



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

AKCİĞER KANSERİNDE TİMOKİNONUN HÜCRE DÜZEYİNDE ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

**Dr.Onur BAYRAKÇI
GÖĞÜS CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr.A.Ferudun IŞIK**

Ekim - 2016

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**AKCİĞER KANSERİNDE TİMOKİNONUN
HÜCRE DÜZEYİNDE ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr.Onur BAYRAKÇI
GÖĞÜS CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr.A.Ferudun IŞIK**

Bu tez, Gaziantep Üniversitesi BAPYB (Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi) tarafından BAP-F03-P01 / TF.15.27 Proje numarası ile desteklenmiştir.

TEZ ONAY SAYFASI

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

TEZİN ADI

Akciğer Kanseri Timokinon'un hücre düzeyinde etkileri

Dr.Onur BAYRAKÇI

TARİH

25.10.2016

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı


Prof.Dr.Zeki ÇELEN
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının "Tıpta Uzmanlık" derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.


Prof.Dr.Levent ELBEYLİ
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile "Tıpta Uzmanlık" tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Prof.Dr.A.Ferudun IŞIK
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

- 1.Prof.Dr.A.Ferudun IŞIK
- 2.Prof.Dr.Levent ELBEYLİ
- 3.Prof.Dr.Cemal ÖZÇELİK



I.ÖNSÖZ

Meslek hayatımın en anlamlı dönemini geçirdiğim, göğüs cerrahisi eğitim ve öğrenim süresi boyunca yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Sn.Prof.Dr.Levent ELBEYLİ, Sn.Prof.Dr.Bülent TUNÇÖZGÜR, Sn.Prof.Dr.Maruf ŞANLI, Sn.Yrd.Doç.Dr.İlknur AYTEKİN'e; ilgisini ve sabrını esirgemeyen, bana olan güvenini hissettiren değerli hocam ve tez danışmanım Sn.Prof.Dr.A.Ferudun IŞIK' a; tezimin hazırlanmasında değerli katkılarından dolayı Sn.Prof.Dr.Hasan BAYRAM ve Sn.Dr.Demet TAŞDEMİR' e teşekkür ederim.

Gözlerinde güven duygularını hissettiğim hastalarım, birlikte çalışmaktan zevk duyduğum Dr.Miray ERSÖZ, Dr.Bekir ELMA, Dr.Ahmet ULUŞAN, Dr.M.Mustafa ÖZDEN ve emektaşım kardeşim Dr.M.Yunus BENLİ' ye; göğüs cerrahisi kliniği, yoğun bakım ve ameliyathane hemşireleri, teknisyenleri, personelleri ve sekreterlerine teşekkür ederim.

Beni yetiştirdiği, her zaman ardımda desteği ve varlığıyla tüm zorluklara göğüs gerdiğim canım annem Şenel BAYRAKÇI'ya dualarıyla yanımda hissettiğim canım babam Mehmet BAYRAKÇI'ya güvenleri ve saygılarıyla desteğini esirgemeyen canım kardeşlerim Necla BAYRAKÇI ÇAPAN ve Eyüp BAYRAKÇI' ya teşekkür ederim.

Ve hayatını benimle birleştiren, sevgi ve saygısını hissettiren, özellikle uzmanlık eğitimi boyunca tüm zorlukları desteği ile aştığım, anneliğiyle huzura ulaştığım canım eşim Sinem YALÇIN BAYRAKÇI'ya, varlıkları sevinç kaynağım olan, sevgileriyle tüm yorgunluğumu attığım, özlemlerine rağmen sabır ile bekleyen ve evlat kokusunu yaşattığı için Nehir Ela BAYRAKÇI ve Güneş Ece BAYRAKÇI' ya sonsuz teşekkür ederim.

Dr.Onur BAYRAKÇI

Gaziantep - 2016

II.İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
I.ÖNSÖZ.....	I
II.İÇİNDEKİLER.....	II
III.ÖZET.....	VII
IV.ABSTRACT.....	VIII
V.KISALTMA LİSTESİ.....	IX
VI.TABLO LİSTESİ.....	XI
VII.ŞEKİL LİSTESİ.....	XII
VIII.RESİM LİSTESİ.....	XIII
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1.Akciğer Kanseri.....	3
2.1.1.Akciğer Kanserinin Epidemiyolojisi.....	3
2.1.2.Akciğer Kanserinin Etyolojisi.....	5
2.1.3.Akciğer Kanserinin Histopatolojisi.....	8
2.1.3.1.Skuamöz Hücreli Karsinom Histopatolojisi.....	10
2.1.3.2.Küçük Hücreli Karsinom Histopatolojisi.....	10
2.1.3.3.Adenokarsinom Histopatolojisi.....	11
2.1.3.4.Büyük Hücreli Karsinom Histopatolojisi.....	11
2.1.3.5.Adenoskuamöz Karsinom Histopatolojisi.....	11
2.1.3.6.Sarkomatoid Karsinom Histopatolojisi.....	12
2.1.3.7.Karsinoid Tümör Histopatolojisi.....	12
2.1.3.8.Mezotelyoma Histopatolojisi.....	13
2.1.4.Moleküler Biyoloji ve Karsinogenezis.....	13
2.1.4.1.Onkogenlerin aktivasyonu.....	15
2.1.4.1.1.Ras Ailesi.....	15
2.1.4.1.2.Myc Ailesi.....	16
2.1.4.1.3.Hücre içi sinyal iletilicileri ve nükleer transkripsiyon faktörleri.....	16
2.1.4.2.Tümör Supressör Genler.....	17

2.1.4.2.1.p53 Tümör Supressör Geni	18
2.1.4.2.2.Retinoblastom Geni	19
2.1.4.2.3.Kromozom 3p Kaybı	20
2.1.4.2.4.Diğer bölgelerdeki tümör supressör genler	21
2.1.4.3.Akciğer Kanserinde Hücre Siklus Kontrolü	22
2.1.4.3.1.Hücre proliferasyonunun kontrolü	22
2.1.4.3.2.Checkpoint (Kontrol noktası) Kontrolü	22
2.1.4.3.3.Protein fosforilasyonu ile hücre siklusunun kontrolü	23
2.1.4.4.DNA tamirinde görev alan genlerde ortaya çıkan değişiklikler	24
2.1.4.4.1.Spesifik gen değişiklikleri	25
2.1.4.4.2.Retinoik asit reseptör yolundaki değişiklikler	25
2.1.4.4.3.Telomeraz aktivitesi	25
2.1.4.4.4.Apoptozis Genleri	26
2.1.4.5.Büyüme faktörleri ve reseptörleri	26
2.1.4.5.1.Epidermal Growth Faktör (EGF), Transforming Growth Faktör-a (TGF-a) ve EGF Reseptörü (EGFR)	27
2.1.4.5.2.Transforming Growth Faktör-s1 (TGF-s1)	28
2.1.4.5.3.Hepatosit Growth Faktör (HGF)	28
2.1.4.5.4.Fibroblast Büyüme Faktörü	29
2.1.4.5.5.Stem Cell Faktör (SCF/c-kit)	29
2.1.4.5.6.Nikotin ve Opioid Reseptörleri	29
2.1.4.5.7.Matriks Metallo Proteinazlar (MMP)	29
2.1.4.5.8. Vasküler Endotelial Growth Faktör (VEGF)	30
2.1.4.6.Viral Etkenler	31
2.1.5.Akciğer Kanseri Kliniği	31
2.1.6.Akciğer Kanserinde Tanı	33
2.1.6.1.Radyografi	33
2.1.6.2. Balgam sitolojisi	34
2.1.6.3. Bronkoskopi	34
2.1.6.4. Transtorasik iğne aspirasyonu (TTIA)	34
2.1.6.5. Bilgisayarlı Tomografi	34
2.1.6.6. Magnetik rezonans (MR)	35

