum VEGF düzeyinin bilinmesinin yalnız tümör içi anjiogenez teşhisinde değil KHDAK tanısında da faydalı olduğu bulunmuştur. 2.VEGF düzeyleri ile trombosit sayıları arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur. 3. Serum VEGF düzeyleri, yassı hücreli kanserde, adenokansere göre daha yüksek çıkmıştır.

Akciğer kanseri ve TF4 ile yapılmış insan çalışması yoktur. Sınırlı sayıda deneysel çalışma yapılmıştır. TF4 gibi bir C-X-C kemokini olan IL-8 ile ilgili insan KHDAK'de yapılan bir çalışmada, IL8'in KHDAK'de normal akciğer dokusundan 4 kat daha fazla bulunduğu gösterilmiştir (185). Benzer çalışmalar deneysel düzeyde diğer kemokinler ile de

yapılmıştır (186). C-X-C kemokinlerinin ELR motifinin varlığına göre anjiogenik veya antianjiogenik faktörler olarak görev yapabileceği konusundaki kanıtların, insan KHDAK'de bulunup bulunmadığı ve KHDAK'de tümör kökenli anjiogenik aktiviteye katkısının bulunup bulunmadığı araştırılmıştır. İnsan akciğer kanseri hücreleri, ağır kombine immün yetmezliği (SCID) olan fare modellerine enjekte edilmiş, anjiogenik ve antianjiogenik C-X-C kemokinlerinin düzeyleri tümör dokusunda belirlenmeye çalışılmıştır. Sonuç olarak, KHDAK'de anjiogenik ve antianjiogenik faktörler arasındaki dengenin, anjiogeneze uyaranları lehine olduğu gösterilmiştir (187) (Şekil 4).



Şekil 4. Tümör oluşum sürecinde anjiogeneze aracılık eden CXC kemokinler (187)

Küçük hücreli dışı akciğer kanserli SCID fare modeli ile yapılan yakın zamandaki bir çalışmada, farelere subkutan olarak 10 milyon A549 adenokarsinom hücreleri enjekte edilmiş ve intratekal olarak 0,1 mikrogram TF4-CXCL4 ve TF4 varyantı-CXCL4L1 ile muamele edilmiş. 4 hafta sonunda kontrol grubunda tümör dokusu daha büyük ve 8 hafta sonunda TF4 varyantı-CXCL4L1 verilen grupta kontrol grubuna göre tümör boyutunda %50 azalma

görülmüş. TF4-CXCL4 verilen grupta kontrol grubuna göre tümör büyümesi daha az olmasına rağmen istatistiksel fark saptanmamış (188). Ancak endotel hücrelerinin akım sitometrik analizinde her iki grupta da anjiogenezin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak azaldığı bulunmuştur. Aynı çalışma IP- 10 ve TF4 varyantı-CXCL41 ile düzenlenmiş ve A549 adenokarsinom hücrelerinin beyin, adrenal bez, akciğer ve karaciğer metastazı TF4 varyant/ CXCL41 ile önlenmiştir. IP-10 ise yalnızca beyine metastaz yapan kanser hücrelerinin sayısını azaltmıştır. Akciğer kanseri ile ilgili diğer bir çalışmada da; bir grup ara vektöre insan akciğer kanser hücresi, diğer vektör grubuna da kanser hücresi ile birlikte İnsan TF4'ü verilmiş. TF4 verilen grupta tümör büyümesine etkide önemli bir fark görülmemekle birlikte, metastaz sayısında ve ağırlığında anlamlı azalma görülmüştür. Bu çalışmada TF4'ün tümör ilişkili neovaskülarizasyonu inhibe ederek akciğer kanserinde metastazı engellediği fikri ileri sürülmüştür (189).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız, Kasım 2005-Kasım 2007 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı, Onkoloji Bilim Dalı, ve Göğüs Hastalıkları Ana Bilim Dalı ile birlikte yapılmıştır. Çalışmamız prospektif kohort (gözlem) çalışması olarak planlandı. Çalışma öncesinde Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı (Ek 1) ve çalışma döneminde hastaların ve kontrol grubunun yazılı onayı alındı (Ek 2). Çalışmamız Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca (TÜBAP 847) desteklendi.

OLGULAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Kliniği'nde histolojik/sitolojik olarak küçük hücreli dışı akciğer kanseri tanısı alan 60 hasta ile, aynı yaş ve cinsiyette 45 kişiden oluşan sağlıklı kontrol grubu çalışmaya alındı. Hastaların tedavi öncesi; yaş, cinsiyet, açık adres, telefon numaraları ve hastalığının histopatolojik alt tipi kayıt edildi. Hastaların performans durumları, aktivite bulguları ve günlük yaşamında ne kadar yardım gerektirdiği düzeyine göre fiziksel fonksiyonu ölçen Karnofsky Performans Ölçeği ile değerlendirildi (190) (Ek 3).

Olguların Çalışmaya Alınma Kriterleri

1. 18 yaş üstü olgular
2. İleri evre ve metastatik KHDAK (evre IIIB ve evre IV) tanısı alan hastalar,
3. Karnofsky performans durumu $\geq$ %80 olan hastalar,

4. Sigara içmeyen, aktif enfeksiyon, diyabet, hipertansiyon, aterosklerotik koroner arter ve serebrovasküler hastalığı olmayan, aspirin kullanmayan, tam kan sayımında trombositopeni ve trombositoz saptanmayan sağlıklı-gönüllü bireyler kontrol grubunu oluşturdu.

Olguların Çalışma Dışı Bırakılma Kriterleri

1. Daha önce herhangi bir kanser nedeni ile kemoterapi (KT) ve/veya radyoterapi (RT) görmüş yada cerrahi tedavi uygulanmış hastalar,
2. Sağkalım süreleri ile ilişki değerlendirildiğinden, kemoterapi toksisitesi ya da hastalığı dışı bir nedenle ölen hastalar
3. Anketin doldurulmasını engelleyen nörolojik veya psikiyatrik bozukluğu olan hastalar
4. Onayını geri alan hastalar ile sağlıklı kontrol grubunda çalışmadan çıkmak isteyen bireyler çalışma dışı bırakıldı.

Evrelendirme ve Tedavi Planı

Hastaların evrelendirilmesi TNM sınıflamasına göre yapıldı. Her hastanın tümör büyüklüğü ve yayılımı (T) durumu, bölgesel lenf bezi tutulum (N) durumu, uzak metastaz varlığı durumu (M) ve metastaz bölgesi sorumlu hekimin yaptığı non invaziv ve/veya invaziv yöntemler ile belirlenip kaydedildi (T durumu: bilgisayarlı tomografi (BT) ve bronkoskopi ile, N durumu: BT ile, M durumu ve bölgesi :BT, ultrasonografi ve sintigrafi gibi yöntemler ile belirlendi. Gereğinde ilgili hekimin endikasyonu doğrultusunda hastalara mediastinoskopi yapılarak T durumu ve N durumu belirlendi). Hastaların tedavileri evrelerine ve performans durumlarına göre planlandı. Buna göre hastalar yalnız KT, KT + RT yada tek başına RT aldı. Kemoterapide:sisplatin-etoposid, karboplatin-etoposid, sisplatin-taksoter ve diğer ikinci seçim kemoteropatik ajanlar (vinorelbin, gemsitabin gibi) hastanın sorumlu hekiminin endikasyonuna göre kullanıldı.

Kanser Yanıtının Değerlendirilmesi

İki kür KT sonrası kanser yanıtı BT ve/veya akciğer grafisi ile değerlendirildi. Yanıt değerlendirmesinde Dünya Sağlık Örgütü ölçütleri baz alındı (191). En az 4 hafta süreyle tümörde tam gerileme *tam yanıt*; lezyonun vertikal çapında %50'den fazla gerileme ve yeni lezyonların ortaya çıkmaması *kısmi yanıt*; lezyon vertikal çapında %50'den az olumlu değişiklik, %25'den az olumsuz değişiklik olması ve yeni lezyonların ortaya çıkmaması *stabil*

hastalık, lezyonun herhangi bir çapında %25'den fazla büyüme ve/veya yeni lezyonların ortaya çıkması *ilerleyen hastalık* olarak değerlendirildi. Birinci KT sonrası klinik ve/veya radyolojik olarak progresyon düşünülen ve ölen hastalar başka bir neden bulunamadığında (KT toksisitesi, febril nötropeni, pulmaner emboli vb.) ilerleyen hastalık grubuna dahil edildi.

Yaşam Süresinin Belirlenmesi

Hastaların yaşam süresi için, histolojik/sitolojik olarak tanı konulduğu 1. günden hastanın öldüğü güne kadar geçen süre temel alındı. Kontrolde veya takipten çıkan hastaların evlerine telefon edildi. Hastaların yaşayıp yaşamadıkları, öldülerse ölüm tarihleri ve biliniyorsa nedenleri öğrenildi. Hastalar son olarak *1 Şubat 2008'de* telefon ile aranıp yaşam durumları belirlendi. Tanının konulduğu ilk günden hastanın yaşadığının öğrenildiği 1 Şubat 2008 gününe kadar olan süre olan süre takip süresi olarak kaydedildi.

LABORATUVAR YÖNTEMLERİ

Kan Örneklerinin Toplanması

Tedavi öncesi değerlerin, özellikle yaşam süresi üzerine etkisi araştırıldığından, çalışılan tüm göstergeler sadece tanı anında tedavi öncesi örneklendirilmiştir. Olgulardan sabah 08-10 saatleri arasında, açlık durumunda, antekubital bölgeden 10 ml, 1/9 sitrat kan oranında kan örneği ve 5 ml antikoagülsiz kan örnekleri alındı. 3000 g 'de 10 dk. santrifüj edilerek plazma ve serum örnekleri ayrıldı. Her örnekten 0.5 ml 'lik plazma ve serum örnekleri eppendorf tüplere konularak çalışılncaya kadar -80°c derin dondurucuda bekletildi.

Kan Örneklerinin Çalışılması

Olguların plazmaları derin dondurucudan çıkarılıp çözündürüldükten sonra, VEGF-A, VEGF-C ve TF4 plazma düzeyleri üretici firmanın önerilerine tam olarak uyularak ELİSA yöntemi ile belirlendi. VEGF-A ölçümü için, Ray Bio Human VEGF ELİSA (U.S.A) marka kit, VEGF-C ölçümü için human VEGF-C ELİSA BMS297 (Austria) marka kit, TF4 ölçümü için, IMUCLONE PLATELET FACTOR 4 ELİSA (U.S.A) marka kit kullanıldı. VEGF-A, VEGF-C ve TF4 ölçümü; Micro Plate Reader MRRA4İ (Tosoh) marka, 90462112 seri nolu ELİSA cihazı ile yapıldı. Tam kan sayımı göstergeleri; Coulter Gen S marka, RAJ45036 seri nolu 24 parametrelilik hemogram cihazı ile yapıldı. LDH değerleri; Architect C8000 marka, C801439 seri nolu biyokimya cihazı ile çalışıldı. CRP değerleri; Beckman Coulter İmmage marka, 169502 seri nolu cihaz ile çalışıldı.

İstatistiksel Analiz

Elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilgi İşlem Merkezi'ndeki Minitab paket programı (S0064 Minitab Release 13) (Lisans no: WCP 1331.00197) kullanılarak değerlendirildi. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu One-Sample Kolmogorov-Smirnov tek örneklem testi ile değerlendirildi. Korelasyon analizleri, Independent – Sample - t test ve Oneway Anova testi ile yapıldı. Sağkalım analizi için Kaplan-Meier yöntemi kullanıldı. Sağkalım analizinde P değeri < 0.05 olan faktörlerin, bağımsız prognostik faktör olup olmadıkları cox-regression testi ile hesaplandı. Tanımlayıcı istatistikler için aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma değerleri verildi. Tüm istatistikler için $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi. Çalışmamızda, KHDAK'li hastaların plazma VEGF-C düzeyleri geniş bir dağılım aralığı göstermekteydi (42 – 18460). Bu durum, aritmetik ortalamalarda ve korelasyon testlerinde sağlıklı bir istatistiksel analiz yapmaya engeldi. Bu nedenle VEGF-C değerlerinin logaritmik transformasyonu yapıldı. VEGF-C ile ilgili tüm istatistiksel analizlerde logaritmik değer kullanıldı. VEGF-C/VEGF-A ve VEGF-C/TF4 oranları hesaplanırken, VEGF-A ve TF4'ünde logaritmik transformasyonu yapıldı. Logaritmik değerlerin birbirine bölümü ile VEGF-C/VEGF-A ve VEGF-C/TF4 oranları belirlendi. VEGF-C, VEGF-A , TF4 ile yapılan sağkalım analizlerinde anlamlı çıkan değer yada değer aralıklarının "*receiver operating characteristics*" (ROC) eğri ve eğri altı alan analizi ile duyarlılık ve özgüllükleri belirlenerek, en hassas olan değer ile sağkalım sürelerinin ilişkisi belirlendi. Lökosit sayısı, trombosit sayısı, MPV, LDH ve CRP düzeylerinin; sağkalım süreleri, VEGF-A, VEGF-C ve TF4 ile ilişkisinin belirlenmesinde ortalama değerler kullanıldı.

BULGULAR

OLGULARIN DEMOGRAFİK VE KLİNİK ÖZELLİKLERİ

1.Yaş ve Cins

Çalışmaya alınan 60 hastanın 56'sı (%93.3) erkek, 4'ü (%6.7) kadındı. Ortanca yaş 61.5, ortalama yaş 60.9 ± 10.9 , yaş aralığı 38-82 yıl arasında değişmekte idi. Kontrol grubunun 40'ı (%88.9) erkek, 5'i (11.1) kadındı. Ortanca yaş 55, ortalama yaş 56.7 ± 13.3 , yaş aralığı 35-82 yıl arasında idi. Yaş ve cinsiyet açısından hastalar ile sağlıklı kontrol grubu arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$).

2.Tümörün Evresi ve Histopatolojik Alt Tipi

Evre IIIB hasta sayısı 28 (%46.6), evre IV hasta sayısı 32 (%53.4) idi. Yassı hücreli kanser 22 (%36.7), adenokarsinom 14 (%23.3), büyük hücreli kanser 1 (%1.7), KHDAK tiplendirilemeyen grup 23 (%38.3) hastadan oluşmaktaydı.

3. Metastaz Bölgesi

Metastazı olan 33 hastanın; 13'ünde (%40.6) kemik , 8'inde (%25.0) karaciğer, 7'sinde (%21.9) sürrenal, 9'unda (%28.1) karşı akciğer, 2'sinde (%6.3) bölgesel olmayan lenf düğümü, 1 hastada da (%3.1) beyin metastazı saptandı. İki hastada sürrenal+karaciğer, 1 hastada sürrenal+karşı akciğer, 1 hastada sürrenal+kemik, 1 hastada karaciğer+kemik, 1 hastada beyin+kemik, 1 hastada karaciğer+sürrenal+kemik metastazının birlikteliği mevcuttu.

TEDAVİ PROTOKOLLERİ VE TEDAVİ YANITI

Hastaların 55'ine (%91.7) kemoterapi verildi. Beş hastaya (%8.3) tıbbi nedenlerden ve/veya tedaviyi kabul etmemelerinden dolayı kemoterapi verilemedi. Yirmi sekiz hasta (%46.7) yalnız kemoterapi, 27 hasta (%45.0) kemoterapi + radyoterapi, 3 hasta (%5.0) yalnız radyoterapi ile tedavi edildi. İki hastaya (%3.3) hiçbir tedavi verilemedi. Kemoterapi sayısı ortalama 3 kürdü (1-6 kür arası). Kemoterapi verilen hastaların 45'i (%81.8) platin + etoposid, 10'u (%18.2) platin + yeni nesil ajan (platin + taksoter [n:7], platin + vinoralbin [n:1]) ya da tek başına yeni nesil ajan (taksoter [n:2]) ile tedavi edildi. Yanıt için değerlendirilen 55 hastanın 28'inde (%50.9) progresif hastalık, 14'ünde (%25.5) parsiyel yanıt, 13'ünde (%23.6) stabil hastalık saptandı. Tam yanıt görülmedi.

YAŞAM SÜRESİ

Hastaların ortalama yaşam süresi 238 ± 22 gün (%95 GA, 194 – 283 gün), minimum yaşam süresi 34 gün, maksimum yaşam süresi 763 gündü.

LABORATUVAR VERİLERİ

Hastaların ortalama Hb düzeyi 11.9 gr/dl (6.5-15.5 gr/dl), ortalama lökosit değeri $10800/\text{mm}^3$, (5300-25700/ mm^3), ortalama trombosit değeri $361000/\text{mm}^3$, (162000-725000/ mm^3), ortalama MPV değeri 7.7 fl, (5.9-10.4 fl), ortalama LDH değeri 246 mg/dl, (118-1075 mg/dl), ortalama CRP değeri 4.3 mg/dl, (2-17 mg/dl) idi (Tablo 9). KHDAK'lı hastaların plazma VEGF-A, VEGF-C ve TF4 ortalama değerleri, sağlıklı kontrol grubunun ortalama değerlerinden anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.001$) (Tablo 10).

Tablo 9. Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların tanı anındaki kan sayımı ve inflamatuvar laboratuvar verileri

	Hb (gr/dl)	Lökosit (mm^3)	Trombosit (mm^3)	MPV (fl)	LDH (UI/dl)	CRP (mg/dl)
Ortalama $\pm$ STD	11.9 ± 0.2	10800 ± 466	361000 ± 16890	7.7 ± 0.13	246 ± 22	4.3 ± 0.5

STD: Standart sapma değeri

Tablo 10. Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalar ile sağlıklı kontrol grubunun vasküler endotelial büyüme faktörleri ve trombosit faktör-4 plazma düzeylerinin karşılaştırılması

Çalışılan Göstergeler	Hasta grubu Ortalama $\pm$ STD	Kontrol grubu Ortalama $\pm$ STD	P değeri
VEGF-A pg /ml	266.86 $\pm$ 24.7	104.41 $\pm$ 4.21	p < 0.001
VEGF-C pg /ml	3111.82 $\pm$ 633.00	285.36 $\pm$ 30.79	p < 0.001
TF-4 IU/mL	309.66 $\pm$ 12.36	235.51 $\pm$ 8.87	p < 0.001

STD: Standart sapma değeri

VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRLERİ VE TROMBOSİT FAKTÖR-4 PLAZMA DÜZEYLERİNİN HASTALIK EVRESİ VE TEDAVİ YANITI İLE İLİŞKİSİ

Metastatik hastaların, metastazı olmayan hastalara göre; VEGF-A düzeyi daha yüksek, VEGF-C düzeyi daha düşüktü (Tablo 11). TF4 ile evre arasında ilişki yoktu. VEGF-A için bu fark istatistiksel olarak anlamlılığa yakın idi ($p = 0.056$). VEGF-C ve TF4 için istatistiksel anlamlılık yoktu ($p > 0.05$). İlerleyen hastalığı olan hastaların, parsiyel yanıt ve stabil hastalığı olan hastalara göre; ortalama VEGF-A ve VEGF-C düzeyi yüksek, TF4 düzeyi düşüktü (Tablo 12). Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$).