2.1.6.7. Pozitron emisyon tomografisi (PET).....	35
2.1.6.8. Mediastinoskopi	37
2.1.6.9. Video yardımcı torasik cerrahi (VATS)	37
2.1.7. Akciğer Kanserinde Evreleme	38
2.1.8. Akciğer kanserinde prognostik faktörler	41
2.1.8.1. TNM evresi.....	41
2.1.8.2. Hücre tipi ve diferansiyasyonu	41
2.1.8.3. Hastanın performans durumu	42
2.1.8.4. Prognostik faktör olarak SUVmax	43
2.1.9. Akciğer Kanseri Tedavisi	43
2.1.9.1. Cerrahi Tedavi	43
2.1.9.2. Medikal Tedavi	44
2.1.9.3. Hedefe Yönelik Tedaviler	45
2.1.9.4. Radyoterapi.....	46
2.1.9.5. Endobronşial Tedavi	46
2.1.9.6. İmmunoterapi	47
2.1.9.7. TxN0M0 ve Yüzeyel Tümörlerde Tedavi	48
2.1.9.8. Evre IA ve IB Tümörlerde Tedavi	48
2.1.9.9. Evre IIA ve IIB Tümörlerde Tedavi	48
2.1.9.10. Evre IIIA Tümörlerde Tedavi	49
2.1.9.11. Evre IIIB Tümörlerde Tedavi	49
2.1.9.12. Evre IV Tümörlerde Tedavi	50
2.2. Nigella Sativa (Çörek otu) ve Biyoaktif komponenti Timokinon	50
2.2.1. Nigella Sativa (Çörek otu).....	50
2.2.2. Timokinon ve Etkileri.....	51
2.2.2.1. Antihiperlipidemik ve Antihiperkolesterolemik Etkisi.....	51
2.2.2.2. Antioksidatif Etkisi	51
2.2.2.3. Antidiyabetik Etkisi	52
2.2.2.4. Antitümöral ve antikanserojenik etkisi	52
2.2.2.5. Sindirim Sistemine Etkisi.....	53
2.2.2.6. İmmun Sisteme Etkisi.....	53
2.2.2.7. Analjezik ve Antiinflamatuvar Etkisi.....	53

2.2.2.8.Sinir Sistemine Etkisi.....	53
2.2.2.9.Solunum Sistemine Etkisi.....	54
2.2.2.10.Dolaşım Sistemine Etkisi.....	54
2.2.2.11.Boşaltım Sistemine Etkisi.....	54
2.2.2.12.Toksik Etkisi	54
3.GEREÇ VE YÖNTEM	55
3.1.Antikanser Aktivite Araştırması	55
3.1.1.Biyolojik Aktivite Testleri için kullanılan kimyasallar ve hücreler	55
3.1.1.1. A549 Akciğer Bronkoalveoler Karsinom Hücre Dizi Kültürü	56
3.1.1.2. BEAS-2B Normal Bronş Epiteli Hücre Dizi Kültürü.....	56
3.1.1.3.HTB-54 Akciğer Epidermoid Karsinom Hücre Dizi Kültürü	57
3.1.2.Cihazlar	57
3.1.3.Hücreler ile yapılan çalışmalar	58
3.1.3.1. Hücrelerde Kullanılan Kültür Vasatının Hazırlanması	58
3.1.3.2.Hücrelerin Kaldırılması	58
3.1.3.3.Hücrelerin Sayılması	59
3.1.3.4. Sentezlenen Bileşiklerin Hazırlanması	60
3.1.3.5. Kimyasalların Maruziyeti	60
3.1.3.6. Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi.....	60
3.1.3.7.İstatistiksel Analiz.....	61
4.BULGULAR	62
4.1.A549 (Bronkoalveoler karsinom) hücre hattı deneyleri (Pasaj No:14). 62	
4.1.1.A549 hücrelerinde TQ (timokinon)' nun etkileri	63
4.1.2.A549 hücrelerinde Cis (sisplatin)' in etkileri	64
4.1.3.A549 hücrelerinde Tq ve Cis Etkilerinin Karşılaştırılması	65
4.1.4.A549 hücrelerinde Tq ve Cis Etkilerinin İstatistiksel Analizi	66
4.2.HTB-54 (Akciğer Epidermoid karsinom) hücre hattı deneyleri (Pasaj No:4).....	67
4.2.1.HTB-54 hücrelerinde TQ (timokinon)' nun etkileri	68
4.2.2.HTB-54 hücrelerinde Cis (sisplatin)' in etkileri	69
4.2.3.HTB-54 hücrelerinde Tq ve Cis Etkilerinin Karşılaştırılması	70
4.2.4.HTB-54 hücrelerinde Tq ve Cis Etkilerinin İstatistiksel Analizi	71

4.3.BEAS-2B (Normal Bronş Epiteli) hücre hattı deneyleri (Pasaj No:12) .	72
4.3.1.BEAS-2B hücrelerinde TQ (timokinon)' nun etkileri	73
4.3.2.BEAS-2B hücrelerinde Cis (sisplatin)' in etkileri	73
4.3.3.BEAS-2B hücrelerinde Tq ve Cis Etkilerinin Karşılaştırılması.....	74
4.3.4.BEAS-2B hücrelerinde Tq ve Cis Etkilerinin İstatistiksel Analizi	75
5.TARTIŞMA.....	77
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	84
7.KAYNAKLAR	86



III.ÖZET

AKCİĞER KANSERİNDE TİMOKİNONUN HÜCRE DÜZEYİNDE ETKİLERİ

Dr.Onur BAYRAKÇI

Uzmanlık Tezi, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof.Dr.A.Ferudun IŞIK

Ekim 2016, 115 sayfa

AMAÇ: Nigella Sativa (Çörek Otu) bileşenlerinden biyoaktif komponent olan Timokinonun antikanserojenik, antitümöral, antiülserojenik, antibakteriyal, analjezik, antioksidan, hipoglisemik ve bağışıklık sistemini güçlendirici etkileri gösterilmiştir. Çalışmamızda akciğer kanserleri hücre hatları üzerinde Timokinonun ilgili dozlarda invitro etkili olup olmadığı araştırılacaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Gaziantep Üniversitesi Hücre Kültür Laboratuvarında A549 (Bronkoalveoler karsinom), HTB54 (Epidermoid karsinom) ve BEAS2B (Normal bronş epiteli) hücre hatları kültür ortamında çoğaltılarak timokinon ve sisplatin 10,100 ve 200 μ M konsantrasyonlarda uygulanıp, hücre canlılığı değerlendirilecektir.

BULGULAR: A549, HTB54 ve BEAS2B hücrelerine uygulanan timokinon ve sisplatinin eşit konsantrasyondaki etkileri karşılaştırılmıştır. Serum fizyolojik ve kimyasal madde çözücü solüsyon (DMSO) ile tüm hücrelerde değişiklik saptanmamıştır. 10 μ M konsantrasyonda kimyasalların herhangi bir etkisi görülmemiştir. Tüm hücrelerde timokinon 100 ve 200 μ M, sisplatin ise 200 μ M dozda etkili olduğu saptanmıştır. Sisplatinin 100 μ M dozda etkili olmadığı, timokinonun 200 μ M dozda toksik olduğu görülmüştür.

SONUÇLAR: A549, HTB54 ve BEAS2B hücrelerinde timokinonun 100 ve 200 μ M dozdaki etkileri, sisplatinin aynı dozdaki etkisinden daha fazla olduğu görülmüştür.HTB54 ve A549 hücrelerinde sisplatinin 100 μ M dozda etkisi yoktur. BEAS2B hücrelerinde her iki kimyasalda 100 ve 200 μ M dozda etkilidir. Timokinonun etkin dozu 100 μ M, sisplatinin etkin dozu 200 μ M olarak belirlenmiştir. Her iki kimyasal madde etkin dozlarında benzer toksisiteye sahiptir. Sonuç olarak akciğer kanser hücreleri üzerinde, timokinonun etkisi sisplatinden üstündür.

Anahtar Kelimeler: Akciğer Kanseri, Timokinon, Çörek Otu, Sisplatin

IV.ABSTRACT

THE EFFECTS OF THYMOQUINONE ON A CELLULAR LEVEL IN LUNG CANCER

Onur BAYRAKÇI, MD

Recidecy Thesis, Department of Thoracic Surgery

Supervisor: Prof.A.Ferudun IŞIK, MD

October 2016, 115 pages

OBJECTIVE: Studies demonstrate that Thymoquinone, which is the particularly bioactive component of Nigella Sativa (black cumin) components may have anticarcinogenic, antitumoral, antiulcerogenic, antibacterial, analgesic, antioxidant, hypoglycemic and strengthening the immune system effects. In our pilot study will investigate whether the thymoquinon's effective doses are related on the lung cancer's cell lines or not.

MATERIAL AND METHODS: In Gaziantep University Cell Culture Laboratuary, A549 (Bronchoalveoler Carsinoma), HTB54 (Epidermoid Carsinoma) and BEAS2B (Normal Bronch Epithelium) cell lines will be replicated in culture environment, thymoquinone and cysplatin will be applied 10,100 ve 200 μ M and cell lines viability will be evaluated.

FINDINGS: We compare the effects of cisplatin and thymoquinone in equal concentration that applied to A549, HTB54 and BEAS2B cells. There were no changes in any cell that saline and chemical solvent solution (DMSO) applied. Any effect of chemicals was observed at 10 μ M concentration. Thymoquinone at 100 and 200 μ M and cisplatin at 200 μ M concentration was found to be effective on all cells.It was observed that; cisplatin was not effective at 100 μ M concentration and thymoquinone was toxic at 200 μ M concentration.

RESULTS: The effect of thymoquinone at 100 and 200 μ M doses on A549, HTB54 and BEAS2B cells are more than the effects off cisplatin at the same doses. Cisplatin has no effect at 100 μ M dose on HTB54 and A549 cells. Both chemicals are effective at 100 and 200 μ M on BEAS2B cells. The effective dose of thymoquinone was found to be 100 μ M and cisplatin 200 μ M. Both chemical matters have similar toxicity at effective doses. As a result the effect of thymoquinone on the lung carsinoma cells is superior to cisplatin.

Key Words: Lung carsinoma, Thymoquinone, Black cumin, cisplatin

V.KISALTMA LİSTESİ

- A549** : Bronkoalveoler karsinom hücre hattı
ATCC : American Type Culture Collection
BEAS-2B : Normal bronş epiteli hücre hattı
BT : Bilgisayarlı Tomografi
CAT : Katalaz
CEA : Karsinoembriyogenik antijen
Cis : Sisplatin
COX : Siklooksijenaz
DHE : Dihemotoporfirin eter
DMEM : Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO : Dimetil sülfoksit
DNA : Deoksiribonükleik asit
DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü
ECOG : Eastern Cooperative Oncology Group
EGF : Epidermal Growth Faktör
EGFR : Epidermal Growth Faktör Reseptörü
FCS : Fetal Calf Serum
FHIT : Fragil Histidin Triad Geni
GDP : Guanozin difosfat
GSH : Glutasyon
GST : Glutasyon S transferaz
GTP : Guanozin trifosfat
GTPase : Guanozin trifosfataz
HGF : Hepatosit Growth Faktör
Hpd : Hematoporfirin deriveleri
HPV : Human Papilloma Virüs
HSV : Herpes Simpleks Virüs
HTB-54 : Akciğer Epidermoid Karsinom hücre hattı
IARC : International Agency for Research on Cancer
IASLC : International Association for the Study of Lung Cancer
KHAK : Küçük Hücreli Akciğer Karsinomu

KHDAK : Küçük Hücre Dışı Akciğer Karsinomu
KT : Kemoterapi
LO : Lipooksijenaz
MMP : Matriks Metalloproteinaz
MPM : Malign Plevral Mezotelyoma
MR : Manyetik Rezonans
MTT : 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) 2,5-difenil tetrazolyum bromid
Nd : Neodymium
NO : Nitrik Oksit
NS : Nigella Sativa (Çörek otu)
PDT : Fotodinamik tedavi
PET : Pozitron Emisyon Tomografisi
PI : Propidiun İodide
RARs : Retinoik Asit Reseptörü
Rb : Retinoblastom
RT : Radyoterapi
RXRs : Retinoid X Reseptörü
SCF : Stem Cell Faktör
STZ : Streptozotosin
SUV : Standardized Uptake Value
TG : Trigliserit
TGF : Transforming Growth Faktör
TTF-1 : Troid Transkripsiyon Faktör-1
TQ : Timokinon
VAM : Video yardımcı Mediastinoskopi
VATS : Video yardımcı Torasik Cerrahi
VCSS : Vena Cava Süperior Sendromu
VEGF : Vasküler Endotelial Growth Faktör
WHO : World Health Organization
YAG : Yttrium Aluminium Garnet

VI.TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Akciğer ve Plevra Tümörlerinin Histolojik Sınıflaması.....	7
Tablo 2. Akciğer Kanseri Evreleri.....	37
Tablo 3. Akciğer Kanseri TNM Evreleme Sistemi.....	38
Tablo 4. Akciğer Kanseri Evrelere göre sağkalım oranları.....	39
Tablo 5. Karnofsky ve ECOG Performans Skalaları.....	40
Tablo 6. A549 hücreleri üzerinde TQ Etkileri.....	61
Tablo 7. A549 hücreleri üzerinde Cis Etkileri.....	62
Tablo 8. HTB-54 hücreleri üzerinde TQ Etkileri.....	66
Tablo 9. HTB-54 hücreleri üzerinde Cis Etkileri.....	67
Tablo 10. BEAS-2B hücreleri üzerinde TQ Etkileri.....	70
Tablo 11. BEAS-2B hücreleri üzerinde Cis Etkileri.....	71

VII.ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. A549 hücrelerinde Tq ve Cis İstatistiksel Analizi.....	64
Şekil 2. HTB-54 hücrelerinde Tq ve Cis İstatistiksel Analizi.....	68
Şekil 3. BEAS-2B hücrelerinde Tq ve Cis İstatistiksel Analizi.....	73



VIII.RESİM LİSTESİ

Resim 1. Çörek otu bitkisi.....	48
Resim 2. Çörek otu tohumu.....	48
Resim 3. Kültür ortamında A549 hücreleri.....	53
Resim 4. Hücrelerin Pasajlanması.....	56
Resim 5. Hücrelerin bulunduğu plate MTT boyası eklenmiş hali.....	58
Resim 6. Hücrelerin bulunduğu plate DMSO eklenmiş hali.....	59



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanseri, günümüzde, kadınlarda ve erkeklerde en sık görülen ve en fazla ölüme yol açan kanserlerin başında yer almaktadır. Hastaların yaklaşık % 80'i tanı sırasında inoperabl evrede olup 5 yıllık ortalama sağ kalım süresi % 5-10 olarak bildirilmektedir. Tümör evresi, en önemli prognostik faktörlerden biridir.