Tablo 11. Vasküler endotelial büyüme faktörleri ve trombosit faktör-4 plazma düzeylerinin evre ile ilişkisi

Çalışılan Göstergeler	Evre IIIB Ortalama $\pm$ STD (n:28)	Evre IV Ortalama $\pm$ STD (n:32)	P değeri
VEGF-A pg/ml	215.37 $\pm$ 33.8	308.98 $\pm$ 34.12	$p = 0.056$
VEGF-C pg/ml	3.05 $\pm$ 0.13	2.82 $\pm$ 0.14	$p = 0.23$
TF4 IU/mL	318.56 $\pm$ 24.3	301.91 $\pm$ 9.65	$p = 0.52$

STD: Standart sapma değeri,

Tablo 12. Vasküler endotelyal büyüme faktörleri ve trombosit faktör-4 plazma düzeylerinin tedavi yanıtı ile ilişkisi

Çalışılan Göstergeler	İlerleyici yanıt Ortalama $\pm$ STD (n:28)	Parsiyel yanıt ve stabil hastalık Ortalama $\pm$ STD (n:27)	P değeri
VEGF-A pg/ml	289.12 $\pm$ 37.62	261.31 $\pm$ 36.23	p = 0.59
VEGF-C pg/ml	3.01 $\pm$ 0.14	2.92 $\pm$ 0.14	p = 0.69
TF4 IU/mL	296.80 $\pm$ 11.21	337.58 $\pm$ 23.27	p = 0.11

STD: Standart sapma değeri

VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRLERİ VE TROMBOSİT FAKTÖR-4 PLAZMA DÜZEYLERİNİN TROMBOSİT SAYISI VE ORTALAMA TROMBOSİT HACMİ (MPV) İLE İLİŞKİSİ

Trombosit sayısı $\geq 400000/\text{mm}^3$ olan hastaların ortalama VEGF-A ve TF4 düzeyi, trombosit sayısı $< 400000/\text{mm}^3$ olan hastalara göre yüksek idi. Bu fark, TF4 için istatistiksel olarak anlamlı idi (p = 0.02). VEGF-A için anlamlı değildi (p=0.068). Trombosit sayısı 400 bin ve üstünde olan hastaların ortalama VEGF-C düzeyi, trombosit sayısı 400 binin altında olan hastalara göre düşük olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p > 0.05) (Tablo 13). MPV değeri ≥ 7.7 fl olan hastaların ortalama VEGF-A, VEGF-C ve TF4 düzeyleri, MPV değeri < 7.7 fl olan hastalardan yüksek bulundu. Bu fark; VEGF-A için istatistiksel olarak anlamlı idi (p < 0.001). VEGF-C ve TF4 için anlamlılık yoktu (p > 0.05) (Tablo 14).

Tablo 13. Vasküler endotelyal büyüme faktörleri ve trombosit faktör-4 plazma düzeylerinin trombosit sayıları ile ilişkisi

Çalışılan Göstergeler	Trombosit $< 400000/\text{mm}^3$ Ortalama $\pm$ STD (n:40)	Trombosit $\geq 400000/\text{mm}^3$ Ortalama $\pm$ STD (n:20)	P değeri
VEGF-A pg/ml	248.00 $\pm$ 32.06	304.56 $\pm$ 36.84	p= 0.068
VEGF-C pg/ml	2.92 $\pm$ 0.12	2.94 $\pm$ 0.16	p= 0.93
TF4 IU/mL	290.61 $\pm$ 8.23	352.01 $\pm$ 33.96	p= 0.02

STD: Standart sapma değeri

Tablo 14. Vasküler endotelial büyüme faktörleri ve trombosit faktör-4 plazma düzeylerinin MPV değerleri ile ilişkisi

Çalışılan Göstergeler	MPV < 7.7 fl Ortalama ± STD (n:27)	MPV ≥ 7.7 fl Ortalama ± STD (n:33)	P değeri
VEGF-A pg/ml	174.50 ± 26.53	342.42 ± 34.39	p < 0.001
VEGF-C pg/ml	2.76 ± 0.12	3.03 ± 0.13	p= 0.15
TF4 IU/mL	294.47 ± 9.38	322.01 ± 21.00	p= 0.23

STD: Standart sapma değeri

VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRLERİ VE TROMBOSİT FAKTÖR-4 PLAZMA DÜZEYLERİNİN LÖKOSİT SAYISI, LDH VE CRP İLE İLİŞKİSİ

Lökosit sayısı $\geq 10000/\text{mm}^3$ olan hastaların ortalama VEGF-A ve TF4 değeri, lökosit sayısı $< 10000/\text{mm}^3$ olan hastalara göre yüksek idi. Bu fark, VEGF-A için istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.014$). TF4 için istatistiksel anlamlılık yoktu ($p > 0.05$). Lökosit sayısı $10000/\text{mm}^3$ 'ün üstünde olan hastaların ortalama VEGF-C düzeyi, $10000/\text{mm}^3$ 'ün altında olan hastalara göre düşük bulundu. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$) (Tablo 15). LDH değeri ≥ 240 mg/dl olan hastaların ortalama VEGF-A değeri, LDH < 240 mg/dl olan hastalara göre yüksek idi. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.036$). LDH değeri 240 mg/dl 'nin üstünde olan hastaların ortalama VEGF-C ve TF4 düzeyi, 240mg/dl 'nin altında olan hastalara göre daha düşük bulundu. Bu fark, VEGF-C için istatistiksel olarak anlamlıydı ($p= 0.038$). TF4 için istatistiksel anlamlılık yoktu ($p> 0.05$) (Tablo 16). CRP değeri ≥ 4 mg/dl olan hastaların ortalama VEGF-A ve TF4 değeri, < 4 mg/dl olan hastalara göre yüksek idi. Bu fark, VEGF-A için istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.001$). TF4 için istatistiksel anlamlılık yoktu ($p > 0.05$). CRP değeri ≥ 4 mg/dl olan hastaların ortalama VEGF-C düzeyi, $< 4\text{mg/dl}$ olan hastalara göre daha düşük bulundu. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p> 0.05$) (Tablo 17).

Tablo 15. Vasküler endotelyal büyüme faktörleri ve trombosit faktör-4 plazma düzeylerinin lökosit sayıları ile ilişkisi

Çalışılan Göstergeler	Lökosit < 10000/mm ³ Ortalama ± STD (n:24)	Lökosit ≥ 10000/ mm ³ Ortalama ± STD (n:36)	P değeri
VEGF-A pg/ml	195.4 ± 33.7	314.5 ± 32.4	p= 0.014
VEGF-C pg/ml	3.09 ± 0.17	2.82 ± 0.10	p= 0.16
TF4 IU/mL	299.70 ± 9.19	316.69 ± 20.13	p= 0.44

STD: Standart sapma değeri

Tablo 16. Vasküler endotelyal büyüme faktörleri ve trombosit faktör-4 plazma düzeylerinin LDH değerleri ile ilişkisi

Çalışılan Göstergeler	LDH < 240 mg/dl Ortalama ± STD (n:38)	LDH ≥ 240 mg/dl Ortalama ± STD (n:22)	P değeri
VEGF-A pg/ml	229.10 ± 26.62	336.97 ± 47.62	p= 0.036
VEGF-C pg/ml	3.08 ± 0.12	2.67 ± 0.14	p= 0.038
TF4 IU/mL	315.71 ± 17.60	298.17 ± 13.14	p= 0.42

STD: Standart sapma değeri

Tablo 17. Vasküler endotelyal büyüme faktörleri ve trombosit faktör-4 plazma düzeylerinin CRP değerleri ile ilişkisi

Çalışılan Göstergeler	CRP < 4 mg/dl Ortalama ± STD (n:28)	CRP ≥ 4 mg/dl Ortalama ± STD (n:32)	P değeri
VEGF-A pg/ml	183.49 ± 30.34	339.80 ± 33.31	p= 0.001
VEGF-C pg/ml	2.98 ± 0.15	2.89 ± 0.12	p= 0.649
TF4 IU/mL	303.95 ± 10.87	315.00 ± 21.82	p= 0.65

STD: Standart sapma değeri

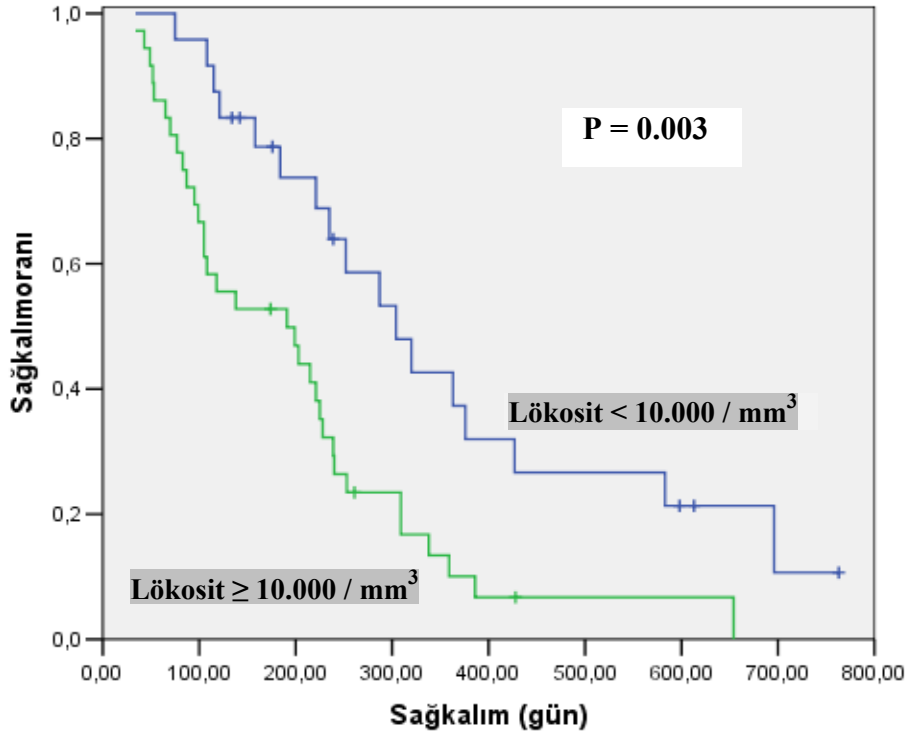
SAĞKALIM SÜRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

1. Trombosit Sayısı ve MPV Değerleri İle Sağkalım Süreleri Arasındaki İlişki

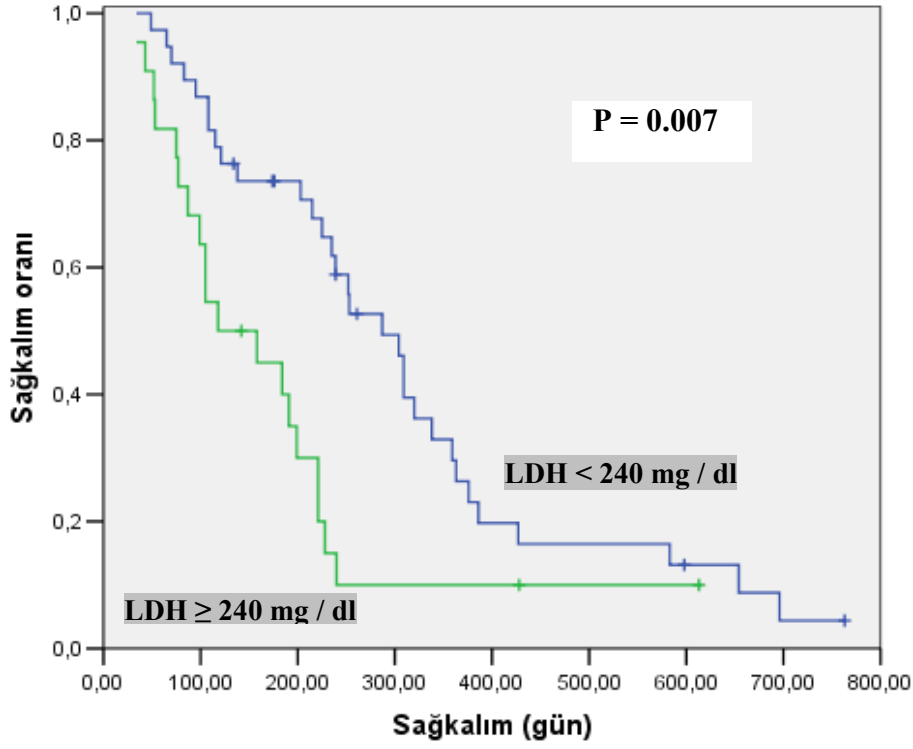
Trombosit sayısı 400 bin ve üstünde olan hastaların ortalama sağkalım süresi 243 gün, 400 binin altında olan hastaların ortalama sağkalım süresi 278 gündü. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p= 0.37). MPV değeri 7.7 fl ve üstünde olan hastaların ortalama sağkalım süresi 244 gün, 7.7 fl 'nin altında olan hastaların ortalama sağkalım süresi 298 gündü. Sağkalım süreleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p= 0.34).

2. Lökosit Sayısı, LDH ve CRP Değerleri İle Sağkalım Süreleri Arasındaki İlişki

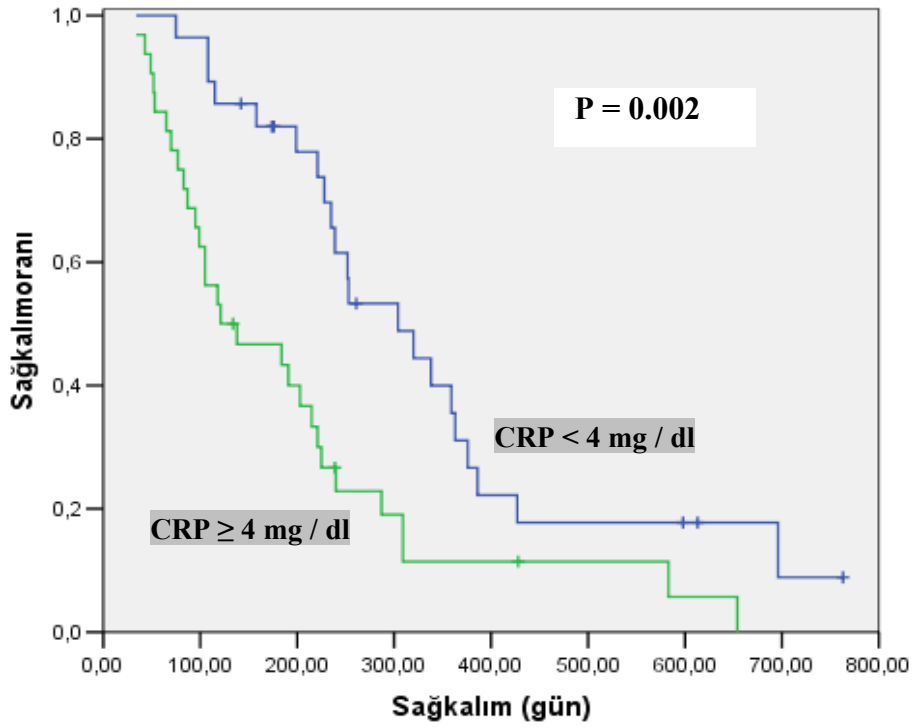
Lökosit sayısı 10 bin ve üstünde olan hastaların ortalama sağkalım süresi 204 gün (%95 GA, 150 - 257 gün), 10 binin altında olan hastaların ortalama sağkalım süresi 367 gündü (%95 GA, 270 - 463 gün). Sağkalım süreleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p= 0.003$) (Şekil 5). LDH düzeyi 240 UI/dl ve üstünde olan hastaların ortalama sağkalım süresi 182 gün (%95 GA, 114 - 249 gün), 240 UI/dl'nin altında olan hastaların ortalama sağkalım süresi 310 gündü (%95 GA, 244 - 376 gün). Yaşam süreleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p= 0.007$) (Şekil 6). CRP düzeyi; 4mg/dl ve üstünde olan hastaların ortalama yaşam süresi 199 gün (%95 GA, 137 - 262 gün), 4mg/dl'nin altında olan hastaların ortalama yaşam süresi 344 gündü (%95 GA, 264 - 424 gün). Yaşam süreleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p= 0.002$) (Şekil 7).



Şekil 5. Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda lökosit sayıları ile sağkalım süreleri arasındaki ilişkiyi gösteren sağkalım grafiği



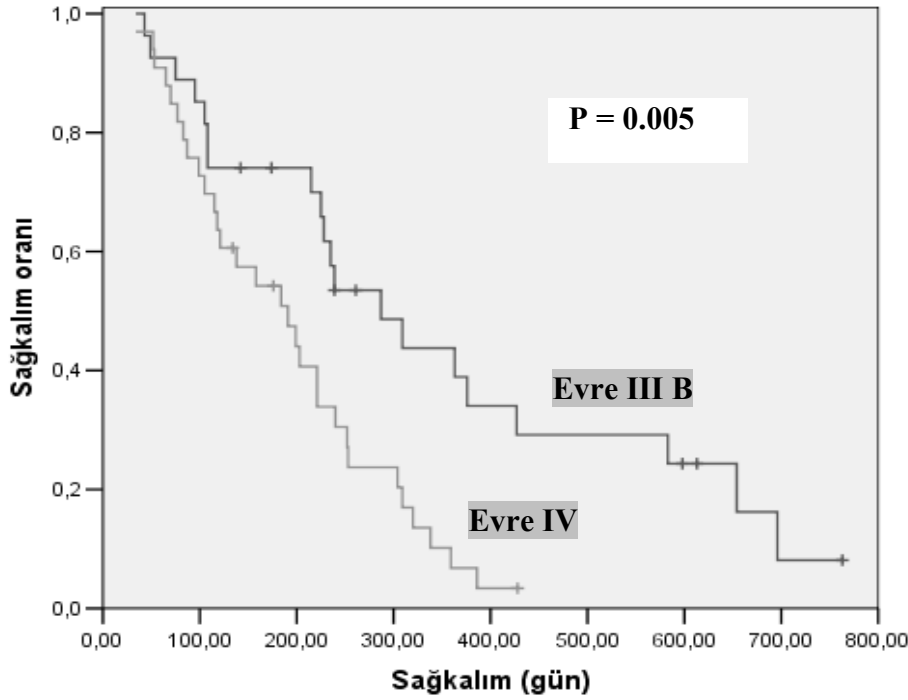
Şekil 6. Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda LDH düzeyleri ile sağkalım süreleri arasındaki ilişkiyi gösteren sağkalım grafiği



Şekil 7. Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda CRP düzeyleri ile sağkalım süreleri arasındaki ilişkiyi gösteren sağkalım grafiği

3. Hastalık Evresi İle Sağkalım Süreleri Arasındaki İlişki

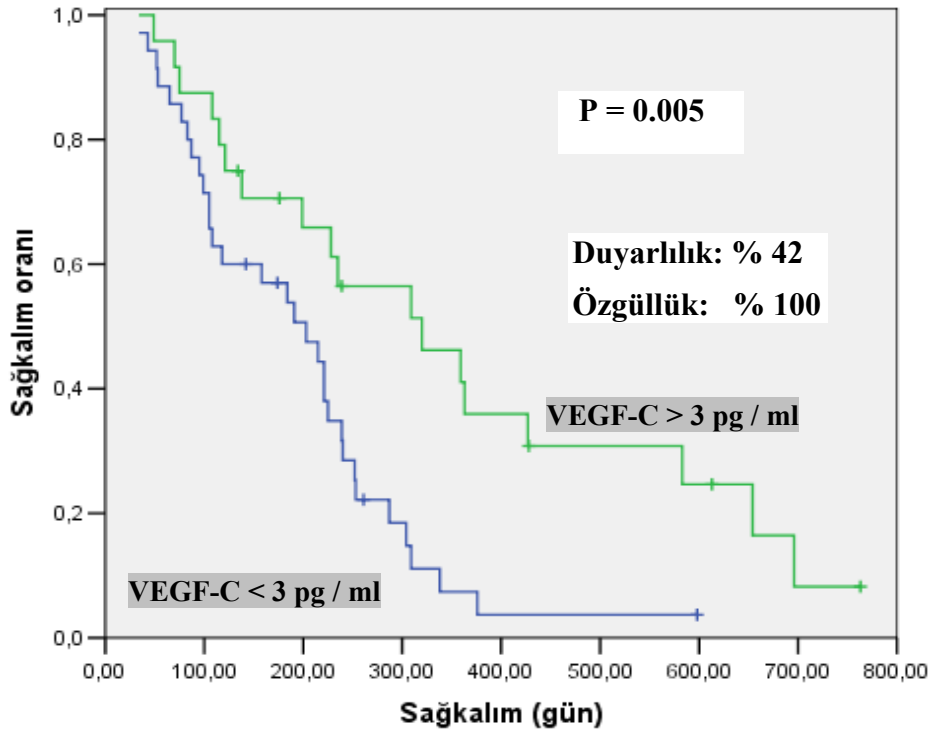
Evre IIIB'deki hastaların ortalama sağkalım süresi 354 gün (%95GA, 259 – 448 gün), evre IV'deki hastaların ortalama sağkalım süresi 191 gündü (%95GA, 154 – 229 gün) ($p = 0.005$) (Şekil 8).



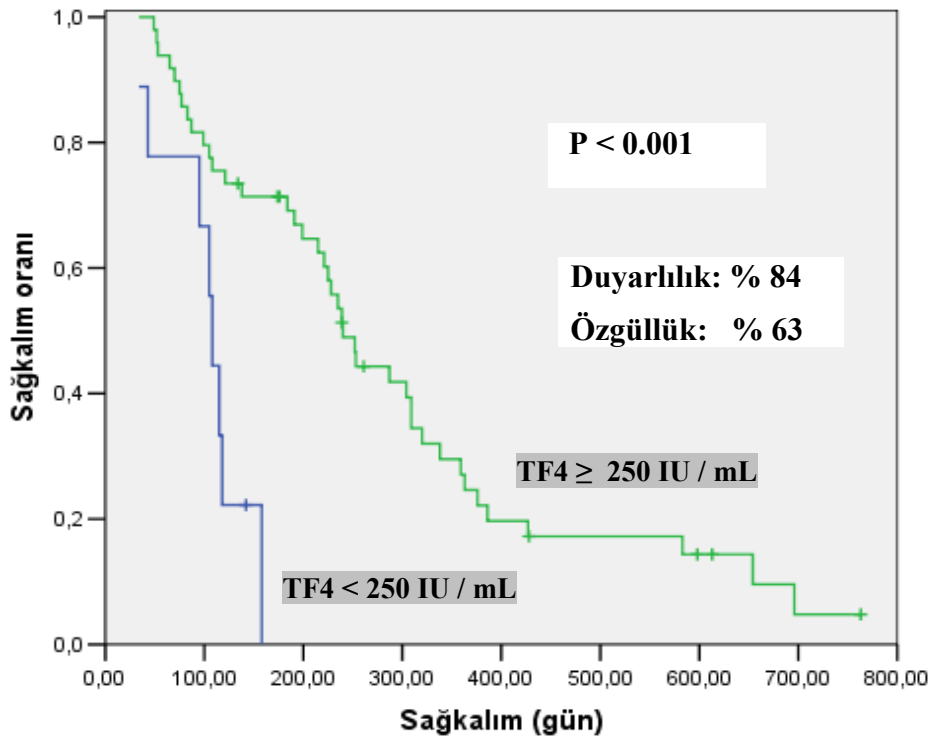
Şekil 8. Evre ile sağkalım süreleri arasındaki ilişkiyi gösteren sağkalım grafiği

4. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörleri ve Trombosit Faktör-4 Plazma Düzeylerinin Sağkalım Süreleri İle İlişkisi

VEGF-A düzeyi 240 pg/ml'nin üstünde olan 28 hastanın ortalama sağkalım süresi 239 gün (% 95 GA, 166 – 313 gün), 240 pg/ml'nin altında olan 32 hastanın ortalama sağkalım süresi 296 gündü (%95 GA, 215 – 376 gün). Sağkalım süreleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p= 0.32$). VEGF-C düzeyi 3 pg/ml'nin üstünde olan 24 hastanın ortalama sağkalım süresi 360 gün (% 95 GA, 260 - 460 gün), 3 pg/ml'nin altında olan 35 hastanın ortalama sağkalım süresi 196 gündü (%95 GA, 153 - 238 gün). Sağkalım süreleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p= 0.005$) (Şekil 9). TF4 düzeyi; 250 IU/mL'nin altında olan 9 hastanın ortalama sağkalım süresi 104 gün (%95 GA, 75 – 132 gün), 250 IU/mL ve üstünde olan 49 hastanın ortalama sağkalım süresi 295 gündü (%95 GA, 235 -356 gün). Sağkalım süreleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.001$) (Şekil 10).



Şekil 9. Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda plazma VEGF-C düzeyleri ile sağ kalım süreleri arasındaki ilişkiyi gösteren sağkalım grafiği



Şekil 10. Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda plazma TF4 düzeyleri ile sağkalım süreleri arasındaki ilişkiyi gösteren sağkalım grafiği

5. VEGF-C ile VEGF-A Arasındaki Oranın Sağkalım Süreleri İle İlişkisi

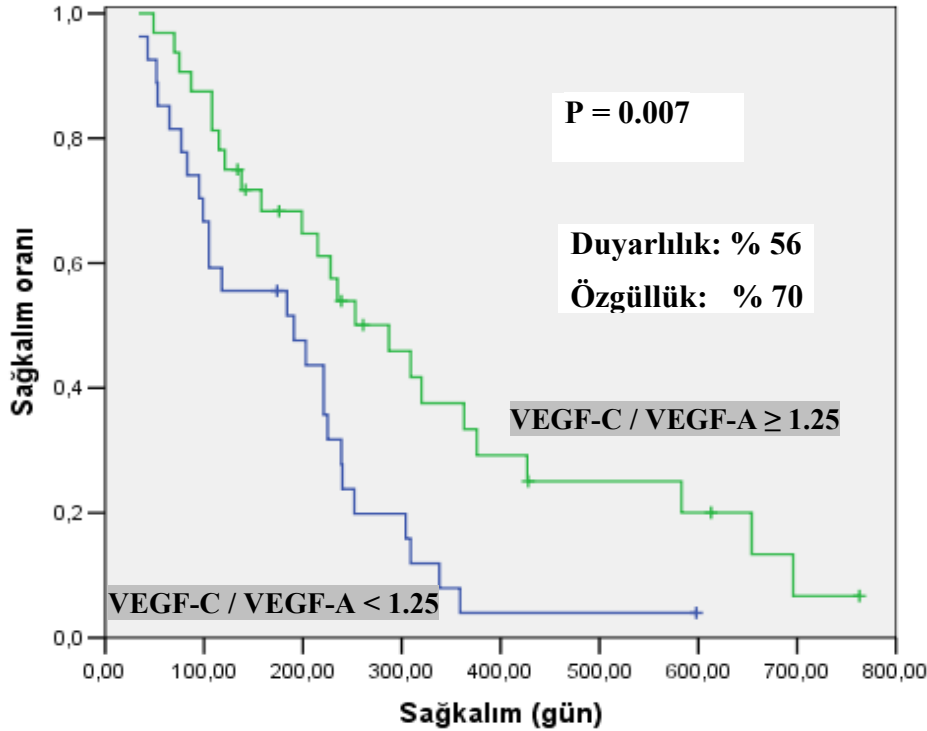
VEGF-C VEGF-A oranı ≥ 1.25 olan 32 hastanın ortalama sağkalım süresi 331 gün (%95 GA, 247 - 415 gün), < 1.25 olan 27 hastanın ortalama sağkalım süresi 188 gündü (%95 GA, 140 - 237 gün). Sağkalım süreleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p = 0.007$) (Şekil 11).

6. VEGF-C ile TF4 Arasındaki Oranın Sağkalım Süreleri İle İlişkisi

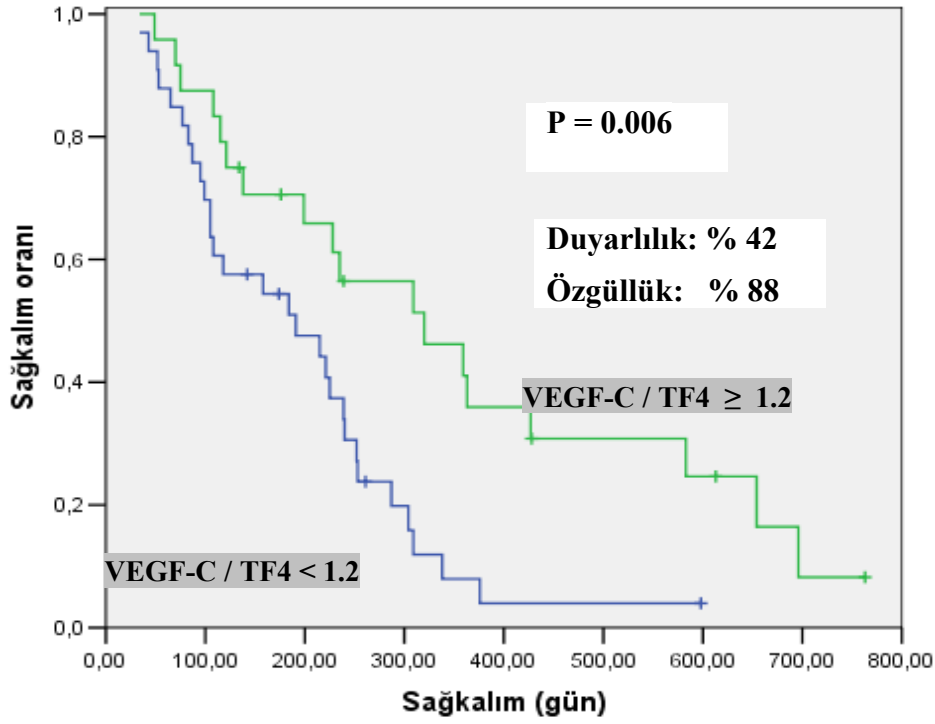
VEGF-C TF4 oranı ≥ 1.2 olan 24 hastanın ortalama sağkalım süresi 360 gün (%95 GA, 260 - 460 gün), < 1.2 olan 33 hastanın ortalama sağkalım süresi 195 gündü (%95 GA, 150 - 240 gün). Sağkalım süreleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p = 0.006$) (Şekil 12).

7. VEGF-A ile TF4 Arasındaki Oranın Sağkalım Süreleri İle İlişkisi

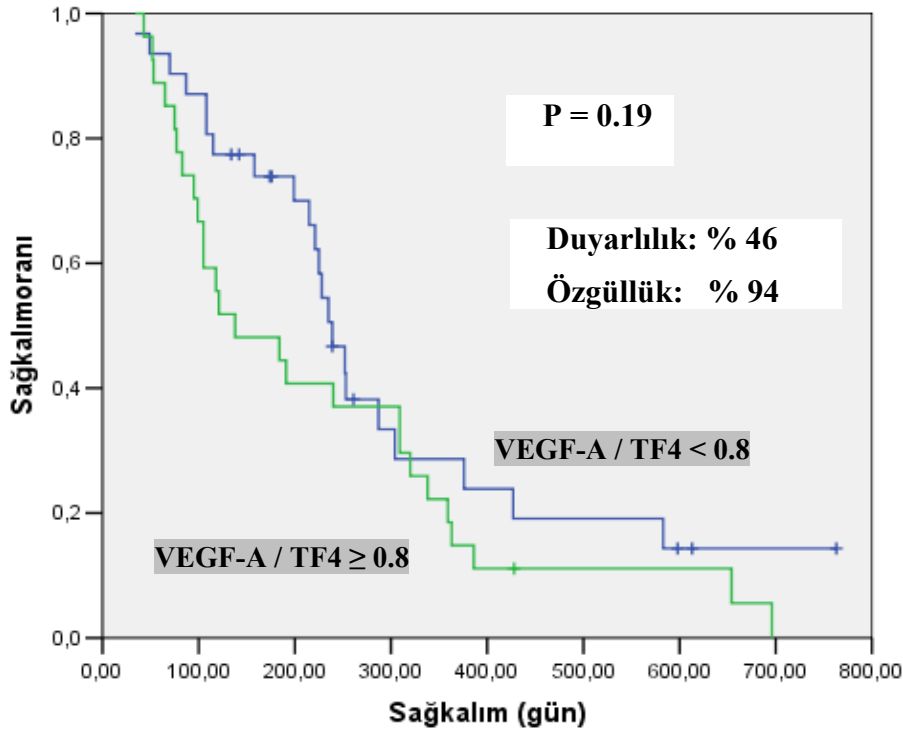
VEGF-A TF4 oranı ≥ 0.8 olan 27 hastanın ortalama sağkalım süresi 231 gün (%95 GA, 158–305gün), < 0.8 olan 31 hastanın ortalama sağkalım süresi 310 gündü (%95 GA, 231 - 410 gün). Sağkalım süreleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p = 0.19$). (Şekil 13).



Şekil 11. Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda VEGF-C ile VEGF-A arasındaki logaritmik oranın sağkalım süreleri ile ilişkisini gösteren sağkalım grafiği



Şekil 12. Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda VEGF-C ile TF4 arasındaki logaritmik oranın sağkalım süreleri ile ilişkisini gösteren sağkalım grafiği



Şekil 13. Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda VEGF-A ile TF4 arasındaki logaritmik oranın sağkalım süreleri ile ilişkisini gösteren sağkalım grafiği

Tek değişkenli analizde, sağkalım süreleri açısından anlamlı çıkan prognostik faktörler, çok değişkenli analize alındı. Lökosit sayısı ($p = 0.405$), LDH değeri ($p = 0.99$) ve VEGF-C / VEGF-A oranı istatistiksel olarak anlamlılığını yitirdi ($p = 0.34$). TF4 değeri ile ($p = 0.002$), VEGF-C / TF4 oranı ($p = 0.006$) bağımsız prognostik faktörler olarak saptandı. VEGF-C değeri ($p = 0.065$), CRP ($P = 0.076$), ve hastalık evresi ($P = 0.07$) istatistiksel olarak anlamlılığa yakın bulundu.

Aşağıdaki tablolarda, KHDAK 'li hastaların; yaş, cins, evre , tümör histopatolojik alt tip, VEGF-A, VEGF-C ve TF4 plazma düzeyleri ve sağlıklı kontrol grubunun; yaş, cins, VEGF-A, VEGF-C ve TF4 plazma düzeylerinin yer aldığı klinik ve demografik genel özellikleri gösterilmektedir (Tablo 18 ve Tablo 19).