Cerrahi tedavi uygulanan hasta grubunda 5 yıllık sağ kalım oranı evre IA için % 67, evre IIA için % 55 ve evre IIIA için % 23 olarak bildirilmektedir. Bu sağ kalım oranı evre IIIB olgularda sadece % 3-7' dir.

Nigella Sativa (Çörek Otu) bileşenlerinden özellikle biyoaktif komponenti olan Timokinonun antikanserojenik, antitümöral, antiülserojenik, antibakteriyal, analjezik, antioksidan, hipoglisemik ve bağışıklık sistemini güçlendirici etkileri gösterilmiştir.

Planlanan çalışmayla akciğer kanseri hücre hat üzerinde Timokinonun etkileri araştırılarak ilgili dozlarda etkili olup olmadığı gösterilecek ve bilim dünyasına katkı sağlanacaktır.

Mevcut kanser tipleri üzerinde olası olumlu etki gösterilmesi durumunda faz çalışmaları sonrasında daha sonraki aşamalarda lokal veya sistemik tedavi amaçlı ilaç olarak kullanılabilceği düşünülmektedir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Akciğer Kanseri

Akciğer kanseri tüm dünyada en sık görülen kanser türüdür. Her yıl yaklaşık 1 milyon kişi akciğer kanseri nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Ortalama survey 8 ay ve 5 yıllık sağ kalım oranı % 15' tir.

2.1.1.Akciğer Kanserinin Epidemiyolojisi

Gelişmiş ülkelerde insidans 71 / 100.000, gelişmekte olan ülkelerde ise 14 / 100.000 dir. Avrupa Birliği ülkelerinde ise 52.5 / 100.000 olarak bulunmuştur. Ülkemizdeki insidans oranları Sağlık Bakanlığı' na bildirilen vakaların sonucuna göre insidans 11,5 / 100.000 olup erkeklerde 9,9 / 100.000 ve kadınlarda 1,0 / 100.000' dir. Erkeklerdeki kanserlerin % 30' u, kadınlardaki kanserlerin % 5' i akciğer kanseridir. Ancak İzmir ilinde 1992 – 1996 yılları arasında yapılan çalışmada insidans 23,7 / 100.000 olarak hesaplanmıştır (1-4).

İnsidanslarının sürekli olarak artması, yüksek mortalite oranları, yüksek tedavi maliyetleri, buna karşın önemli bir bölümünün tam olarak tedavi edilememeleri nedeniyle dünya genelinde kanserler en önemli sağlık sorunlarından biri olma özelliklerini sürdürmektedirler. Yapılan istatistiksel çalışmalar, ölüm nedenleri sıralamasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada kansere bağlı ölümlerin yer aldığını göstermektedir.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2010 yılı istatistiklerinde belirtildiği üzere, yıllara göre beklenen yaşam süreleri 2008 yılı için ekonomik düzeyi gelişmiş ülke erkeklerinde 77 yıl, kadınlarında 83 yıl ve her iki cinsiyet için ortalama 80 yıl olarak verilmiştir (6).

Türkiye için ölüm nedenleri istatistiksel verileri son olarak 2008 yılı Sağlık Bakanlığı İstatistikleri içerisinde yayınlanmış olup, bu kaynakta belirtildiğine

göre Türkiye’de dolaşım sistemi hastalıklarına bağlı ölüm oranı % 34,3 iken, neoplazmlara bağlı ölüm oranı %11,4’tür (7).

Ayrıca kanserler için 5 yıllık sağkalım oranları incelendiğinde akciğer kanseri için 5 yıllık sağkalım oranı %15 civarında seyretmekte iken, bu oran kolorektal kanserlerde %60’ larda, meme kanserlerinde %85’in üzerinde ve prostat kanserlerinde %90 civarındadır (8).

Dünya Sağlık Örgütü’ne bağlı olarak kanser araştırmaları yapan ve kanser istatistiklerini düzenli olarak yayınlayan “International Agency for Research on Cancer” (IARC) en son 2008 yılı istatistiklerini yayınlamış ve verileri 2010 yılında tekrar gözden geçirmiştir. Bu kuruluşun son verilerine göre her iki cinsiyet birlikte değerlendirildiğinde akciğer kanseri dünya genelinde en sık görülen ve en sık ölüme neden olan kanser tipidir (9).

Ayrıca 2008 yılında 1,61 milyon yeni akciğer kanseri olgusu bildirildiği ve tüm yeni kanser olguları arasında akciğer kanserinin %12,7’ lik bir oran oluşturduğu belirtilmiş, kanserden ölümler arasında ilk sırada akciğer kanserinin olduğu ve bir yılda 1,38 milyon ölüm ile toplam kanser ölümlerinin %18,2’sini oluşturduğu vurgulanmıştır (9).

IARC kayıtlarında Türkiye için 2008 yılında 14.667 yeni erkek akciğer kanseri olgusu 13.462 adet akciğer kanserine bağlı ölüm, 1784 yeni kadın akciğer kanseri olgusu ile 1639 adet akciğer kanserine bağlı ölüm olgusu rapor edilmiştir. Erkek olgular için yeni olgu oranı 49,1 / 100.000 olarak verilirken, kadın olgularda 5,2 / 100.000 olarak bildirilmektedir (7).

T.C. Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı Epidemiyoloji ve Koruma Şube Müdürlüğü tarafından Türkiye için yayınlanmış son istatistik 2006 yılına ait olup Türkiye için 2004-2006 yıllarına ait kanser istatistikleri verilmiştir. Buna göre, Türkiye için 2005 yılında kayıt altına alınmış akciğer kanseri insidansı 30,13 / 100.000 ile birinci sıradadır. Erkek nüfusu için bu insidans

52,73 / 100.000 ile yine birinci sıradadır. Kadın nüfusu için ise 35,47 / 100.000 ile meme kanseri insidansı birinci sırada olup, akciğer kanseri sıklığı ise 7,20 / 100.000 ile dördüncü sırada yer almaktadır (8).

2.1.2.Akciğer Kanserinin Etiyolojisi

Sigara; akciğer kanseri etiolojisinde sorumlu başlıca faktördür. Akciğer kanseri hastalarının yaklaşık %90' ı sigara kullanmaktadır. Sigara ile akciğer kanseri ilişkisi ilk defa 1950 yılında gösterilmiş ve daha sonra yapılan çalışmalarla doğrulanmıştır. Akciğer kanseri görülme riski sigara kullananlarda 24-36 kat daha fazladır. Gelişmiş ülkelerde erkeklerde sigara prevalansı %40-60, kadınlarda %20-40 iken gelişmekte olan ülkelerde bu oranlar %40-60 ve %2-10'dur. Türkiye' deki oranlar 1988 yılında erkeklerde %63, kadınlarda %24 olarak saptanmıştır.

Türkiye'deki hastaların %88.7' sinin sigara hikayesi mevcuttur. Sigara dumanında 4000'den fazla kimyasal madde bulunur. 60'dan fazlasının kanıtlanmış karsinojen özelliği vardır. Bunların bir kısmı radyoaktif özelliktedir; radon, kurşun, bizmut ve polonyum. Polisiklik hidrakerbonlar ve N-nitrozamin özellikle prokarsinojenik olarak tanımlanmıştır.

Sigara içme süresi, içilen sigara sayısı, içilen sigara tipi ve sigaraya başlama yaşı kanser gelişimini etkiler. Ayrıca sigaranın filtresiz olması ve yoğun katran içermesi de ek faktörlerdir. Mentollü sigaraların daha kanserojen olduğuna dair bulgular mevcuttur. Bunu daha derin nefes çekilmesine yol açarak, nikotinin metabolizmasını yavaşlatarak, reseptörleri duyarsızlaştırarak sigaranın irritasyonunu engelleyerek, sigaradaki toksik maddelerin permeabilitesi ve difüzyonunu artırarak yaptığı düşünülmektedir.

Pasif sigara içiminde de akciğer kanseri riski 3,5 kat artmıştır. Çünkü etrafa yayılan sigara dumanında tüm karsinojenler aynen bulunur ve sigara filtresinden de geçmediğinden çok daha yoğundur.

Sigara içen erkeklerle evli, sigara içmeyen kadınlarda risk 1.3 kat artmıştır. 22 yaşından daha erken sigaraya maruz kalan kadınlarda risk belirgin olarak artmaktadır, en yüksek risk 7 yaşın altındaki maruziyette görülmüştür.

Sigara ile ilişkili başlıca histolojik tip skuamöz hücreli kanserdir. Kadınlarda özellikle sigara içimi ile küçük hücreli akciğer kanseri arasında ilişki belirgindir. 20 yıldan daha az sigara içenlerde sigarayı bıraktıktan 5 yıl sonra risk çok azalır ve 10-15 yıl sonra sigara içmeyenlerle aynı düzeye inmektedir (1,4,9).

Mesleki maruziyet; Akciğer kanseri gelişiminin erkeklerde %15, kadınlarda %5 oranından sorumlu tutulmuştur.

Mesleki maruziyette en önemli madde asbesttir. Amfibol tipi daha büyük risk taşır. Maruziyet yoğunluğu ve süresi de önemlidir. 20 yıl maruziyetten sonra risk artmaktadır. Türkiye'deki hastalarda % 1 oranında çevresel asbest maruziyeti saptanmıştır.

Ayrıca uranyum, radon gazı, kömür kurumu, katran, hardal gazı, vinil klorür, arsenik, krom, nikel, bisklorometileter, demir, çelik, dizel, egzoz, berilyum, kadmiyum, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, formaldehit, elektromanyetik alanlarında Akciğer kanseri riskini artırdığı belirtilmektedir.

Hava kirliliği; akciğer kanserlerinin %1 kadarından sorumlu tutulmaktadır. Benzopiren, SO₂ gibi maddelere maruziyet ve aromatik hidrokarbonların yoğun olduğu bölgelerde akciğer kanseri olguları daha fazladır. Kentlerde yaşayanlarda risk 1,2-2,3 kat daha fazladır.

Geçirilmiş hastalıklar; akciğerde bulunan fibrozis sahalarında kanser gelişim riski artmıştır. Sarkoidozda akciğer kanseri gelişim riski 3 kat fazla bulunmuştur. Tüberküloza bağlı skar varlığı riski 8 kat artırmaktadır. Sistemik sklerozda da risk yüksektir.

Skar zemininde gelişen akciğer kanserinde özellikle adenokarsinom tipi gelişir. Türkiye’de akciğer kanseri hastalarının % 0.3’ ünde idiopatik fibrozis, %2.9’ unda akciğer tüberkülozuna sekonder gelişen fibrozis zemininde kanser geliştiği saptanmıştır (1,2,7).

Kalıtsal Faktörler de akciğer kanseri gelişiminde araştırılmıştır ve birinci derece akrabalarında kanser olanlarda akciğer kanseri riski 2.4 kat artmış bulunmuştur.

Arilhidrokarbon hidroksilaz enzimi sigara dumanında yoğun bulunan polisiklik hidrokarbonları aktif karsinojenlere çeviren bir enzimdir. Yüksek enzim aktivitesi gösteren kişilerde risk artmış olabilir.

Hücre büyümesi ile ilgili işlevleri olan bazı genlerde dış etkenlerle (radyasyon, kimyasal maddeler, virüsler) değişiklik meydana gelerek “onkogen” haline gelmesi karsinogeneze önemlidir. Bu onkogenlerin en önemli grupları “myc” (C-myc, L-myc, N-myc) ve “ras” (K-ras, H-ras, N-ras) aileleridir.

Buna karşılık bazı tümör supresör genlerinde de (retinoblaston ve p53 geni) kanser hastalarında mutasyon saptanmıştır. Sigarada bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonlar DNA bağlarını parçalar, DNA tamir, apoptoz ve hücre döngüsünü ayarlayan p53 geninde mutasyona neden olur. p53 geni akciğer kanseri hastalarında %50-70 oranında defektli bulunmuştur (10,11).

Beslenme diyetindeki eksiklikler akciğer kanseri gelişiminde etkili olabilir. Vitamin A ve beta karotenden fakir beslenmenin hayvan modellerinde akciğer kanseri riskini artırdığı gösterilmiştir. İnsanlardaki çalışmalarda da diyetinde betakaroten / retinol miktarı yüksek olanlarda akciğer kanseri riskinin %40 azaldığını tespit etmiştir. Beta karoten, A vitamininin öncülüdür ve turuncgiller, yeşil sebzeler ile balıkta bulunur. Ayrıca yüksek yağlı diyetle beslenen sigara içicilerde kanser riski daha yüksektir. Sarı-yeşil sebze ve meyvelerin yeterli

alımı riski azaltır. Çayın (özellikle yeşil çay) koruyucu olduğuna dair de bazı bulgular mevcuttur.

Sosyoekonomik durumu kötü olanlarda akciğer kanseri riski 2-6 kat fazladır ve bu muhtemelen bu grubun etyolojideki faktörlere daha fazla maruz kalması ile ilişkilidir (12).

Bazı hastalıkların tedavileride akciğer kanseri riskini artırabilir. Kadınlarda meme kanseri tedavisinde uygulanan radyoterapi ile aynı tarafta akciğer kanseri gelişme riski 2 kat artmıştır ve bu risk radyoterapiden 10 yıl sonra başlamaktadır. Aynı zamanda hasta sigara içiyorsa risk 40 kata kadar artar (13).

Non-Hodgkin lenfoma hastalarında da radyoterapiden 5 yıl sonra başlayarak 1.5 kat artmıştır. Hodgkin lenfoma hastalarının 30 yıl izlendiği çalışmada akciğer kanseri riski 2.9 kat artmış bulunmuştur (14).