Tablo 18. Çalışmaya katılan hastaların genel özellikleri

Sıra	Protokol no	İsim	Yaş	Hücre tipi	Evre	VEGF-A (pg/ml)	VEGF-C (pg/ml)	TF4 (IU/mL)
1.	208727	BA	65	yassı hücreli	IV	545.55	-	263.70
2.	9057	RG	78	adenokarsinom	IIIB	591.52	1626.83	266.90
3.	171748	FE	51	büyük hücreli	IV	289.02	42.83	316.90
4.	174886	SK	45	KHDAK	IV	262.35	859.92	314.80
5.	229849	AÖ	71	adenokarsinom	IIIB	181.58	343.10	292.40
6.	199920	AB	65	yassı hücreli	IV	573.34	636.39	292.50
7.	228710	OA	70	yassı hücreli	IV	53.32	1363.22	300.70
8.	198056	AB	66	KHDAK	IIIB	104.14	6230.79	243.30
9.	82220	AÖ	54	KHDAK	IV	504.86	1350.94	268.40
10.	60269	ET	70	yassı hücreli	IIIB	434.02	378.00	320.90
11.	283958	KA	77	KHDAK	IIIB	45.38	378.00	295.10
12.	196270	AD	62	yassı hücreli	IV	223.54	155.82	-
13.	199247	KD	42	adenokarsinom	IV	607.71	176.93	373.30
14.	181367	ST	42	KHDAK	IV	433.69	587.17	296.70
15.	184354	SS	47	KHDAK	IV	366.07	12473.85	279.30
16.	289335	SD	69	KHDAK	IIIB	300.21	1626.83	382.80
17.	8710	AM	60	adenokarsinom	IIIB	73.49	310.37	307.60
18.	167877	ZS	52	KHDAK	IV	629.51	742.69	324.30
19.	143326	MD	40	adenokarsinom	IIIB	407.67	343.10	233.40
20.	105686	AD	55	KHDAK	IV	404.17	1129.07	301.60
21.	44188	ÜE	72	adenokarsinom	IV	226.70	343.10	334.90
22.	82698	RY	68	adenokarsinom	IIIB	242.97	343.10	353.40
23.	161381	SÖ	67	KHDAK	IV	118.64	1129.07	324.20
24.	280424	EB	57	KHDAK	IV	37.26	136.43	474.20
25.	196987	NK	50	adenokarsinom	IV	579.74	102.50	362.20
26.	176545	ME	67	yassı hücreli	IIIB	678.32	454.54	174.90
27.	199212	ŞG	60	yassı hücreli	IIIB	32.47	636.39	328.40
28.	241477	SF	67	yassı hücreli	IIIB	84.80	52.17	328.40
29.	294230	İK	71	adenokarsinom	IV	36.97	224.52	215.80
30.	201136	AD	73	yassı hücreli	IIIB	343.56	1626.83	342.70

Tablo 18. (Devamı) Çalışmaya katılan hastaların genel özellikleri

Sıra	Protokol no	İsim	Yaş	Hücre tipi	Evre	VEGF-A (pg/ml)	VEGF-C (pg/ml)	TF4 (IU/mL)
31.	173949	MB	64	adenokarsinom	IV	418.21	496.31	-
32.	280954	SA	74	KHDAK	IIIB	164.40	540.50	891.8
33.	170163	AG	73	KHDAK	IV	583.30	62.73	306.40
34.	241835	KO	59	yassı hücreli	IIIB	48.41	742.69	343.60
35.	160333	İE	58	yassı hücreli	IIIB	108.27	1626.83	264.50
36.	200569	NE	53	KHDAK	IV	390.61	62.73	381.30
37.	141893	MA	52	adenokarsinom	IV	57.70	922.78	307.50
38.	165319	AK	75	yassı hücreli	IV	539.97	8181.02	255.20
39.	305733	HG	51	KHDAK	IV	144.57	343.10	216.30
40.	179140	SÇ	69	yassı hücreli	IV	134.85	1921.52	327.20
41.	305209	MA	50	KHDAK	IV	142.29	3293.50	310.40
42.	193301	RE	82	KHDAK	IIIB	240.55	540.50	222.80
43.	297769	YG	74	yassı hücreli	IIIB	150.55	4254.53	263.00
44.	163263	İM	53	yassı hücreli	IIIB	331.87	4254.53	288.50
45.	210676	SÇ	48	KHDAK	IIIB	561.68	4083.17	313.00
46.	305286	İT	70	KHDAK	IIIB	11.94	74.60	211.50
47.	177578	BG	77	yassı hücreli	IIIB	487.59	2871.34	263.30
48.	190211	GT	51	KHDAK	IV	516.14	7918.20	305.20
49.	169577	SG	48	yassı hücreli	IIIB	83.64	454.54	280.90
50.	207513	SK	45	adenokarsinom	IIIB	175.23	8723.54	313.30
51.	252666	SG	54	KHDAK	IIIB	153.10	10805.22	326.60
52.	248340	FK	66	KHDAK	IIIB	72.57	1126.54	357.20
53.	137647	KS	65	adenokarsinom	IV	121.87	11454.01	256.90
54.	179597	GU	73	yassı hücreli	IV	348.08	224.52	350.90
55.	171145	MZ	38	yassı hücreli	IV	65.00	102.50	294.80
56.	19793	MÖ	55	yassı hücreli	IIIB	160.37	15078.61	344.60
57.	197817	HS	57	KHDAK	IV	227.23	18013.34	255.10
58.	301085	HK	80	KHDAK	IIIB	9.94	18460.58	181.20
59.	213200	ZB	61	adenokarsinom	IV	202.09	343.10	222.40
60.	169243	HA	66	yassı hücreli	IV	333.66	199.80	326.30

Tablo 19. Sağlıklı kontrol grubunun genel özellikleri

Sıra	Protokol no	İsim	Yaş	VEGF-A (pg/ml)	VEGF-C (pg/ml)	TF4 (IU/mL)
1.	19881	BY	40	55.57	717.45	181.6
2.	139737	MG	53	57.09	447.18	157.6
3.	26513	KY	54	81.92	332.76	174.4
4.	327620	LK	35	89.99	95.15	268.5
5.	27661	NS	61	90.51	98.03	282.3
6.	25660	MA	57	91.01	173.38	251.2
7.	191257	RK	47	94.39	153.34	415.4
8.	186571	KG	55	95.28	98.92	246.6
9.	326622	SY	37	98.00	82.10	272.3
10.	78567	MT	45	98.22	425.05	144.6
11.	10234	HA	52	99.09	375.13	181.2
12.	76072	YY	66	102.00	605.17	178.4
13.	62257	ŞC	53	102.47	153.12	205.9
14.	321547	OK	36	102.63	65.18	281.0
15.	104835	MÜ	67	104.55	198.23	342.7
16.	7393	FE	68	105.62	349.33	256.9
17.	49302	MÖ	74	110.67	551.72	225.2
18.	104389	MA	82	100.10	69.23	388.6
19.	167039	EF	61	101.28	197.13	237.1
20.	102147	HE	53	112.30	115.47	260.9
21.	128756	SK	55	115.76	257.92	200.0
22.	293682	HT	75	106.28	687.91	253.6
23.	40460	MB	65	107.82	103.12	230.4
24.	46469	ÜS	47	87.12	220.51	196.5
25.	243445	AS	63	110.13	213.57	230.6
26.	103786	FB	42	86.17	89.17	224.4
27.	321186	NK	49	103.51	149.74	246.8
28.	77551	NY	48	75.14	339.75	183.7

Tablo 19. (Devamı) Sağlıklı kontrol grubunun genel özellikleri

Sıra	Protokol no	İsim	Yaş	VEGF-A (pg/ml)	VEGF-C (pg/ml)	TF4 (IU/mL)
29.	31569	İS	65	106.39	173.12	316.7
30.	209147	MM	78	107.24	637.18	208.7
31.	4142	NI	48	109.04	298.03	186.4
32.	326166	ÖT	62	109.23	103.55	233.4
33.	42461	AB	58	110.03	215.98	247.2
34.	287569	FB	75	187.65	567.39	260.5
35.	263187	MT	77	194.33	591.09	211.3
36.	162251	CG	78	211.34	697.34	181.9
37.	328215	MÇ	76	92.49	624.18	174.5
38.	49829	SB	38	98.00	72.87	248.4
39.	33150	NA	56	92.18	349.01	175.2
40.	84705	İA	74	108.58	165.16	227.7
41.	323292	HD	59	109.44	78.17	255.0
42.	287321	YE	44	91.02	418.25	159.6
43.	286423	FE	50	92.44	354.87	159.6
44.	325841	CK	38	97.12	51.57	335.9
45.	284957	AH	39	97.32	79.12	277.7

TARTIŞMA

Akciğer kanseri, dünyada kansere bağlı ölümlerin başında gelmektedir. Akciğer kanserinin büyük kısmını küçük hücreli dışı akciğer kanseri oluşturmakta, bunun da büyük bir kısmı opere edilemeyecek durumdaki ileri evrede saptanmaktadır. İleri evre akciğer kanserinde, yeni geliştirilen kemoterapötik ilaçlara rağmen tedavide yaşam uzatılmasına ve şifaya yönelik büyük adımlar halen atılamamıştır. Bu olumsuz durum, akciğer kanserli hastalarda yeni tedavi arayışlarına yol açmış ve, akciğer kanserinin moleküler biyolojisi ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır. Tümör büyümesi ve yayılmasının yeni damar oluşumuna bağımlılığı yeni araştırma konusu olmuştur. Tümörün in vivo olarak büyüme ve genişlemesinin, varolan damarlardan yeni damar oluşmaya başlamadan meydana gelmediği bilinmektedir. Bu yeni damar oluşum süreci neoangiogenez olarak adlandırılmaktadır. Angiogenez, insan vücudunda doğal olarak ortaya çıkan bir süreç olup, angiogenik ve antianjiogenik faktörler arasındaki denge ile kontrol altında tutulur. Angiogenik ve antianjiogenik faktörler arasındaki bu denge, angiogenik faktörler lehine bozulduğunda kontrolsüz angiogenez gerçekleşir ve bu da tümör büyümesi ve yayılması gibi patolojik durumlarda söz konusudur.

Biz çalışmamızda; ileri evre küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların tanı anındaki plazma VEGF-A, VEGF-C ve TF4 düzeylerini ölçtük ve sağlıklı bireyler ile karşılaştırdık. VEGF-A ekspresyonu KHDAK'lı hastaların %50-95'inde bildirilmiştir (176). Takigava ve ark (181) ile Kaya ve ark (183)'nın yaptığı çalışmalarda da KHDAK'lı hastaların serum VEGF düzeyleri sağlıklı bireylere göre yüksek bulunmuştur. Bizde çalışmamızda KHDAK'lı hastalarda plazma VEGF-A düzeylerini sağlıklı bireylere göre yüksek saptadık. Kolorektal kanserli hastalarda indirekt ELİSA yöntemi ile ölçülen VEGF-C protein düzeyleri

sağlıklı bireylere göre üç kat yüksek bulunmuştur (107). Bizde çalışmamızda KHDAK'li hastaların plazma VEGF-C seviyelerini sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak yüksek bulduk VEGF-C ile ilgili akciğer kanserli olgularda çok az sayıda çalışma vardır ve bu konuda fikir birliği yoktur. Akciğer kanserli olgularda TF4 ile ilgili insan çalışması ve karşılaştırmalı çalışma yoktur. Biz çalışmamızda TF4'ün KHDAK'li hastalarda, sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak yüksek olduğunu gösterdik.

Hastalık evresi ile VEGF-A, VEGF-C ve TF4 plazma düzeyleri ile arasında istatistiksel ilişki yoktu. VEGF-A için benzer sonuç, Demirkazık ve ark (182)'nin yaptığı çalışmada da bulunmuştur Ancak çalışmamızda, VEGF-A düzeyleri metastatik hastalarda, metastazı olmayanlara göre yüksekti ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı p değerine yakındı ($p = 0.056$). Bu sonuç bize, daha fazla sayıdaki hasta grubu ile yapılacak bir çalışmada, VEGF-A'nın metastaz durumu ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Çünkü VEGF-A'nın, ekstraselüler matriksi parçalayan enzimleri (matriks metalloproteazlar) aktive ederek invazyon ve metastazı kolaylaştırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (56). VEGF-C ve TF4 plazma düzeyleri, hastalık evresi ile ters ilişkili olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi. KHDAK'li fareler üzerinde yapılan bir çalışmada TF4'ün metastaz oluşumunu önlediği gösterilmiştir (188). Bizim çalışmamızda da metastazı olmayan hastaların TF4 düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yüksek çıkması, TF4 'ün metastazı engellediği fikrini desteklemektedir. Bu konuyla ilgili geniş çaplı insan çalışmalarına ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz. VEGF-C'nin tümör hücreleri tarafından ekspresyonu ile, tümör progresyonu ve metastatik tümör yayılımı arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Bu bulgu, insan tümörlerinin progresyonunda lenfanjiogenezin önemli bir rolü olduğunu göstermiştir (101). Çalışmamızda, metastaz durumu ile plazma VEGF-C düzeyleri arasında ilişki yoktu. Aksine, metastazı olan hastaların VEGF-C düzeyleri daha düşüktü. Son yapılan araştırmalarda, tümör çevresindeki lenfatik damarların disfonksiyon gösterdiği bulunmuş ve bu yeni gelişen lenfatik damarların intralüminal kapaklarının, muhtemel disfonksiyonu ile ilişkili olabilecek geriye doğru akım paterni gösterdiği bildirilmiştir (192). Yapılan başka bir çalışmada, meme kanserli hastaların tümör dokularındaki artmış VEGF-C düzeylerinin nodal tutulum ve damar invazyonu ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir (112). Bu sonuçlar, çalışmamızda VEGF-C ile metastaz arasında ilişki olmamasını destekler nitelikte idi Biz bu konuyla ilgili olarak, akciğer kanseri ve diğer kanserlerde lenfanjiogenez süreci, bu sürecin tümör metastazına olan katkısı ve lenfanjiogenezde rol oynayan VEGF-C, VEGF-D, VEGF-A ve bunların reseptörleri ile ilgili yapılacak çok yönlü çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Tedavi yanıtı ile, VEGF-A, VEGF-C ve TF4 plazma düzeyleri arasında ilişki yoktu. VEGF-A düzeyi ilerleyici hastalığı olan hastalarda daha yüksek, TF4 ise parsiyel yanıt ve stabil hastalığı olan hastalarda daha yüksekti. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Biz bu durumun, çalışmamızda yer alan hastaların bir grubunun yalnız kemoterapi, bir grubunun kemoterapi ile birlikte radyoterapi almasına ve hastalarda farklı kemoterapi uygulamalarının yapılmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Tek bir hastalık evresinde, aynı tedavi verilen, daha fazla hasta sayısı ile yapılacak bir çalışmada, ya da aynı hastalık evresinde iki ayrı hasta grubu oluşturularak, farklı iki kemoterapi protokolü ve/veya bir gruba kemoterapi, bir gruba kemoterapi ile birlikte radyoterapi verildikten sonra VEGF-A ve TF4 düzeylerinin tekrar belirlenip tanı anındaki değerler ile karşılaştırılmasının ve tedavi yanıtına bakılmasının olumlu sonuçlar verebileceğini ve böylece anjiogenik ve antianjiogenik moleküllerin hangi kemoterapötik ajana daha duyarlı olduğunun ve radyoterapinin anjiogeneze sürecine etkisinin de saptanabileceğini düşünmekteyiz. Bu öngörümüze benzer şekilde Doğan (39)'ın yaptığı çalışmada; KHDAK 'li hastalarda, radyoterapinin tek başına ve/veya kemoterapi ile birlikte verildiğinde serum VEGF düzeylerini tanı anındaki değerlere göre anlamlı ölçüde düşürdüğü gösterilmiştir.

KHDAK'li hastaların tümör histopatolojik alt tipi ile VEGF-A, VEGF-C ve TF4 plazma düzeyleri arasında ilişki yoktu. Shimanuki ve ark (184)'nın yaptığı çalışmada; yassı hücreli kanserde, adenokarsinoma göre serum VEGF düzeyleri yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda, 60 KHDAK'li hastanın 23'ü (%38.3) tiplendirilemeyen grupta idi. Yassı hücreli kanser sayısı 22, ve adenokarsinom sayısı 14 idi. Biz, histopatolojik alt tip ile VEGF-A, VEGF-C ve TF4 arasında ilişki olmamasını, histolojik alt tipi bilinen hasta sayımızın az olmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Bu konuda daha fazla hasta sayısı ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Akciğer kanserinde trombositozun önemli bir prognostik faktör olduğu belirtilmiştir (193). Gislason ve ark (194)'nın yaptığı çalışmada trombosit sayısı ile sağkalım süreleri arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirtilirken, Lopes ve ark (195)'nin yaptığı çalışmada trombosit sayısının sağkalım süreleri üzerine bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir. Akciğer kanserinde trombositoz sıklığı ilgili yapılan birçok çalışmada %10-60 arasında farklı sonuçlar bildirilmiştir (196). Tümör hücreleri ile trombositler arasındaki etkileşimin prognozu kötü yönde etkileyecek metastaz gelişimine katkıda bulunabileceği düşünülse de, trombosit sayısının prognostik önemi henüz net olarak tanımlanmamıştır (197). Çalışmamızda, 400.000 /mm³ ve üzerindeki değerler diğer çalışma sonuçlarıyla uyumlu olarak trombositoz şeklinde yorumlandı (198). Trombosit sayısı ile sağkalım süreleri arasında ilişki yoktu.