2.1.3. Akciğer Kanserinin Histopatolojisi

Akciğer kanseri, tüm dünyada mortalitesi ve insidansı en yüksek olan kanser türüdür. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization - WHO) 2004 akciğer tümörleri histolojik sınıflaması aşağıdaki gibidir (Tablo 1).

Tablo 1. Akciğer ve Plevra Tümörlerinin Histolojik Sınıflaması [WHO 2004].

1. Epiteyal Tümörler*

1.1 Benign

1.1.1 Papilloma

1.1.1.1 Skuamöz hücreli papilloma

1.1.1.1.1 Ekzofitik

1.1.1.1.2 Inverted

1.1.1.2 Glandüler papilloma

1.1.1.3 Mikst skuamöz hücreli ve glandüler papilloma

1.1.2 Adenomlar

1.1.2.1 Alveolar adenom

1.1.2.2 Papiller adenom

1.1.2.3 Tükürük bezi tipi adenomlar

1.1.2.3.1 Müköz gland adenomu

1.1.2.3.2 Pleomorfik adenomu

1.1.2.3.3 Diğerleri

1.1.2.4 Müsinöz kistadenom

1.1.2.5 Diğerleri

1.2 Preinvaziv lezyonlar

- 1.2.1 Skuamöz displazi
- 1.2.2 Karsinoma in situ
- 1.2.3 Atipik adenomatöz hiperplazi
- 1.2.4 Diffüz idiyopatik pulmoner nöroendokrin hücre hiperplazisi

1.3 Malign

1.3.1 Skuamöz hücreli karsinoma (SCC)

- 1.3.1.1 Papiller
- 1.3.1.2 Şeffaf hücreli
- 1.3.1.3 Küçük hücreli
- 1.3.1.4 Bazaloid

1.3.2 Küçük hücreli karsinoma

- 1.3.2.1 Kombine küçük hücreli karsinom

1.3.3 Adenokarsinoma

- 1.3.3.1 Asiner
- 1.3.3.2 Papiller
- 1.3.3.3 Bronkoalveolar karsinoma (BAC)
 - 1.3.3.3.1 Non-müsinöz (*Clara* hücreli/tip II pnömosit)
 - 1.3.3.3.2 Müsinöz (goblet hücreli)
 - 1.3.3.3.3 Mikst müsinöz ve non-müsinöz veya belirlenemeyen
- 1.3.3.4 Müsin içeren solid adenokarsinom
- 1.3.3.5 Mikst subtipler içeren adenokarsinom
 - 1.3.3.5.1 İyi diferansiye fütal adenokarsinom
 - 1.3.3.5.2 Müsinöz ("koloid") adenokarsinom
 - 1.3.3.5.3 Müsinöz kistadenokarsinom
 - 1.3.3.5.4 Taşlı yüzük hücreli karsinom
 - 1.3.3.5.5 Berrak hücreli adenokarsinom

1.3.4 Büyük hücreli karsinom

- 1.3.4.1 Büyük hücreli nöroendokrin karsinom
 - 1.3.4.1.1 Kombine büyük hücreli nöroendokrin karsinom
- 1.3.4.2 Basaloid karsinom
- 1.3.4.3 Lenfoepitelyoma benzeri karsinom
- 1.3.4.4 Berrak hücreli karsinom
- 1.3.4.5 Rabdoid fenotipli büyük hücreli karsinom

1.3.5 Adenoskuamöz karsinom

1.3.6 Pleomorfik, sarkomatoid veya sarkomatöz elementler içeren karsinomlar

- 1.3.6.1 İğ veya dev hücreler içeren karsinomlar
 - 1.3.6.1.1 Pleomorfik karsinom
 - 1.3.6.1.2 İğ hücreli karsinom
 - 1.3.6.1.3 Dev hücreli karsinom
- 1.3.6.2 Karsinosarkom
- 1.3.6.3 Pulmoner blastom

1.3.7 Karsinoid tümör

- 1.3.7.1 Tipik karsinoid
- 1.3.7.2 Atipik karsinoid

1.3.8 Tükürük bezi karsinomları

- 1.3.8.1 Mukoepidermoid karsinom
- 1.3.8.2 Adenokistik karsinom
- 1.3.8.3 Diğerleri

1.3.9 Sınıflandırılmayan karsinomlar

* Epitelyal tümörler dışındaki tümörler tabloda yer almamıştır.

2.1.3.1.Skuamöz Hücreli Karsinom Histopatolojisi

Akciğer karsinomları arasında % 25-40 oranında ve %90 sigara içenlerde görülür (15). Genellikle santral yerleşmekle birlikte periferik de yerleşebilir. En sık kavitasyon gösteren tümördür

Değişik derecelerde keratinizasyon ve hücrel bağlanımlar oluşturan epitelyal hücrelerin oluşturduğu malign bir tümördür. Keratinizasyon, özellikle iyi diferansiye tümörlerde keratin incileri oluşturacak tarzda görülürken, az diferansiye olanlarda tek hücre keratinizasyonu şeklinde görülebilir ya da görülmeyebilir. Çevre mukozada in situ skuamöz hücreli karsinom görülebilir.

Papiller, berrak hücreli, küçük hücreli ve bazaloid tipleri vardır. Bu paternler genellikle tümörler içerisinde komponentler şeklinde görülür. Alt tip olarak adlandırılmaları için tümörün %90 ' ından fazlasını içermeleri gereklidir.

Skuamöz hücreli karsinom yüksek moleküler ağırlıklı keratin (34β E12), sitokeratin 5/6, CEA ekspresse eder. Düşük molekül ağırlıklı keratin (35βH11) ekspresse edebilir. Çok nadiren TTF-1 ve sitokeratin 7 ekspresyonu da görülebilir. Skuamöz hücreli karsinom, diğer tiplere göre daha geç metastaz yapar, genellikle lokal yayılma eğilimindedir.

2.1.3.2.Küçük Hücreli Karsinom Histopatolojisi

Tüm akciğer kanseri olgularının %14 kadarını oluşturan, hemen tüm olgularda sigara ile ilişkili, tanı anında çoğu olgunun ileri evre olduğu akciğer kanseri türüdür (16).

Tümör hücreleri tipik olarak ezilme, çekilme, yığılma artefaktı oluşturan, yüksek mitotik aktivite gösteren ince granüler kromatine sahip, nükleolü belirsiz, yuvarlak ya da fuziform küçük nükleuslu, dar sitoplazmalıdır (16). Damar duvarlarında tümör hücrelerinden çıkan artmış miktardaki DNA'nın oluşturduğu bazofilik görünüm tipik bir bulgudur (Azzopardi etkisi).

Küçük hücreli karsinom komponenti, tedaviyi ve sağkalımı etkileyeceği için mutlaka araştırılmalıdır. Tanı için çoğu olguda hematoksilen&eoizin boyalı kesitler yeterlidir.

İmmunhistokimyasal olarak CD56, kromogranin, sinaptofizin belirteçleri, nöroendokrin ayrımlaşmayı belirleyebilmek için kullanılır ancak bunlar negatif bile olsa tipik morfolojik bulgular varsa küçük hücreli akciğer karsinomu tanısı verilir.

2.1.3.3.Adenokarsinom Histopatolojisi

Genelde sigara öyküsü olmayan kişilerde, kimi zaman skar dokusu zemininde gelişen bu tümör, terminal bronşiyol epitelinden köken alır. Tümör, histopatolojik olarak çoğu kez kompleks heterojen bir yapıya sahiptir.

Bu yapı, lepidik, papiller, asiner, mikropapiller ve solid paternlerin bir ya da birkaçından oluşur. En yaygın görülen patern ise “predominant” paternidir. Tümörde, solid ya da mikropapiller paternlerin ağırlıkta olması, sağkalımı olumsuz etkiler (17).

2.1.3.4.Büyük Hücreli Karsinom Histopatolojisi

Morfolojik olarak skuamöz ya da glandüler ayrımlaşma göstermeyen, iri, poligonal nükleuslu, belirgin nükleoluslu hücrelerden oluşan tümördür. Sigara ile ilişkili heterojen klinikopatolojik bir antitedir.

2.1.3.5.Adenoskuamöz Karsinom Histopatolojisi

Bu tip tümörde skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinom birlikte görülür. Adenoskuamöz demek için her bir tipin en az %10 oranında görülmesi gereklidir. Genellikle periferik yerleşir ve santral skar içerir.

Düşük dereceli mukoepidermoid karsinomdan mukoid, skuamöz ve intermedier hücrelerin görülmesi ile ayrılabilir. Yüksek dereceli tümörlerde in situ karsinom varlığı yardımcı olabilir ancak ayırım her zaman mümkün değildir.

2.1.3.6.Sarkomatoid Karsinom Histopatolojisi

Bu Sarkom veya sarkoma benzer (iğsi ve/veya dev hücreli) diferansiyasyon gösteren az diferansiye küçük hücreli dışı karsinomlardır. Bu grupta pleomorfik karsinom, iğsi hücreli karsinom, dev hücreli karsinom, karsinosarkom ve pulmoner blastom yer almaktadır.

Bu grup tümörler, akciğer tümörleri arasında %0.3-1.3 oranında görülürler. Ortalama 60 yaş civarında, erkeklerde daha sıktır. Santral veya periferik olabilir. Mukoid, nekrotik olabilir, göğüs duvarını invaze edebilirler. Endobronşiyal yerleşimli olabilir.

Adeno, skuamöz hücreli ya da dev hücreli olanlarda “pleomorfik karsinom” demek için iğsi veya dev hücreli alanların oranının en az %10 olması gereklidir.

2.1.3.7.Karsinoid Tümör Histopatolojisi

Bu Sarkom veya sarkoma benzer (iğsi ve / veya dev hücreli) diferansiyasyon gösteren az diferansiye küçük hücreli dışı karsinomlardır. Ender görülen akciğer tümörleridir.

Rezeksiyon uygulanan akciğer tümörlerinin %0,4 -%3'ünü oluşturur.Benign veya malign olup olmadıkları konusunda uzun yıllar süregelen belirsizlik, bu tümörlerin karsinoid olarak adlandırılmalarına neden olmuştur.

Karsinoid tümörler malign potansiyelde tümörlerdir. Bronş Kulchitzky hücrelerinden köken alan nöroendokrin tümörler olarak sınıflandırılır.

Dünya sağlık örgütü (WHO), patolojik özelliklerine (mitotik aktivite, nekrozis, yapısal bozulma) göre bu tümörleri tipik karsinoid ve atipik karsinoid olarak ayırmıştır.

Tipik karsinoidlerin %71'i santral yerleşimli iken atipik karsinoidlerin %50'si santral yerleşimlidir. Tipik Karsinoidler için cerrahi tedavi ile elde edilen 5 ve 10 yıllık sağ kalım oranları %90' ların üzerindedir. Atipik karsinoidlerde sağkalım oranı daha kötüdür.

2.1.3.8.Mezotelyoma Histopatolojisi

Malign plevral mezotelyoma (MPM)'lı hastaların yaklaşık %80'inde etyolojide asbest teması rol oynar. Lifsi yapıda ve sert karakterde olan asbest lifleri inhalasyon yolu ile alındıklarında akciğer parankimini geçerek plevraya kadar ilerlemektedir. Burada mezotel hücrelerinde oksidatif stresi artırarak, bir yandan hücre düzeyinde inflamasyon, apoptozis, histon asetilasyonu ve DNA metilasyonunda değişikliklere neden olurken, diğer yandan hücrede bir takım zararlı mutasyonlar ile mezotelyoma gelişimine yol açmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflamasında epitelioid mezotelyoma epitelyal, sarkomatoid mezotelyoma fibröz, bifazik mezotelyoma mikst, desmoplazik mezotelyoma ise sarkomatoid mezotelyomanın varyantı olarak değerlendirilmiştir.

2.1.4.Moleküler Biyoloji ve Karsinogenezis

Tüm kanserlerin %13,4' ünü akciğer kanseri oluşturmakla birlikte, tüm kanser ölümlerinin %28,4' ünden akciğer kanseri sorumludur. Akciğer dışı kanserlerde 5 yıllık sağkalım %52 iken, akciğer kanserinde %14 olup artan tedavi yöntemlerine rağmen mortalite daha da artmıştır (18).

Son yıllarda akciğer kanserinde moleküler biyolojik gelişmeler, bazı hasta gruplarında adjuvan tedavi, konvansiyonel sitotoksik kemoterapi, özel ajanlarla hedefe yönelik tedavileri yönlendirmektedir.

Karsinogenezisteki bulgular, onkogenlerin mutasyonel aktivasyonu, tümör baskılayıcı genlerin inaktive olması, hücre siklus regülasyonunda görev alan

genlerdeki değişiklikler, DNA onarımında görev alan genler ile büyüme faktörleri ve reseptörlerine ilişkin değişiklikleri kapsamaktadır.

Sigara içenlerin %10-20' sinde akciğer kanseri gelişiminde genetik yatkınlık görülmektedir (19). Akciğer kanserli hastaların hem sigara içen hemde içmeyen akrabalarında akciğer kanseri riski 2-4 kat artmıştır.

Artmış ailesel riskin; yaş, cinsiyet, mesleksen maruziyet ve sigara içiciliğinden bağımsız olduğu ve akciğer kanserine predispozisyon yaratan nadir bir otozomal genin mendelyen kalıtım ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (20).

Son yıllarda akciğer kanseri moleküler biyolojisinde ortaya çıkan gelişmelerle, belirli hasta gruplarında adjuvan tedavi, konvansiyonel sitotoksik kemoterapi veya yeni gelişmekte olan özel hedeflenmiş ajanların tedavide kullanımları gündeme gelmiştir.

Karsinogenezis çok basamaklı bir süreçte değişik karsinojenlerin etkisiyle oluşan genetik ve epigenetik hasarlanmalarla gerçekleşir. Kanserlerde oluşan genetik değişiklikler, kromozomal düzeyde, nükleotid düzeyinde veya DNA promotor bölge metilasyonu ile oluşabilir.

Kanser hücresinin büyüme ve çoğalma sürecinde meydana gelen genetik değişiklikler (onkogenler, tümör supresör genler), konakçı faktörleri (enzim polimorfizmi) ve tümör konakçı etkileşimi (angiogenez, invazyon, metastaz) sonucunda tümöral kitle oluşur (21). DNA tamiri, hücre büyümesi, sinyal iletimi ve hücre siklus kontrolü ile ilişkili genlerde akciğer karsinogenezisin değişik aşamalarında hasar görülebilir.