Çalışmamızdaki trombositoz sıklığı, diğer bazı çalışma sonuçlarıyla uyumlu olmasına rağmen genel olarak bakıldığında düşüktü. Biz bu durumun, KHDAK'li hastalarımızdaki yüksek TF4 düzeylerine bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Çünkü TF4 megakaryopoezi ve dolayısıyla trombosit yapımını inhibe etmektedir (168). TF4'ün trombositlerde yapıldığı ve trombosit aktivasyonu ile dolaşıma salındığı bilinmektedir (135). Aynı şekilde VEGF-A'nında trombositlerde varlığı gösterilmiştir (77). Shimanuki ve ark (184)'nın çalışmasında, KHDAK'li hastaların serum VEGF düzeyleri ile trombosit sayıları arasında güçlü bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Biz de çalışmamızda, trombositozu olan hastaların VEGF-A ve TF4 plazma düzeylerini, trombositozu olmayan hastalara göre yüksek bulduk. Ortalama trombosit hacmi ile plazma VEGF-A düzeyleri arasında da güçlü bir ilişki vardı. Biz; bu bilgiler ve sonuçlar doğrultusunda, KHDAK'li hastalarda VEGF-A ve TF4 kaynağının tümör hücrelerinden çok trombositler olduğunu düşünmekteyiz. Bu konuda daha fazla hasta sayısı ile yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

İnflamasyon ve kanser gibi durumlarda hem anjiogenez hemde lökosit infiltrasyonu patogeneizde rol oynamaktadır. Tümörlerin ilişkili olduğu nötrofiller ve makrofajlardan büyüme faktörlerinin salınımı tümörün gelişmesine katkıda bulunur (199). Ayrıca tümör hücresi, sitotoksik T lenfositlerini ve doğal öldürücü hücrelerini de uyarak, tümör gelişiminde bu hücrelerinde katkısına yol açmaktadır (200). Eş zamanlı olarak tümörlerdeki anjiogenik ve antianjiogenik faktörler arasındaki dengenin bozulması da, tümör gelişimi için gerekli kan damarlarının oluşumunu sağlar (45). Biz bu bilgiler ışığında; KHDAK'li hastaların tanı anındaki VEGF-A, VEGF-C ve bir CXC kemokini olan TF4 plazma düzeylerinin, KHDAK'li hastaların tanı anındaki lökosit, CRP ve LDH gibi inflamasyon ürünleri ile olan ilişkisini araştırdık. Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda yapılan çalışmalarda; lökosit sayısının bağımsız prognostik faktör olduğu, tanı anındaki yüksek LDH ve CRP düzeylerinin prognostik öneminin olduğu (201) gösterilmiştir. Ülkemizde, çok yakın zamanda Ursavaş ve ark (202)'nin 40 primer akciğer kanserli (31 KHDAK, 9 KHAK) hasta ile yaptıkları çalışmada, serum VEGF-A düzeyleri sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak yüksek bulunmasına rağmen, tanı anındaki VEGF-A düzeyleri ile LDH seviyeleri arasında ilişki bulunamamıştır. Biz çalışmamızda, KHDAK'li hastaların lökosit sayısı, LDH ve CRP değerlerinin arttığını ve artmış lökosit sayısının, LDH ve CRP düzeylerinin sağkalımı olumsuz etkilediğini diğer çalışmalara benzer şekilde gösterdik. Çalışmamızda, KHDAK'li hastaların tanı anındaki lökosit sayısı, CRP ve LDH değerleri ile VEGF-A düzeylerinin ilişkili olduğunu, lökositozu olan, CRP ve LDH düzeyleri ortalamanın üstünde olan hastalarda, plazma VEGF-A düzeylerinin daha yüksek olduğunu bulduk. VEGF-A'nın güçlü bir şekilde

endotel hücrelerinden bazı adezyon moleküllerinin yapımını arttırarak; nötrofil, monosit, makrofaj ve doğal öldürücü hücrelerin damar dışına çıkıp inflamasyon alanında toplanmasına yardımcı olması, VEGF-A'nın inflamasyonla olan bu ilişkisini desteklemektedir (86,91). TF4 düzeyleri ile inflamasyon ürünleri arasında ilişki yoktu. TF4, aktive insan T hücrelerinin proliferasyonunu inhibe eder ve tümörü infiltre eden lenfositlerin proliferasyonunu önleyerek tümör stromasından sitokin salınımı engeller (144). TF4, nötrofil, monosit ve makrofajlar için daha zayıf bir kemotaktik kemokin olup, daha ziyade anjiogenezin düzenlenmesinde görev alır (154). TF4'ün bu özellikleri bizim sonucumuzu destekler niteliktedir. KHDAK'deki anjiogenezin düzenlenmesinde CXC kemokinlerinin rolü gösterilmişti (187). Burada, anjiogenik/ antianjiogenik denge anjiogenez uyaranları lehineydi. Zaten, hastalarımızdaki TF4 düzeylerinin yüksek olması da bize, tümördeki antianjiogenik aktivitenin anjiogenik aktiviteyi baskılamak için uğraş verdiğini düşündürmektedir. KHDAK'deki tümör modelimizde, anjiogenik dengenin anjiogenez uyaranları lehinde olduğunu hatırlayacak olursak, artmış anjiogenik CXC kemokinlerinin de inflamatuvar sürece katkısının olacağı aşıkardır. Anjiogenik bir CXC kemokin olan IL-8'in nötrofiller için güçlü bir kemotaktik sitokin olması ve insan KHDAK'de varlığının gösterilmiş olması görüşümüzü desteklemektedir (185). Sonuç olarak; VEGF ve CXC kemokinler kanserde hem inflamasyon hemde anjiogenez sürecini etkilerler. TF4 bu süreçte inflamasyondan çok anjiogenez üzerinde etkilidir. Bu sürecin düzenlenmesindeki bozukluklar inflamasyonun uzamasına ve anjiogenezin ilerlemesine yol açmaktadır

Hastalarımızdaki VEGF-C düzeyleri ise, VEGF-A'nın aksine inflamasyon ürünleri ile ters ilişkiydi. VEGF-C düzeyleri lökositozu olan, CRP ve LDH düzeyleri ortalamanın üstünde olan hastalarda daha düşüktü. Bizim bu durumla ilgili iki öngörümüz vardır. Birincisi; inflamasyonla birlikte artan VEGF-A'nın, ortama çektiği lökositlerden VEGF-C'nin salgılanmasına yol açması ve tümörün oluşturduğu yeni damarlarda VEGF-C konsantrasyonunun artarak plazmada yalancı bir VEGF-C düşüklüğü yaratmasıdır. Bu öngörümüzü, VEGF-C'nin stromal hücreler ve makrofajlar tarafından salınması ve VEGF-A'nın makrofajları inflamasyonun olduğu bölgeye göç etmesini sağlaması desteklemektedir (106). İkinci öngörümüz; bizim plazmada ölçtüğümüz VEGF-C, VEGF-C'nin işlem görmemiş , kısmi işlem görmüş ya da olgun VEGF-C formlarının birarada olduğu heterojen bir ölçümdü ve asıl aktif olan olgun VEGF-C akciğer kanserindeki inflamatuvar sürece katılıyordu. Çünkü VEGF-C etkisini VEGFR-3 üzerinden göstermekte ve olgun formlardaki VEGF-C'inde VEGFR-3'e affinitesi daha fazladır (104). KHDAK'li hastalarımızın plazma

VEGF-C düzeylerinin geniş bir dağılım aralığında olmasıda bizim bu öngörümüzü destekler niteliktedir.

Akciğer kanserinde bir çok faktörün prognostik önemi olduğu bilinmektedir. Özellikle performans durumu ve hastalık evresinin önemi net bir şekilde açıklanmıştır (203). Biz, çalışmamıza Karnofsky performans ölçeği %80 ve üstünde olan hastaları dahil ettiğimiz için, sağkalım hesaplarında performans durumunu değerlendirilmeye almadık. Çalışmamızda hastalık evresi ile sağkalım süreleri ilişkiliydi.

Bazı kanserlerin aksine, akciğer kanseri için organ spesifik, yada ideal bir tümör belirleyicisi henüz saptanamamıştır. Duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek bir tümör belirleyicisi, akciğer kanserinde daha erken tanı konulmasını sağlayabilir ve tedavi başarısını arttırabilir. KHDAK'li hastaların tümör dokularındaki yüksek VEGF düzeylerinin, tümördeki anjiogenezin şiddetini yansıttığı ve hastalık prognozunu kötü yönde etkilediği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (95-97). Son 20 yılda, anjiogenik proteinlerin serum ve plazma düzeylerinin hastalık prognozu ve hastalık ilerlemesine etkisi üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar, yaygın hastalığı olanlarda olumlu sonuçlar versede, erken evre tümörlerde VEGF ve diğer anjiogenezis düzenleyici proteinlerin serum ve plazma düzeylerinin güvenilirliği kesin değildir. Shimanuki ve ark (184)'nın çalışmasında; KHDAK'li hastalarda potansiyel anjiyogenezin teşhisinde serum VEGF konsantrasyonlarının belirlenmesinin oldukça faydalı olduğu bildirilmiştir. Bratstrom ve ark (204)'ları, KHDAK'li hastaların serum örneklerinde FGF ve VEGF düzeylerini ölçmüşler ve artmış serum FGF düzeylerinin kötü prognozla ilişkili olduğunu, VEGF düzeylerinin ise hastalık prognozu ile ilişkili olmadığını bildirmişlerdir. Biz bu bilgiler doğrultusunda; KHDAK'li hastaların tanı anındaki VEGF-A plazma seviyelerinin sağkalım süreleri ile ilişkisini , tanı anındaki bu değerlerin KHDAK'de prognostik önemini ve KHDAK'deki tanısal değerini araştırdık. ROC analizi ile saptadığımız, duyarlılığı ve özgüllüğü en uygun olan 240 pg/ml ve üstündeki VEGF-A düzeylerinin sağkalım sürelerini olumsuz yönde etkilemesine rağmen, bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığını saptadık. Bizim çalışmamız ve yukarıda belirtilen çalışmaların sonucundan da anlaşılaacağı gibi, KHDAK'li hastalarda serum ya da plazma VEGF-A düzeyleri bir prognostik faktör olmaya adaydır. Bu konuda daha fazla hasta sayısı ile yapılacak geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Akciğer, meme, prostat, serviks ve kolon kanseri ile yapılan klinikopatolojik çalışmalar, VEGF-C ve VEGF-D'nin insan tümör hücreleri tarafından ekspresyonu ile, tümör progresyonu ve metastatik tümör yayılımı arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (108). Primer meme kanserli hastalar ile yapılan başka bir çalışmada ise; tümör dokusunda artmış

VEGF-C düzeyinin, daha düşük dereceli tümör, daha küçük tümör boyutu ile ilişkili olduğu, nodal tutulum ve damar invazyonu ile ilişkisinin olmadığı gösterilmiştir (112). Bu çalışmada tümör dokusunda artmış VEGF-C düzeyleri, hastalıktan bağımsız sağkalım ve genel sağ kalım ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur. Yapılan çok yönlü analizde VEGF-C'nin, primer meme kanserli hastalarda bağımsız bir prognostik gösterge olduğu saptanmıştır. Biz bu bilgiler ışığında KHDAK'li hastaların tanı anındaki VEGF-C plazma seviyelerinin sağkalım süreleri ile ilişkisini, tanı anındaki bu değerlerin KHDAK'de prognostik önemini ve KHDAK'deki tanısal değerini araştırdık. Çalışmamızda genel olarak kabul edilen görüşün aksine, ROC analizi ile saptadığımız, duyarlılığı ve özgüllüğü en uygun olan 3 pg/ml ve üstündeki VEGF-C düzeylerinin, sağkalım sürelerini olumlu yönde etkilediğini ve çok değişkenli analizde KHDAK'de bağımsız bir prognostik gösterge adayı olduğunu gösterdik. Bu sonuç, primer meme kanserli hastalarda yapılan çalışmanın sonuçlarına çok benzemektedir. Biz VEGF-C'nin molekül yapısı, işlevleri, kanserde anjiogenezi süreci ile ilişkisi ve kanserli hastaların serum ve plazma örneklerinde ölçümü ile ilgili yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

TF4'ün, anjiogenezi uyaran bazı büyüme faktörlerinin etkisini değiştirerek anjiogenezi inhibe ettiği bildirilmiştir (160). TF4 ve kanser ile ilgili yapılmış insan çalışması yoktur. Sınırlı sayıdaki deneysel çalışmada TF4'ün tümör büyümesini yavaşlattığı ve metastazı engellediği gösterilmiştir (188,189). Biz, hayvanlarda deneysel düzeyde yapılmış bu çalışmaların sonuçlarını, insan KHDAK'de değerlendirmek istedik. Bu amaçla KHDAK'li hastaların tanı anındaki TF4 plazma seviyelerinin sağkalım süreleri ile ilişkisini, tanı anındaki bu değerlerin KHDAK'de prognostik önemini ve KHDAK'deki tanısal değerini araştırdık. ROC Curve analiz yöntemi ile saptadığımız, duyarlılığı ve özgüllüğü en hassas olan 250 IU /mL ve altında TF4 plazma değerlerine sahip olan hastaların, sağkalım sürelerinin anlamlı olarak daha kısa olduğunu gösterdik. Çok yönlü analizde, TF4'ün ileri evre KHDAK'de bağımsız prognostik faktör olduğunu bulduk. Bu araştırmamız ile; deneysel çalışmaların sonuçlarının, insan küçük hücreli dışı akciğer kanserinde geçerliliğini kanıtladık. Bir çok çalışmada, kanserin progresyonunda, tümörün büyüme ve yayılmasında trombositlerin aktif rolü olduğu bildirilmiştir (121). Biz bu sonucumuza göre trombosit kaynaklı TF4'ün, KHDAK'de potansiyel bir tümör belirteci olabileceğini düşünmekteyiz. Bu durumda, KHDAK'de tümörün erken evrede yakalanmasına yardımcı olabilir ve tümörü kronik ve kontrol altına alınabilir bir hastalık olarak değiştirebilir (160). Bizim çalışmamız, akciğer kanseri ve TF4 ile yapılan ilk insan çalışmasıdır. Bu konuyla ilgili daha fazla sayıda insan çalışmasına ihtiyaç vardır.

Anjiogenez, tıpkı inflamasyon ve tromboz patogenezinde olduğu gibi pek çok sistemin etkileşimi sonucu meydana gelen bir süreçtir. Anjiogenezi uyaran pek çok molekül yanında anjiogenez sürecini inhibe eden moleküller de vardır. Fizyolojik ve patolojik durumlardaki net sonuç bu uyaran-inhibitör dengesi sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Az miktarda oluşan anjiogenez fizyolojik olarak değerlendirilirken, fazla anjiogenez ise patolojik olarak değerlendirilmektedir. Pek çok molekül rol oynadığından sadece bir uyaran molekülün veya inhibitör molekülün bakılması kabul edilmelidir ki yeterli olmayacaktır veya değerlendirmesi yetersiz olacaktır. Tümör büyümesi ve ilerlemesi için anjiogenez/antianjiogenez arasındaki kritik denge çok önemlidir. Anjiogenez/antianjiogenez arasında elde edilecek bir oranın fizyopatolojik tablolarındaki rolü bilinmemektedir ve bu konuda bir çalışma yoktur. Çalışmamızda, KHDAK'lı hastalarda tanı anındaki anjiogenik/antianjiogenik oranının yani net bir anjiogenez sürecinin yaşam süresine bir etkisi olup olmadığını saptanmaya çalışılmıştır. Tek bir molekül düzeyi yerine bir oran elde ederek daha doğru bir sonuç elde edilebilir düşüncesindeyiz.

Biz ROC analizi ile duyarlılığı ve özgüllüğü en hassas olan anlamlı eşik oranı saptadık. Bu oranın KHDAK'deki sağ kalım süreleri üzerine olan etkisini inceledik. Buna göre; VEGF-A ile TF4 arasındaki oranın <0.8 olduğu hastaların sağkalım sürelerini daha uzun bulmamıza rağmen bu değer istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu sonuca göre ileri evre KHDAK'lı hastalarda VEGF-A ile TF4 arasındaki denge anjiogenez inhibitörü TF4 lehinde olduğunda sağkalım sürelerinin daha uzun olabileceği ve hastalığın prognozunu daha iyi olabileceği yargısına varılabilir. TF4'ün bir anjiogenez inhibitörü olduğu düşünülürse bu çıkarımın yapılması doğaldır.

VEGF-C ile TF4 arasındaki oranın ≥ 1.2 olduğu hastaların sağkalım sürelerini anlamlı olarak daha uzun saptadık. Çok değişkenli analizde, VEGF-C ile TF4 arasındaki oranın 1.2 ve üstünde olmasının, KHDAK'de bağımsız prognostik faktör olduğunu gösterdik. Bu sonuç şaşırtıcı gibi gözükmekteydi. Çünkü anjiogenik bir molekül olduğu bildirilen VEGF-C ile antianjiogenik TF4 arasındaki denge >1 'di ve anjiogenik antianjiogenik denge anjiogenez lehineydi. Ancak VEGF-C, çalışmamızda prognostik değerlerini gösterdiğimiz inflamatuvar göstergeler ve hastalık evresi ile yapılan korelasyon analizlerinde hep olumlu bir parametre olarak gözükmekteydi ve bu analizlerde VEGF-A ile ters ilişki göstermekteydi. Bu nedenle çalışmamızda, VEGF-C ile VEGF-A arasındaki oranları da hesapladık. VEGF-C ile VEGF-A arasındaki oranın ≥ 1.25 olduğu hastaların sağkalım sürelerini anlamlı olarak daha uzun saptadık. Genel bilgiler bölümünde sözü edildiği gibi, VEGF-C'nin temel işlevi konusunda bir karmaşa vardır. Anjiogenezde ve/veya lenfanjiogenezde rolü olduğu bildirilmesine rağmen

antianjiogeneik olduğu da ileri sür÷lmüştür. Bizim bulgulara da bakınca aslında temel işlevi antianjiogenik gibi görünmektedir. Bu verileri değerdendirdiğimizde, süreçte uyaran-inhibitör dengesi söz konusu olduğundan, bir oran elde edilip buna göre hastanın yönlendirilmesinin yararlı olacağı görünmektedir. Ancak bu yöntem literatürde ilk kez uygulanmış olup, bu yöntemin geçerliliğinin ispatlanması için çalışmaların örneklem hacimlerinin büyük tutulması gerekmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada sadece belli anjiogenik ve antianjiogenik maddelerin tanı anındaki düzeylerine ve kendi aralarındaki dengeyi gösteren oranlarına baktık. Oysa anjiogeneiz süreci karmaşıktır ve birçok büyüme faktörü bu süreçte aktif rol almaktadır. Çalışmamızda çıkan bu olumlu sonuçlar, bundan sonra yapılacak çalışmalar için bir ışık kaynağı olabilir. Kanseri hastalarda tanı anındaki anjiogenik ve antianjiogenik moleküllerin serum ve/veya plazma düzeylerinin belirlenmesi ve anjiogenik/antianjiogenik dengenin bilinmesi; tümörün bundan sonra nasıl bir davranış şekli göstereceğı hakkında bize bilgi verebilir ve tedavideki stratejimizi belirlememize yardımcı olabilir. Kanser taramalarında anjiogenik ve antianjiogenik moleküller bir tümör belirteci olarak kullanılabilir ve prognozu belirlemede yardımcı olabilir. Anjiogenik ve antianjiogenik moleküllere yönelik biyolojik tedaviler geliştirilebilir. Bu konu ile ilgili yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

SONUÇLAR

Bu çalışma ileri evre küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda tanı anındaki, anjiogenezi uyaran VEGF-A ve VEGF-C ile anjiogenezi inhibe eden TF4 plazma düzeylerinin ve anjiogenik/antianjiogenik dengenin genel sağkalım süreleri ile ilişkisini, akciğer kanserindeki prognostik önemini ve anjiogenez sürecinde yer alan bu moleküllerin, trombosit, lökosit, LDH ve CRP gibi inflamasyon göstergeleri ile ilişkisini belirlemek amacı ile yapıldı. Bu çalışmanın sonuçları aşağıda sıralanmıştır.

1. KHDAK 'li hastaların tanı anındaki plazma VEGF-A, VEGF-C ve TF4 düzeyleri , sağlıklı bireylerden anlamlı olarak yüksekti.
2. Hastalık evresi ile VEGF-A, VEGF-C ve TF4 plazma düzeyleri arasında ilişki yoktu.
3. Tedavi yanıtı ve tümörün histopatolojik alt tipi ile VEGF-A, VEGF-C ve TF4 plazma düzeyleri arasında ilişki yoktu.
4. Trombosit sayısı ile TF4 plazma düzeyleri arasında doğrusal bir ilişki vardı.
5. Ortalama trombosit hacmi ile plazma VEGF-A düzeyleri arasında doğrusal bir ilişki vardı.
6. Lökosit sayısı ile plazma VEGF-A düzeyleri arasında doğrusal bir ilişki vardı.
7. LDH değeri plazma VEGF-A düzeyleri ile doğrusal ilişkili, VEGF-C ile ters ilişkili idi.
8. CRP değeri ile plazma VEGF-A düzeyleri arasında doğrusal bir ilişki vardı.
9. Hastalık evresi, lökosit sayısı, LDH ve CRP ile sağkalım süreleri arasında doğrusal bir ilişki vardı.

10. Plazma VEGF- C düzeyinin 3 pg/ml'nin üstünde olması sağkalım sürelerini olumlu yönde etkilemektedir. Bu eşik değerin ROC analizine göre KHDAK'deki duyarlılığı %42, özgüllüğü %100'dür.

11. Plazma TF4 düzeyinin düşük olması (250 IU/mL'nin altı) sağkalım sürelerini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu eşik değerin ROC analizine göre KHDAK'deki duyarlılığı %84, özgüllüğü %63'tür.

12. VEGF-C VEGF-A oranı ≥ 1.25 olan hastaların sağkalım süreleri anlamlı olarak daha uzundur. Bu eşik değerin ROC analizine göre KHDAK'deki duyarlılığı %56, özgüllüğü %70'dir.

13. VEGF-C TF4 oranı ≥ 1.2 olan hastaların sağkalım süreleri anlamlı olarak daha uzundur. Bu eşik değerin ROC analizine göre KHDAK'deki duyarlılığı %42, özgüllüğü %84'dür.

14. VEGF-A/TF4 < 0.8 olan hastaların sağkalım süreleri daha uzun olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu eşik değerin ROC analizine göre KHDAK'deki duyarlılığı %46, özgüllüğü %94'dür.

15. VEGF-C TF4 oranı ve TF4, ileri evre KHDAK'de bağımsız prognostik faktörlerdir.

16. VEGF-C ve CRP, ileri evre KHDAK'de bağımsız prognostik faktör olmaya adaydır.

ÖZET

İleri evre akciğer kanserli hastalarda mevcut tüm yeni tedavi modellerine karşın hastalığın kontrolü son derece zordur. Son yıllarda kanser tedavisi için yapılan araştırmalarda tümör çoğalması ve metastazının mekanizmalarının anlaşılması için uğraşılmakta ve bu mekanizmaları hedef alan tedaviler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu nedenle tümörün damarlanma miktarı, damar oluşturma yeteneği ve in vivo ortamda anjiogenik ve antianjiogenik faktörlerin dengesinin bilinmesi gelecekte akciğer kanseri gibi tümörlerde yeni bir tedavi seçeneği gündeme getirecektir. Bu çalışmanın temel amacı; ileri evre küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda, tanı anındaki anjiogenik ve antianjiogenik moleküllerin plazma düzeylerinin ve anjiogenik antianjiogenik dengenin prognostik öneminin saptanmasıdır.

Kasım 2005-Kasım 2007 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları kliniğinde ileri evre küçük hücreli dışı akciğer kanseri tanısı alan 60 hasta ile 45 kişiden oluşan sağlıklı gönüllü bireyler çalışmaya alındı. Vasküler endotelyal büyüme faktörleri ve trombosit faktör-4 plazma düzeyleri ELİSA yöntemi ile ölçüldü. Sağkalım istatistiklerinde anlamlı çıkan parametrelerin ROC analizi ile duyarlılığı ve özgüllüğü en hassas olan eşik değeri belirlendi.

Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların tanı anındaki Vasküler endotelyal büyüme faktörleri ve trombosit faktör-4 düzeyleri sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$).

Trombositozu olan hastaların trombosit faktör-4 düzeyleri daha yüksekti ($p < 0.05$). Ortalama trombosit hacmi ≥ 7.7 fl lökosit sayısı $\geq 10.000 / \text{mm}^3$, LDH ≥ 240 IU/dl ve CRP ≥ 4

mg/dl olan hastaların Vasküler endotelyal büyüme faktörü-A düzeyleri daha yüksekti ($p < 0.05$).

Hastaların ortalama yaşam süresi 238 ± 22 gündü (%95 GA, 194 – 283 gün). Hastalık evresi, lökosit sayısı, LDH ve CRP değerleri ile sağkalım süreleri arasında anlamlı ilişki vardı ($p < 0.05$).

Vasküler endotelyal büyüme faktörü-C düzeyi ≥ 3 pg / ml olan hastaların ortalama sağkalım süresi 360 ± 51 gün, < 3 pg / ml olan hastaların 196 ± 21 gündü ($p = 0.005$) (duyarlılık %42, özgüllük %100). Trombosit faktör-4 düzeyi < 250 IU /mL olan hastaların ortalama sağkalım süresi 104 ± 14 gün, ≥ 250 IU /mL olan hastaların 295 ± 31 gündü ($p < 0.001$) (duyarlılık %84, özgüllük %63). Vasküler endotelyal büyüme faktörü-A düzeyi ≥ 240 pg /ml olan hastaların ortalama sağkalım süresi 239 ± 37 gün, < 240 pg / ml olan hastaların 296 ± 41 gündü ($p > 0.05$).

Vasküler endotelyal büyüme faktörü-C / trombosit faktör-4 ≥ 1.2 olan hastaların ortalama sağkalım süresi 360 ± 51 gün < 1.2 olan hastaların 195 ± 23 gündü ($p = 0.006$) (duyarlılık %42, özgüllük %88). Vasküler endotelyal büyüme faktörü-C / Vasküler endotelyal büyüme faktörü-A ≥ 1.25 olan hastaların sağkalım süresi 331 ± 43 gün, < 1.25 olan hastaların 188 ± 25 gündü ($p = 0.007$) Vasküler endotelyal büyüme faktörü-A / trombosit faktör-4 oranı < 0.8 olan hastaların ortalama sağkalım süresi 231 ± 35 gün, ≥ 0.8 olan hastaların 310 ± 47 gündü. ($p > 0.05$) (duyarlılık %46, özgüllük %94).

Çalışmamızda p değeri anlamlı çıkan parametreler çok değişkenli analize alındı. Trombosit faktör-4 ve vasküler endotelyal büyüme faktörü-C / trombosit faktör-4 oranı bağımsız prognostik faktörler olarak saptandı.

Sonuç olarak bu çalışma; ileri evre küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda tanı anındaki anjiogenik ve antianjiogenik moleküllerin plazma düzeylerinin ve anjiogenik antianjiogenik dengenin sağkalım sürelerini etkilediğini, VEGF-A ‘nın akciğer kanserindeki inflamasyon ile doğru orantılı olarak arttığını ve bu durumun sağkalımı olumsuz etkilediğini, VEGF-C’nin genel görüşün aksine kanser üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu, VEGF-A ve TF4’ün akciğer kanserindeki ana kaynağının trombositler olduğunu, TF4 ve VEGF-C / TF4 oranının küçük hücreli dışı akciğer kanserinde bağımsız prognostik faktörler olduğunu gösterdi.

Anahtar kelimeler: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri, anjiogenez, VEGF, TF4

THE PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF PLASMA LEVELS VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTORS AND PLATELET FACTOR-4 AND THEIR RELATION TO SURVIVAL TIME IN ADVANCED NON-SMALL CELL LUNG CANCER

SUMMARY

In spite of new treatment modalities in advanced stage lung cancer, the control of disease activity is very difficult. Recent studies on cancer research have focused on tumour proliferation and mechanisms of metastasis; and drugs targeting these mechanisms have been being developed. Therefore, if the microvessel density of the tumour, its ability for angiogenesis, and the balance between angiogenic and antiangiogenic factors is known, new treatment choices for lung cancer might be possible. The main aim of this study was to detect the plasma levels of angiogenic and antiangiogenic molecules and the prognostic significance of the angiogenic/antiangiogenic balance in newly diagnosed advanced stage nonsmall cell lung cancer patients.

We included 60 advanced stage nonsmall cell lung cancer patients diagnosed at Trakya University Medical Faculty Department of Chest Diseases between November 2005-November 2007 and 45 voluntary healthy controls into our study. Plasma levels of VEGF-A, VEGF-C and TF4 were determined by ELISA. Threshold of each parameters which affect on overall survival use determined by waing ROC curve analysis.

Nonsmall cell lung cancer patients had significantly higher levels of VEGF-A, VEGF-C and TF4 than healthy controls at the time of diagnosis ($p < 0.05$).

TF4 levels in patients with thrombocytosis were higher ($p < 0.05$). Patients with mean platelet volume ≥ 7.7 fl., leucocytes $\geq 10.000 / \text{mm}^3$, LDH ≥ 240 IU/dl and CRP ≥ 4 mg/dl had higher VEGF-A levels ($p < 0.05$).

The mean duration of survival for the patients was 238 ± 22 days (95% CI, 194-283 days). There was a significant association between disease stage, leucocyte count, LDH and CRP values and the duration of survival ($p < 0.05$).

The mean duration of survival for patients with VEGF-C levels ≥ 3 pg / ml was 360 ± 51 days, and for patients with levels < 3 pg / ml was 196 ± 21 days ($p = 0.005$) (sensitivity 42%, specificity 100%). For patients with TF4 levels < 250 IU /mL, the mean duration of survival was 104 ± 14 days, and for patients with levels ≥ 250 IU /mL, it was 295 ± 31 days ($p < 0.001$) (sensitivity 84%, specificity 63%). For patients with VEGF-A level ≥ 240 pg /ml, the mean duration of survival was 239 ± 37 days, and for patients with levels < 240 pg / ml it was 296 ± 41 days ($p > 0.05$).

For patients with VEGF-C / TF4 ≥ 1.2 , the mean duration of survival was 360 ± 51 days ($p = 0.006$), for patients with a ratio < 1.2 it was 195 ± 23 days (sensitivity 42%, specificity 88%). If VEGF-C / VEGF-A was ≥ 1.25 , the mean duration of survival was 331 ± 43 days; and if the ratio was < 1.25 , it was 188 ± 25 days ($p = 0.007$). When VEGF-A / TF4 ratio was < 0.8 , the mean duration of survival was 231 ± 35 days, and when the ratio was ≥ 0.8 , it was 310 ± 47 days ($p > 0.05$) (sensitivity 46%, specificity 94%).

When multivariate analysis for parameters with a significant p value was performed, it was seen that TF4 and VEGF-C / TF4 ratio were independantly prognostic parameters.

As a result, this study demonstrated that the plasma levels of angiogenic and antiangiogenic molecules and the angiogenic vs. antiangiogenic balance at the time of diagnosis in advanced stage nonsmall cell lung cancer patients affect the duration of survival; VEGF-A increases in direct proportion to the inflammation in lung cancer and that this has negative influence on survival; VEGF-C has positive influence on cancer contrarily to the general consensus; the main source of VEGF-A and TF4 in lung cancer are platelets; TF4 and VEGF/TF4 ratio are independant prognostic parameters in lung cancer.

Key words: Nonsmall cell lung cancer, angiogenesis, VEGF, TF4.

KAYNAKLAR

1. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingpo CA. Cancer statistics. Cancer 2000;50:7-33.
2. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer Statistics, 2002. CA Cancer J Clin 2005;55 (2):74-108.

1.1.1.1.1 Bunn AP, Vokes EE, Langer CJ, Schiller JH. An Uptade on North American Randomized Studies in Non Small Cell Lung Cancer. Semin Oncol 1998;25 (9):2-10.

3. Schiller JH, Harrington D, Belani CP. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non small cell lung cancer. N Engl J Med 2002;346 (2):92-8.
4. Folkman J. Is blood vessel growth regulated in normal and neoplastic tissue? G.H.A.Clowes Memorial Award Lecture. Cancer Res 1986;46:467-3.
5. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. Nature 1997;386:671-4.
6. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? J Natl Cancer Inst 1990;82:4-6
7. Rosen LS. Clinical experience with angiogenesis signalling inhibitors: focus on vascular endothelial growth factor (VEGF) blockers Cancer Control. 2002;9:36-44.
8. Folkman J. Angiogenesis and angiogenesis inhibition: An overview. EXS Regul Angiogenesis 1997;79:1-7
9. Maione TE, Gray GS, Petro J. Inhibition of angiogenesis by recombinant human platelet factor - 4 and related peptides. Science 1990;247:77-9.
10. Güllü İ. Anjioenez ve antianjiojenik tedaviler. XIII. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser

Kongresi Özet Kitabı s.34, Nevşehir, 2004.

11. Carter SK. Clinical strategy for the development of angiogenesis inhibitors. *Oncologist* 2000;5:51-4.
12. Teicher BA, Sotomayor EA, Huang ZD. Antiangiogenic agents potentiate cytotoxic cancer therapies against primary and metastatic disease. *Cancer Res* 1992;52:6702-4.
13. Parkin GM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 1999;49:33-64.
14. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Daire Başkanlığı 1999 yılı istatistikleri.
15. Simonato L, Agudo A, Ahrens W, Benhamou E, Boffetta P, Brennan P et al. Lung cancer and cigarette smoking in Europe: an update of risk estimates and an assessment of inter-country heterogeneity. *Int J Cancer* 2001;91:876-87.
16. Osann KE, Ernster VL, Mustacchi P. Epidemiology of lung cancer. In: Murray JF, Nadel JA, Mason RJ, Bousey HA (Eds.). *Textbook of respiratory medicine* 3 th ed Philadelphia: W.B. Saunders Co;2000: p. 1395-1407.
17. Siegfried JM. Biology and chemoprevention of lung cancer. *Chest* 1999;113:40-5.
18. Yang P, Schwartz AG, McAllister AE, Swanson GM, Aston CE. Lung cancer risk in families of nonsmoking probands: Heterogeneity by age at diagnosis. (abstract). *Genet Epidemiol* 1999;17 (4):253-73.
19. Lecture GFF. Molecular mechanisms of lung cancer. Interaction of environmental and genetic factors. *Chest* 1996; 109:14-19.
20. Fong KM, Sekido Y, Gazdar AF, Minna JD. Lung cancer 9: Molecular biology of lung cancer: clinical implication. *Thorax* 2003;58:892-900.
21. Robbins K (çeviri:U Çevikbaş). *Solunum sistemi*. 2th. İstanbul: Nobel & Yüce;1995:385-37.
22. Silvestri GA, Tanoue LT, Margolis ML, Barker J, Detterbeck F. The noninvasive staging of non small cell lung cancer. *Chest* 2003;123 supp 1:147-6.
23. Spiro SG, Porter JC. Lung cancer - Where are we today? Current advances in staging and nonsurgical treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:1166-96.
24. Ernam D, Atalay F, Atikcan Ş. A retrospective evaluation of 571 lung carcinoma patients. *Respir Med* 2003;4:67-9.
25. Lawrence WT, Diegelmann RF. Growth factors in wound healing. *Clin Dermatol* 1994; 12:157-69.
26. Hu DE, Hori Y, Fan TP. Interleukin-8 stimulates angiogenesis in rats. *Inflammation* 1993;17:135-3.
27. Cleaver O, Melton DA. Endothelial signalling during development. *Nat Med* 2003;9:661-8.

28. Folkman J. Tumor angiogenesis. Mendelshon JA, Howley PM, Israel MA, Liotta LA (Eds.). In *The Molecular Basis of cancer*. Philadelphia: Saunders, 1995, pp 206-32.
29. Liotta LA, Steeg PS, Stetler-Stevenson WG. Cancer metastasis and angiogenesis: An imbalance of positive and negative regulation. *Cell* 1991;64:327-6.
30. Deveci D. Angiogenesis under physiological and pathological conditions: angiogenic and antiangiogenic treatments. *Genel Tıp Dergisi* 2003;13:179-6.
31. Distler JW, Hirth A, Kurowska M, Gay RE, Gay S, Distler O. Angiogenic and angiostatic factors in the molecular control of angiogenesis. *Q J Nuclear Med* 2003;47:149-61.
32. Shaker M. Angiogenesis and myogenesis. In: Kipshidze N, Fareed J, Moses JW, Serruys PW (Eds.). *Textbook of Interventional Cardiovascular Pharmacology*. USA:Informa Healthcare;2007. p.393-407.
33. Distler O, Neidhart M, Gay RE, Gay S. The molecular control of angiogenesis. *Int Rev Immunol* 2002;21:33-49.
34. Mignatti P, Rifkin DB. Plasminogen activators and matrix metalloproteinases in angiogenesis. *Enzyme Protein* 1996;49:117-37.
35. Ausprunk DH, Folkman J. Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. *Microvasc Res* 1977;14:53-65.
36. Achen MG, Stacker SA. The VEGF family proteins which guide the development of the vasculature. *Int Exp Path* 1998;79:255-5.
37. Pepper MS, Montesano R, Mandriota SJ, Orci L, Vassalli JD. Angiogenesis: A paradigm for balanced extracellular proteolysis during cell migration and morphogenesis. *Enzyme Protein* 1996;49:138-62.
38. Doğan AK. Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri Olgularında Radyoterapinin Serum Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü ve Periferik Kan Trombosit Düzeyleri Üzerine Etkisi (tez). İstanbul: T.C. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2006.
39. Folkman J. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. *N Eng J Med* 1971;285:1182-6.
40. Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer* 2003;3:401-10.
41. Konukoğlu D, Turhan SM. Molecular basis of angiogenesis mechanisms and tumor angiogenesis. *Cerrahpaşa J Med* 2005;36:42-8.
42. Shweiki D, Neeman M, Itin A, Keshed E. Induction of vascular endothelial growth factor expression by hypoxia and by glucose deficiency in multicell spheroids: implications for tumor angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:768-2.

43. Guidi AJ, Fischer L, Haris JR, Schnitt SJ. Microvessel density and distribution in ductal carcinoma in situ of the breast. *JNCI* 1994;86:614-9.
44. Pepper MS, Montesano R. Proteolytic balance and capillary morphogenesis. *Cell Differ Dev* 1990;32:319-8.
45. Kerbel RS. Tumor angiogenesis: past, present and the near future. *Carcinogenesis* 2000;21:505- 15.
46. Fernandez PM, Rickles FR. Tissue factor and angiogenesis in cancer. *Curr Opin Hematol* 2002;9:401-6.
47. Tonini T, Rossi F, Claudio PP. Molecular basis of angiogenesis and cancer. *Oncogene* 2003;22:6549-6.
48. Weidner N, Semole JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8.
49. Weinstat-Saslow D, Steeg PS. Angiogenesis and colonisation in the tumor metastatic process: basic and applied advances. *FASEB J* 1994;8:401-7.
50. Nicoisa RF, Tchao R, Leighton J. Interactions between newly formed endothelial channels and carcinoma cells in plasma clot culture. *Clin Exp Metastasis* 1986;4:91-104.
51. Liotta LA, Saidel MG, Kleinerman J. The significance of hematogenous tumor cell clumps in the metastatic process. *Cancer Res* 1976;36:889-4.
52. Nicolson GL. Organ specificity of tumor metastasis: role of preferential adhesion, invasion and growth of malignant cells at spesific secondary sites. *Cancer Metastasis Rev* 1988;7:143-88.
53. Holmgren L, O' Reilly MS, Folkman J. Dormancy of micrometastases: balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nature Med* 1995;1:149-3.
54. Manders P, Beex LV, Tjan-Heijnen VC, Geurts-Moespot J, Van Tienoven TH, Foekens JA et al. The prognostic value of vascular endothelial growth factor in 574 node-negative breast cancer patients who did not receive adjuvant systemic therapy. *Br J Cancer* 2002;87:772 -8.
55. Moscatelli D, Gross JL, Rifkin DB. Angiogenic factors stimulate plasminogen activator and collagenase production by capillary endothelial cells (abstract). *J Cell Biol* 1981;91:201.
56. Nagy JA Brown LF, Senger DR, Lanir R, Van De Water L, Dvorak AM et al. Pathogenesis of tumor stroma generation: a critical role for leaky blood vessels and fibrin deposition. *Biochim Biophys Acta* 1989;948:305-26.
57. Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, Rudge JS, Wiegand SJ, Holash J. Vascular specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000;407:242-8.

58. Connolly DT, Heuvelman DM, Nelson R, Olander JV, Eppley BL, Delfino JJ et al. Tumor vascular permeability factor stimulates endothelial cell growth and angiogenesis. *J Clin Invest* 1989;84:1470-8.
59. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995;146:1029-9.
60. Ferrara N. VEGF: An update on biological and therapeutic aspects. *Curr Opin Biotechnol* 2000;11:517-4.
61. Clauss M. Molecular biology of the VEGF and the VEGF receptor family. *Semin Thromb Hemost* 2000;26:561-9.
62. Takahashi H, Hattori S, Iwamatsu A, Takizawa H, Shibuya M. A novel snake venom vascular endothelial growth factor (VEGF) predominantly induces vascular permeability through preferential signaling via VEGF receptor-1. *J Biol Chem* 2004;279:46304-14.
63. Houch KA, Ferrara N, Winer H. The vascular endothelial growth factor family. Identification of a fourth molecular species and characterization of alternative splicing of RNA. *Mol Endocrinol* 1991;5:1806-14.
64. Rosenstein JM, Krum JM. New roles for VEGF in nervous tissue-beyond blood vessels. *Exp Neurol* 2004;187:246-3.
65. Ferrara N. Role of VEGF in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;280:1358-66.
66. Zachary I. Molecules in focus VEGF. *Int J Biochem Cell Biol* 1998;30:1169-4.
67. Olofsson B, Pajusula K, Kaipainen A, Euler G, Joukov V, Saksela O et al. Vascular endothelial growth factor B (VEGF-B) binds to VEGF receptor-1 and regulates plasminogen activator activity in endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:11709-14.
68. Joukov V, Pajusula K, Kaipainen A, Chilov D, Lahtinen I, Kukkk E, et al. A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases. *EMBO J* 1996;15:1751-7.
69. Farnebo F, Piehl F, Lagercrantz J. Restricted expression pattern of VEGF-D in the adult and fetal mouse high expression in the embryonic lung. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;257:891-4.
70. Meyer M, Clauss M, Lepple-Wienhues A, Waltenberger J, Augustin HG, Ziche M et al. A novel vascular endothelial growth factor encoded by Orf virus, VEGF-E mediates angiogenesis via signalling through VEGFR-2 (KDR) but not VEGFR1 (Flt-1) receptor tyrosine kinases. *EMBO J* 1999;18:363-74.
71. Ortega N, Faqih FE, Plouet J. Control of VEGF angiogenic activity by the extracellular matrix. *Biol Cell* 1998;90:381-90.

72. Shibuya M, Yamaguchi S, Yamane A, Ikada T, Tojo T, Matsushime H, et al. Nucleotide sequence and expression of a novel human receptor-type tyrosine kinase (flt) closely related to the fms family. *Oncogene* 1990;8:519-4.
73. Yazır Y. Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF): Reseptörleri ve fonksiyonları. *C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 2007;29 (2):7-12.
74. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9:669-6.
75. Schlessinger J, Lax I, Lemmon M. Regulation of growth factor activation by proteoglycans: What is the role of the low affinity receptors? *Cell* 1995;83:357-2.
76. Banks RE, Forbes MA, Kinsey SE. Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor (VEGF) from platelets: Significance for VEGF measurements and cancer biology. *Br J Cancer* 1998;77:956-4.
77. Mohle R, Green D, Moore MA. Constitutive production and thrombin-induced release of vascular endothelial growth factor by human megakaryocytes and platelets. *Proc Nat Acad Sci USA* 1997;94:663-8.
78. Tamanini C, De Ambrogio M. Angiogenesis in developing follicle and corpus luteum. *Reprod Domest Anim* 2004;39:206-16.
79. Monacci WT, Merrill MJ, Oldfield EF. Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in normal rat tissues. *Am J Physiol* 1993;264:995-02.
80. Ria R, Roccaro AM, Merchionne F. Vascular endothelial growth factor and its receptors in multiple myeloma. *Leukemia* 2003;17:1961-7.
81. Schweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature* 1992;359:843-5.
82. Lecouter J, Lin R, Ferrara N. EG-VEGF: a novel mediator of endocrine-specific angiogenesis, endothelial phenotype, and function. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1014:50-7.
83. Xie K, Wei D, Shi Q, Huang S. Constitutive and inducible expression and regulation of vascular endothelial growth factor. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004;15:297-24.
84. Kleespies A, Guba M, Jauch KW, Bruns CJ. Vascular endothelial growth factor in esophageal cancer. *J Surg Oncol* 2004;87:95-104.
85. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of VEGF. *Endocr Rev* 1997;18:4-25.
86. Laka KP, Chakraborty C. Role of Nitric oxide in carcinogenesis and tumor progression. *Lancet Oncol* 2001;2:149-5.
87. Wheeler-Jones C, Abu-Ghazaleh R, Cospedal R, Houliston RA, Martin J, Zachary I. Vascular endothelial growth factor stimulates prostacyclin production and activation of

cytosolic phospholipase A2 in endothelial cells via p42/p44 mitogen-activated protein kinase. FEBS Lett 1997;420:28-32.

88. Thomas KA. VEGF, a potent and selective angiogenic agent. J Biol Chemistry 1996;271:603-6.
89. Kim I, Moon S, Kim HS, Kim HJ, Koh YS, Koh GY. VEGF Expression of ICAM-1, VCAM-1, and P-selectin through nuclear factor-KB activation in endothelial cells. J Biol Chem 2001;276:7614-20.
90. Melder RJ, Koenig GC, Munn LL, Jain RK. Adhesion of activated natural killer cells to tumor necrosis factor-alpha-treated endothelium under physiological flow conditions. Nat Immun 1996;15:154-63.
91. Detmar M. The role of VEGF and thrombospondins in skin angiogenesis. J Dermatol Sci 2000;24:78-4.
92. Praloran V, Mirshahi S, Favard C, Moukadiri H, Plouet J. Mitogenic activity of vasculotropin for peripheral human lymphocytes. CR Acad Sci 1991;313:21-6.
93. Gabrilovich DI, Chen HL, Girgis KR, Cunningham HT, Meny GM, Nadaf S et al. Production of vascular endothelial growth factor by human tumors inhibits the functional maturation of dendritic cells. Nat Med 1996;2:1096-103.
94. Kim KJ, Winer J, Armanini M, Gillett N, Phillips HS, Ferrara N et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. Nature 1993;362:841-4.
95. Prewett M, Huber J, Santiago A, Overholser J, Hooper A, Pytowski B et al. Anti-VEGF receptor (Flk-1) monoclonal antibody inhibits tumor angiogenesis and growth of several mouse and human tumors. Cancer Res 1999;59:5209-18.
96. Cvetkovic D, Movsas B, Dicker AP. Increased hypoxia correlates with increased expression of the angiogenesis marker vascular endothelial growth factor in human prostate cancer. Urology 2001;57:821-5.
97. Koch AE, Harlow LA, Haines GK, Amento EP, Unemori EN, Wong WL et al. Vascular endothelial growth factor. A cytokine modulating endothelial function in rheumatoid arthritis. J Immunol 1994;152:4149-56.
98. Detmar M, Brown LF, Claffey KP, Yeo KT, Kocher O, Jackman RW et al. Overexpression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor and its receptors in psoriasis. J Exp Med 1994;180:1141-46.
99. Pepper M: Lymphangiogenesis and tumor metastasis: myth or reality? Clin Cancer Res. 2001;7:462-8.
100. Korpelainen E and Alitalo K: Signaling angiogenesis and lymphangiogenesis. Curr Opin Cell Biol. 1998;10:159-4.
101. Joukov V, Pajusola K, Kaipainen A, Chilov D, Lahtinen I, Kukk E et al. A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR

(VEGFR-2) receptor tyrosine kinases. *EMBO J* 1999;15:290-8.

102. Achen M, Jeltsch M, Kukk E, Makinen T, Vitali A, Wilks A et al. Vascular endothelial growth factor D (VEGF-D) is a ligand for the tyrosine kinases VEGF receptor 2 (Flk1) and VEGF receptor 3 (Flt4). *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:548-3.
103. Joukov V, Kumar V, Sorsa T, Arighi E, Weich H, Saksela O et al. Recombinant mutant vascular endothelial growth factor receptor-2 binding, activation and vascular permeability activities. *J Biol Chem* 1998;273:6599-602.
104. Joukov V, Sorsa T, Kumar V, Jeltsch M, Cao Y, Saksela O et al. Proteolytic processing regulates receptor specificity and activity of VEGF-C. *EMBO J* 1997;16:3898-911.
105. Schoppmann S, Birner P, Stockl J, Kalt R, Ullrich R, Caucig C et al. Tumor associated macrophages express lymphatic endothelial growth factors and are related to peritumoral lymphangiogenesis. *Am J Pathol* 2004;161:947-6.
106. Duff S, Li C, Renehan A, O'Dwyer S, Kumar S. Immunodetection and molecular forms of plasma vascular endothelial growth factor-C. *Int J Oncol* 2003;22:339-3.
107. Stacker SA, Caesar C, Baldwin ME, Thornton GE, Williams RA, Prevo R et al. VEGF-D promotes the metastatic spread of tumor cells via the lymphatics. *Nat Med* 2001;7:186-91.
108. Achen MG, McColl BK, Stacker SA. Focus on lymphangiogenesis in tumor metastasis. *Cancer Cell* 2005;7:121-7.
109. Kitadai Y, Kodama M, Cho S. Quantitative analysis of lymphangiogenic markers for predicting metastasis of human gastric carcinoma to lymph nodes. *Int J Cancer* 2005;115:388-2.
110. Dadras SS, Paul T, Bertoncini J, Brown LF, Muzikansky A, Jackson DG et al. Tumor lymphangiogenesis: a novel prognostic indicator for cutaneous melanoma metastasis and survival. *Am J Pathol* 2003;162:1951-60.
111. Bando H, Weich HA, Horiguchi S, Funata N, Ogawa T, Toi M. The association between vascular endothelial growth factor-C, its corresponding receptor, VEGFR-3, and prognosis in primary breast cancer: A study with 193 cases. *Oncology reports* 2006;15:653-9.
112. Hirakawa S, Kodama S, Kunstfeld R, Kajiya K, Brown LF, Detmar M. VEGF-A induces tumor and sentinel lymph node lymphangiogenesis and promotes lymphatic metastasis. *J Exp Med* 2005;201:1089-99.
113. Margolin K, Gordon MS, Talpaz M, Holmgren E, Benjamin R, Stalter S et al. Phase 1 safety and pharmacokinetic study of recombinant human anti-vascular endothelial growth factor (rhuMab VEGF) in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 2001;19 (3):843-50.
114. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Kabbinnar F, Meropol NJ, Novotny WF, Lieberman G et al. Bevacizumab monoclonal antibody to vascular endothelial growth factor) prolongs

survival in first-line colorectal cancer (CRC): results of phase II trial of bevacizumab in combination with bolus IFL (irinotecan, 5-fluorouracil, leucovorin) as first line therapy in subjects with metastatic CRC. *J Clin Oncol* 2003;21 (1):60-5.

115. Fong TA, Shawver LK, Sun L. SU5416 is a potent and selective inhibitor of the vascular endothelial growth factor receptor (Flk-1/KDR) that inhibits tyrosine kinase catalysis, tumor vascularization, and growth of multiple tumor types. *Cancer Res* 1999;59 (1):99-106.
116. Rosen L, Rosen P, Kabbinnar F. Phase I experience with SU6668, a novel multiple receptor tyrosine kinase inhibitor in patients with advanced malignancies. (abstract). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001;20:97-9.
117. Mendel D, Laird A, Xin X. Development of a preclinical pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship for the angiogenesis inhibitor SU11248, a selective inhibitor of VEGF and PDGF receptor tyrosine kinases in clinical development. (abstract). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002;21-3.
118. Trarbach T, Shleucher N, Riedel U. Phase I/II study of the oral vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor inhibitor PTK787/ZK222854 in combination with irinotecan/5-fluorouracil/leucovorin in patients with metastatic colorectal cancer. (abstract). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003;22:285-8.
119. Huo Y, Ley K F. Role of platelets in the development of atherosclerosis *Trend Cardiovas Med* 2004;14:18-22.
120. Camerer E, Qazi A, Duong DN. Platelets, protease-activated receptors, and fibrinogen in hematogenous metastasis. *Blood* 2004;104:397-401.
121. Brill A, Varon D. Angiogenesis. *Platelets* 2007;757-8.
122. Çağlar M, Kansu E. Kemokinler, kemokin reseptörleri ve inflamasyon. *Ankem derg* 2004;18 (ek 2):164-8.
123. Rossi D, Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors. *Annu Rev Immunol* 2000;18:217-42.
124. Strieter RM, Burdick MD, Gomberts BN, Belperio JA, Keane MP. CXC chemokines in angiogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005;16:59609-14.
125. Zlotnik A, Yoshie O. Chemokine, a new classification system and their role in immunity. *Immunity* 2000;12:121-7.
126. Strieter RM, Burdick MD, Mestus J, Gompert SB, Keane MP, Belperio JA et al. Cancer CXC chemokine networks and tumour angiogenesis. *Eur J Cancer* 2006;42:768-8.
127. Deuel TF, Keim PF, Farmer M, Heinrichson RL. Amino acid sequence of human platelet factor 4. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977;74:2256-65.
128. Miller MD, Krangel MS. Biology and biochemistry of the chemokines: A family of

chemotactic and inflammatory cytokines. *Crit Rev Immunol* 1992;12:17-6.

129. Charles R, Walz DA, Edwards BF. The three dimensional structure of bovine platelet factor 4 at 3.0-A resolution. *J Biol Chem* 1989;264:2092-9.
130. Zhang J, Lu SH, Liu YJ, Feng Y, Han ZC. Platelet factor 4 enhances the adhesion of normal and leukemic hematopoietic stem/progenitor cells to endothelial cells *Leuk Res* 2004;28:631-8.
132. Moore S, Pepper DS, Cash JD. Platelet antiheparin activity. The isolation and characterization of platelet factor 4 released from thrombin-aggregated washed human platelet and its dissociation into subunits and the isolation of membrane bound antiheparin activity. *Biochim Biophys Acta* 1975;379:370-84.
133. Mayo KH, Chen MJ. Human platelet factor 4 monomer–dimer–tetramer equilibria investigated by HNMR spectroscopy. *Biochemistry* 1989;28:9469-78.
134. Griffin CA, Emanuel BS, LaRocco P, Schwartz E, Poncz M. Human platelet factor 4 gene is mapped to 4q12–q21. *Cytogenet Cell Genet* 1987;45:67-9.
135. Ryo R, Proffitt RT, Poger ME, O’Bear R, Deuel TF. Platelet factor 4 antigen megakaryocytes. *Thromb Res* 1980;17:645-2.
136. Capitanio AM, Niewiawrowski S, Rucinski B, Tuszyński GP, Cierniewski CS, Herschok D. Interaction of platelet factor 4 with human platelets. *Biochem Biophys Acta* 1985;839:161-3.
137. Barber AJ, Kaser-Glanzmann B, Jakabova M, Luscher EF. Characterization of a chondroitin sulfate proteoglycan carrier for heparin-neutralizing activity (PF4) released from human blood platelets. *Biochim Biophys Acta* 1972;286:312-29.
138. Conley CL, Hartmann RC, Lalley JS. The relationship of heparin activity to platelet concentration. *Proc Soc Exp Biol Med* 1948;69:284-7.
139. Poncz M, Surrey S, LaRocco P. Cloning and characterization of platelet factor 4 cDNA derived from a human erythroleukemic cell line. *Blood* 1987;69:219-3.
140. Shaheed G, Malkovska V, Mendoza J, Patel M, Rees T, Wesley R et al. PF4 enhanced assay for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia in complex medical and surgical patients. *Crit Care Med* 2007;35(7):1784-5.
141. Brandt E, Ludwig A, Petersen F, Flad HD. Platelet derived CXC chemokines:old players new games. *Immunol Rev* 2000;177:204-16.
142. Sachais BS, Higazi AR, Cines DB, Poncz M, Kowalska MA. Interactions of platelet factor 4 with the vessel wall. *Semin Thromb Hemost* 2004;30:351-8.
143. Gupta SK, Singh JP. Inhibition of endothelial cell proliferation by platelet factor 4 involves a unique action on S phase progression. *J Cell Biol* 1994;127:1121-7.

144. Fleischer J, Grage-Griebenow E, Kasper B. Platelet factor 4 inhibits proliferation and cytokine release of activated human T cells. *J Immunol* 2002;169:770-7.
145. Sulpice E, Bryckaert M, Lacour J, Contreres JO, Tobelem G. Platelet factor 4 inhibits FGF2-induced endothelial cell proliferation via the extracellular signal-regulated kinase pathway but not by the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *Blood* 2002;100:3087-4.
146. Strieter RM, Polverini PJ, Arenberg DA, Kunkel SL. The role of CXC chemokines as regulators of angiogenesis. *Shock* 1995;4:155-64.
147. Taylor S, Folkman J. Protamine is an inhibitor of angiogenesis. *Nature* 1982;297:307-12.
148. Maione TE, Gray GS, Petro J. Inhibition of angiogenesis by recombinant human platelet factor 4 and related peptides. *Science* 1990;247:77-9.
149. Hansell P, Olofsson M, Maione TE, Arfors KE, Borgstrom P. Differences in binding of platelet factor 4 to vascular endothelium in vivo and endothelial cells in vitro. *Acta Physiol Scand* 1995;154:449-59.
150. Hansell P, Maione TE, Borgstrom P. Selective binding of platelet factor 4 to regions of active angiogenesis in vivo. *Am J Physiol* 1995;269:829-6.
151. Borgstrom P, Discipio R, Maione TE. Recombinant platelet factor 4, an angiogenic marker for human breast carcinoma. *Anticancer Res* 1998;18:4035-41.
152. Sharpe RJ, Byers HR, Scott CF, Bauer SI, Maione TE. Growth inhibition of murine melanoma and human colon carcinoma by recombinant human platelet factor-4. *J Natl Cancer Inst* 1990;82:848-2.
153. Tanaka T, Manome Y, Wen P, Kufe D, Fine HA. Viral vectormediated transduction of a modified platelet factor-4 cDNA inhibits angiogenesis and tumor growth. *Nature Med* 1997;3:437-7.
154. Bikfalvi A, Gimenez-Gallego G. The control of angiogenesis and tumor invasion by platelet factor-4 and platelet factor-4-derived molecules. *Semin Thromb Hemost* 2004;30:137-4.
155. Gupta SK, Hassel T, Singh JP. A potent inhibitor of endothelial cell proliferation is generated by proteolytic cleavage of the chemokine platelet factor 4. *Proc Natl Acad Sci U.S.A* 1995;92:7799-803.
156. Jouan V, Canron X, Alemany M, Caen JP, Quentin G, Plouet J et al. Inhibition of in vitro angiogenesis by platelet factor-4-derived peptides and mechanism of action. *Blood* 1999;94:984-3.
157. Hagedorn M, Zilberberg L, Lozano RM, Cuevas P, Canron X, Bikfalvi A et al. A short peptide domain of platelet factor 4 blocks angiogenic key events induced by FGF-2. *FASEB J* 2001;15:550-2.
158. Hagedorn M, Zilberberg L, Wilting J, Canron X, Carrabba G, Giussani C et al. Domain swapping in a COOH-terminal fragment of platelet factor 4 generates potent angiogenesis inhibitors. *Cancer Res* 2002;62:6884-90.

159. Struyf S, Burdick MD, Proost P, Van Damme J, Strieter RM. Platelets release CXCL4L1, a nonallelic variant of the chemokine platelet factor-4/CXCL4 and potent inhibitor of angiogenesis. *Circ Res* 2004;95:855-7.
160. Cervi D, Vladamir N, Peterson J, Naumov N, Joseph E, Folkman J et al. Platelet associated PF-4 as a biomarker of early tumor growth. *Blood* 2007;10:1182-7.
161. Raymond E, Faivre S, Armand JP. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase as a target for anticancer therapy. *Drugs* 2000;60:15-23.
162. Bikfalvi A. Tumor Angiogenesis. *Bull Cancer* 2007;94:193-8.
163. Morrison RS, Giordano S, Yamaguchi F, Hendrickson S, Berger MS, Palczewski K. Basic fibroblast growth factor expression is required for clonogenic growth of human glioma cells. *J Neurosci Res* 1993;34:502-9.
164. Perollet C, Han ZC, Savona C, Caen JP, Bikfalvi A. Platelet factor 4 modulates fibroblast growth factor 2 (FGF-2) activity and inhibits FGF-2 dimerization. *Blood* 1998;91:3289-99.
165. Gengrinovitch S, Greenberg SM, Cohen T. Platelet factor-4 inhibits the mitogenic activity of VEGF121 and VEGF165 using several concurrent mechanisms. *J Biol Chem* 1995;270:15059-65.
166. Bikfalvi A. Recent developments in the inhibition of angiogenesis: examples from studies on platelet factor-4 and the VEGF/VEGFR system. *Biochem Pharmacol* 2004;68:1017-21.
167. Caen JP, Han ZC, Bellucci S, Alemany M. Regulation of megakaryocytopoiesis. *Haemostasis* 1999;29:27-40.
168. Gewirtz AM, Calabretta B, Rucinski B, Niewiarowski S, Xu WY. Inhibition of human megakaryocytopoiesis in vitro by platelet factor 4 (PF4) and a synthetic COOH-terminal PF4 peptide. *J Clin Invest* 1999;83:1477-6.
169. Han ZC, Sense'be L, Abgrall JF, Briere J. Platelet factor 4 inhibits human megakaryocytopoiesis in vitro. *Blood* 1990;75:1234-9.
170. Han ZC, Bellucci S, Bodevin E, Wan HY, Shen ZX, Caen JP. In vivo inhibition of megakaryocyte and platelet production by platelet factor 4 in mice. *C R Acad Sci III Paris* 1991;313:553-8.
171. Eskin DE, Zhang C, Samuels KJ, Rauova L, Zhai L, Niewiarowski S. Transgenic mice studies demonstrate a role for platelet factor 4 in thrombosis: Dissociation between anticoagulant and antithrombotic effect of heparin. *Blood* 2004;104:3173-80.
172. Lei W, Mayotte JE, Levitt ML. Enhancement of chemosensitivity and programmed cell death by tyrosine kinase inhibitors correlates with EGFR expression in nonsmall cell lung cancer cells. *Anticancer Res* 1998;19:221-8.
173. Gorgoulis V, Aninos D, Mikou P. Expression of EGF, TGF- α and EGFR in squamous cell lung carcinomas. *Anticancer Res* 1992;12:1183-8.

174. Takanami I, Imamura T, Hashizume T. Expression of PDGF, IGF-II, bFGF and TGF- β 1 in pulmonary adenocarcinoma. *Path Res Pract* 1996;192:1113-20.
175. Cvetkovic D, Movsas B, Dicker AP. Increased hypoxia correlates with increased expression of the angiogenesis marker vascular endothelial growth factor in human prostate cancer. *Urology* 2001;57:821-5.
176. Linder C, Linder S, Munck-Wikland E, Strander H. Independent expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and basic fibroblast growth factor (bFGF) in patients with carcinoma and sarcoma. *Anticancer Res* 1998;18:2063-8.
177. Macchiarini P, Fontanini G, Hardin MJ. Relation of neovascularisation to metastasis of non-small-cell lung cancer. *Lancet* 1992;340:145-6.
178. Mattern J, Koomagi R, Volm M. Association of vascular endothelial growth factor expression with intratumoral microvessel density and tumor cell proliferation in human epidermoid lung carcinoma. *Br J Cancer* 1996;73:931-4.
179. Fontanini G, Vignati S, Lucchi M. Neogenesis and p53 protein in lung cancer: their prognostic role and their relation with vascular endothelial growth factor (VEGF) expression. *Br J Cancer* 1997;75:1295-1301.
180. Imoto H, Osaki T, Taga S. VEGF expression in Non-small Cell Lung Cancer: prognostic significance in squamous cell carcinoma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998;115:1007-14.
181. Takigawa N, Segawa Y, Fujimoto N. Elevated vascular endothelial growth factor levels in sera of patients with lung cancer. *Anticancer Res* 1998;18 (2B):1251-4.
182. Demirkazık A. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Hastalarının Serumunda VEGF Düzeyi (tez). Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2002.
183. Kaya A, Ciledag A, Gulbay BE. The prognostic significance of VEGF levels in sera of non small cell lung cancer patients. *Respir Med* 2004;98:632-6.
184. Shimanuki Y, Takahashi K, Cui R. Role of Serum VEGF in the Prediction of Angiogenesis and Prognosis for Non- small Cell Lung Cancer. *Lung* 2005;183:29-42.
185. Smith DR, Polverini PJ, Orringer MB, Whyte RI, Strieter RM, Burdick MD et al. IL-8 mediated angiogenesis in human bronchogenic carcinoma. *J Exp Med* 1994;179:1409-15.
186. Proost P, De Wolf-Peeters C, Conings R, Opdenakker G, Billiau A, Van Damme J. Identification of a novel granulocyte chemotactic protein (GCP-1) from human tumor cells: in vitro and in vivo comparison with natural forms of GRO α , IP-10, and IL-8. *J Immunol* 1993;150:1000-10.
187. Bankert RB, Umemoto T, Sugiyama Y, Chen FA, Repasky E, Yokota S. Human lung tumors, patients peritumoral lymphocytes and tumor infiltrating lymphocytes propagated in SCID mice. *Curr Top Microbiol Immunol* 1993;152:201-10.

188. Strufy S, Burdick MD, Peeters E, Dillen J, Proost P, Strieter RM et al. Platelet Factor- 4 Variant Chemokine CXCL4L1 Inhibits Melanoma and Lung Carcinoma Growth and Metastasis by Preventing Angiogenesis. *Cancer Res* 2007;67:5940-8.
189. Cao Y, Chen C, Weatherbee JA, Tsang M, Folkman J. C-X-C chemokine is an angiogenesis inhibitor that suppresses the growth of Lewis lung carcinoma in mice. *J Exp Med* 1995;182:2069-77.
190. Karnofsky DA, Burchenal JH. The clinical evaluation of chemotherapeutic agents in cancer. In: *Evaluation of Chemotherapeutic Agents* (ed. MacLeod C.M.), 1949; pp.191-205.
191. De Wita VT. Principles of cancer management; chemotherapy. In: Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer principles. Practice of oncology*. Philadelphia:Lippincott Williams. Wilkins Company 1997;333-7.
192. Isaka N, Padera T, Hagendoorn J, Fukumura D and Jain R:Peritumor lymphatics induced by vascular endothelial growth factor-C exhibit abnormal function. *Cancer Res* 2004;64:4400-4.
193. Levin J, Conley CL. Thrombocytosis associated with malignant disease. *Arch Intern Med* 1964;114:497-500.
194. Gislason T, Nou E. Sedimentation rate, leucocytes, platelet count and haemoglobin in bronchial carcinoma: an epidemiological study. *Eur Respir Dis* 1985;66(2):141-6.
195. Lopes A, Daras V, Cross PA, Robertson G, Beynon G, Monaghan JM. Thrombocytosis as a prognostic factor in women with cervical cancer. *Cancer* 1994;74:90-2.
196. Pedersen LM, Milman N. The prognostic value of thrombocytosis in patients with primary lung cancer. *Ugeskr Laeger* 1998;160(26):3917-20.
197. Warrell RP, Bockman RS, Staszewski H, Maiese K. Clinical study of a new antimetastatic compound, nafazatrom (Bay g 6575): effects on platelet consumption and monocyte prostaglandin production in patients with advanced cancer. *Cancer* 1986;57:1455-60.
198. Pedersen LM, Milman N. Prognostic significance of thrombocytosis in patients with primary lung cancer. *Eur Respir J* 1996;9:1826-30.
199. Mantovani A, Allavanea P, Sozzani S, Vecchi A, Locatti M, Sica A. Chemokines in the recruitment and shaping of the leukocyte infiltrate of tumors. *Semin Cancer Biol* 2004;14:155-60.
200. Wallace M, Smyth MJ. The role of natural killer cells in tumor control effectors and regulators of adaptive immunity. *Semin Immunopathol* 2005;48:519-7.
201. Ferrigno D, Buccheri G. Hematologic counts and clinical correlates in 1201 newly diagnosed lung cancer patients. *Monaldi Arch Chest Dis* 2003;59(3):193-8.
202. Ursavaş A, Sağlam AD, Karadağ M, Oral AY, Coşkun F, Gözü O. Akciğer kanserli olgularda serum vascular endothelial growth factor (VEGF) düzeylerinin metastazlar ve diğer tümör belirteçleri ile ilişkisinin incelenmesi. *Tuberk Toraks* 2008;56(1):50-5.

203. Souhami RL, Bradbury J, Geddes DM, Spiro SG, Harper PG, Tobias JS. Prognostic significance of laboratory parameters measured at prognosis in small cell carcinoma of the lung. *Cancer Res* 1985;45:2878-82.
204. Brattstrom D, Bergqvist M, Hesselius P. Elevated preoperative serum levels of angiogenic cytokines correlate to larger primary tumours and poorer survival in nonsmall cell lung cancer patients. *Lung Cancer* 2002;37(1):57-63.

EKLER

EK 1



T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURUL KARARLARI

Oturum Sayısı: 19

Karar Tarihi: 16.11.2006

10-Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 16.11.2006 tarihinde; "Küçük Hücreli Dışı Akeğer Kanserli Hastalarda Serum Vasküler Endotelial Growth Faktör (VEGF) ve Platelet Faktör 4 Düzeylerinin Hastalık Yanıtı ve Sağ Kalma Etkisi" adlı TÜTFEK-2006/178 protokol no.lu çalışmayı incelemek üzere toplandı ve çalışmanın incelenmesine geçildi.

Yapılan inceleme sonunda çalışmanın Fakültemiz İç Hastalıkları Anabilim Dalında yapılacağı, Doç. Dr. Muzaffer DEMİR'in yürütücüsü olduğu araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Helsinki Deklerasyonu Kararlarına, Hasta Hakları Yönetmeliğine ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP) tarafından desteklenmesi koşuluyla yapılabileceğine mevsudun oybirliği ile karar verildi.

Ünvanı/Adı/Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ Başkan	Farmakoloji	T.Ü.T.F. Farmakoloji A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Ümit N. BAŞARAN Başkan Yardımcısı	Çocuk Cerrahisi	T.Ü.T.F. Çocuk Cerrahisi A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Betül Biner ORHANER Üye	Çocuk Sağ ve Hst.	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hst. A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Dilek MEMİŞ Üye	Anesteziyoloji	T.Ü.T.F. Anesteziyoloji A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Betül Uğur ALTUN Üye	Endokrinoloji	T.Ü.T.F. İç Hst. A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŞ Üye	Biyokimya	T.Ü.T.F. Biyokimya A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA Üye	Patoloji	T.Ü.T.F. Patoloji A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Ecz. Emine SAKMAN Üye	Eczacı	T.Ü.T.F. Başhekimliği	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Filiz AKATA
Dekan

Adresi:
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
apoglu Yerleşkesi
06100 EDIRNE

Tel : (0284) 235 76 41 (9 Hat) Fax: (0284) 235 76 52

EK 2

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU (ÖRNEK)

Bu katıldığınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı “Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda serum Vasküler Endotelial Growth Faktör (VEGF) ve Platelet faktör 4 düzeylerinin hastalık yanıtı ve sağ kalıma etkisidir.

Bu araştırmanın amacı; kanser hastalarında tümör hücrelerinin büyümesinde ve tümörün yayılmasında önemli bir rolü olduğu bilinen, kanda bulunan VEGF ile, kanserli dokunun büyümesini ve yayılmasını engellediği düşünülen kandaki TF4 düzeylerinin hastalığın seyrine ve sağ kalım süreleri üzerine etkisini araştırmaktır. Bu araştırmada sizden hastanemize ilk başvurunuz da kan örneği alınacaktır. Bu araştırmada yer almanız için öngörülen süre 2 ay olup araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 60 kişidir. Ayrıca hastalığınızın tedavisi bittikten sonrada sizlerle telefon yolu ile yada kontrole geldiğinizde görüşüp hastalığınızın son durumu varsa şikayetleriniz ile ilgili bilgiler alacağız. Bu araştırmada sizin için, kolunuzdan kan örneği alınması sonrasında şişlik ve morarma gibi riskler ve rahatsızlıklar olabilir. Bu durum geçicidir ve sağlıklı bir insanda da kan örneği alımında bu gibi rahatsızlıklar olabilmektedir. Bu araştırmaya katılmanız size ek bir yarar getirmeyecektir.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0533 64954 89 no.lu telefondan Dr.Volkan DEMİR’e başvurabilirsiniz.

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır. Ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini arttırmak vb. nedenlerle sizi araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi

makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

EK 3

KARNOFSKY PERFORMANS SKALASI

100	Normal, Hastalık yakınması ve kanıtı yok
90	Normal aktivitesini yapabiliyor, hastalığın önemsiz belirti ve bulguları var
80	Ancak normal eforla normal aktivite sürdürüyor. Belirti ve bulgular daha belirgin
70	Kendi kendine bakabiliyor buna karşın normal aktivitelerini yürütemiyor.
60	Kendi kendine bakabiliyor ancak ara sıra yardıma ihtiyacı olabiliyor.
50	Hatırı sayılır derecede yardıma ve sık sık tıbbi bakıma ihtiyacı var.Bazı hallarda kendi kendine bakabiliyor
40	Güçsüz ve özel bakıma ihtiyacı var
30	Ciddi derecede güçsüz hospitalizasyona ihtiyacı var. Hastalık nedeni ile acil ölüm tehlikesi yok
20	Çok hasta, destek tedavisine ve hastanede bakıma ihtiyacı var
10	Ölüme yakın
0	Ölüm