Akciğer karsinogenezisinde majör genetik olaylar; onkogenlerin mutasyonel aktivasyonu, tümör supresör genlerin inaktivasyonu, hücre siklus regülasyonunda görev alan genlerde ortaya çıkan değişiklikler, DNA tamirinde

görev alan genlerde ortaya çıkan değişiklikler ve büyüme faktörleri ve reseptörlerine ilişkin değişiklikler olarak sıralanmaktadır.

2.1.4.1.Onkogenlerin aktivasyonu

Onkogenler, protoonkogen denen normal hücre genlerinden gelişir. Protoonkogenlerin kodlanmış protein ürünleri genel olarak hücre sinyalizasyonu ve hücre büyümesinin regülasyonunda önemli rol oynar. Bu genler mutasyon, kromozomal translokasyon, amplifikasyon veya transkripsiyonel disregülasyon ile aktive olarak anormal protein sentezine neden olur.

Aktive olan protoonkogenlere onkogen, protein ürünlerine ise onkoprotein denir. Protoonkogenler, hücre içi sinyal iletilicileri, nükleer transkripsiyon faktörleri, hücre siklusunu kontrol eden proteinler, büyüme faktörleri, hormonlar ve reseptörleri olmak üzere gruplara ayrılır.

2.1.4.1.1.Ras Ailesi

Ras proteinleri, hücre membranında bulunan Guanozin trifosfataz (GTPase) aktivitesine sahiptir. Hücre membranından nükleusa sinyal transdüksiyonunda ve hücre büyümesinde rol oynar (22).

Ras geni, nokta mutasyon ile kanser gelişimine neden olmaktadır. Ras proteininin normal hücredeki görevi, uyarıcı sinyallerin olduğu durumlarda Guanozin trifosfat (GTP)'a bağlanıp aktif hale geçerek, uyarıcı sinyalleri nükleusa iletmek; bu sınırlı sinyal iletimi sona erdiğinde de GTP molekülünün GTPase enzimi aracılığıyla hidrolize olması sonucu Guanozin difosfat (GDP) proteinine bağlı inaktif formunu oluşturup, istirahat fazına dönmesini sağlamak ve bir sonraki uyarıyı beklemektir.

Mutant Ras proteini GTPase aktivitesini inhibe ettiğinden, gen ürünleri kontrolsüz olarak üretilir. En sık K-ras mutasyonu görülmekte olup en sık 12.kodonda görülür. K-ras aktivasyonu, KHDAK'lerinin % 15-50'inde görülür.

Adeno ve büyük hücreli kanserlerin % 30 - 60' ında, yassı hücreli kanserlerin daha az bir oranında rastlanır.

K-ras mutasyonu görülenlerde sağkalımda azalma, erken relaps ve kötü prognoz görülür. K-ras mutasyonu sigara içimi ile ilişkilidir. Sigara içen akciğer kanserli olgularda hiç içmemiş olanlara göre K-ras mutasyonu daha sık görülür (23).

2.1.4.1.2.Myc Ailesi

Myc genleri, DNA' ya bağlanan üç nükleer fosfoproteini kodlar. Bu proteinler hücre proliferasyon ve diferansiyasyonunda etkilidir. DNA sentezinin başlamasında rol alır. Bu gen sıklıkla amplifikasyon ve transkripsiyonal disregülasyon ile onkogen halini alır. KHAK' lerinin % 18 - 31, KHDAK' lerinin ise % 8 - 20' sinde myc aktivasyonu izlenir (22).

2.1.4.1.3.Hücre içi sinyal ileticileri ve nükleer transkripsiyon faktörleri

Bu grupta c-erb B1, c-erb B2, c-fms, c-met, c-src, c-raf 1, c-fos ve c-jun yer almaktadır. Bunlar çeşitli büyüme faktörü ve reseptörlerini kodlarlar. Bazı akciğer kanseri türlerinde ekspresyonları artmıştır.

c-erb B1; Membran glikoproteini olup, tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. Sinyal transdüksiyonunda önemli role sahiptir.Özellikle yassı hücreli kanserlerde artmış ekspresyonu görülür. EGF (Epidermal growth faktör) reseptörünü kodlamaktadır.

c-erb B2; Transmembran büyüme faktör reseptörü olarak görev yapan P185 neu proteinini kodlamaktadır. Bu proteinin hem yassı hücreli hemde adenokanserlerde artmış ekspresyonu görülmektedir. P185 proteininin artmış ekspresyonu adenokanserlerde kötü prognozün göstergesidir. Akciğer kanserinin %30-64' ünde görülmekte olup kemorezistans ve yüksek metastatik potansiyel ile ilişkilidir (24).

c-fms; CSF 1 (Koloni stimüle edici faktör 1) için bir protein kodlamaktadır. Küçük hücreli akciğer kanserinde artmış ekspresyonu görülür.

c-met; HGF (Hepatosit growth faktör) reseptörünü kodlamaktadır. KHAK'lerinin çoğunda, KHDAK (Küçük hücre dışı akciğer kanseri) 'lerinde ise yarısında c-met ekspresyonu, özellikle adenokanser ve yassı hücreli kanserlerde görülmektedir (24).

c-src; KHAK' de, adenokanserlerin %60' ında ve kötü diferansiye yassı hücreli akciğer kanserlerinin bir kısmında c-src tespit edilmiştir. pp60c – src N tirozin kinazları kodlayan protoonkogenlerdir.

c-raf 1; Hücre dışındaki reseptörlerden nükleusa sinyal transdüksiyonunu sağlayan serin treonin kinaz aktivitesine sahip bir protoonkogendir. KHAK'lerinin %80' inde c-raf 1 delesyonu görülmektedir (24).

c-fos ve c-jun; Protein sentezi olmaksızın mutajenik uyarılarla aktive olurlar. Erken transkripsiyon faktörleri olup lösinden zengin proteini kodlarlar. Lösün, bu proteinlerin fos-jun kompleksi ile birleşmesini sağlar. Bu kompleks AP-1 olarak adlandırılır ve DNA aktivasyonu için yüksek afiniteli bir bağlanma yeri oluşturur. Akciğer kanserindeki yeri tam olarak bilinmemektedir.

2.1.4.2.Tümör Supressör Genler

2.1.4.2.1.p53 Tümör Supressör Geni

İnsan kanserlerinde en sık görülen mutant gen olup, 17p13 lokusunda yerleşmiştir. KHAK'lerinin %90' ında, yassı hücreli kanserlerin %65' inde, büyük hücreli kanserlerin %60' ında, adenokanserlerin %33' ünde ve tüm kanserlerin %50' sinde gösterilmiştir (25).

P53 proteininin hücre fonksiyonlarındaki rolü; gen transkripsiyonu, DNA sentez ve tamiri, genetik stabilitenin korunması, hücre siklusunun arresti, büyümeyi sonlandırma ve programlı hücre ölümüdür.

DNA hasarı veya hipoksemi p53 üretimini uyarır. P53 gen fonksiyon kaybı sonucunda hücre büyümesinin kontrolü ortadan kalkar ve DNA tamiri yapılmaksızın hücre siklusu kontrolsüz olarak çoğalır. 157,248 ve 278.kodonlarda meydana gelen mutasyonlar akciğer kanseri açısından önem taşır.

Akciğer kanserinin bu bölgelerde en sık görülen mutasyon tipi, GCÆTA transversiyonudur. DNA hasarı ekzojen ajanlarla oluşturulduğunda ise CpG bölgelerinde GCÆAT transisyon mutasyonları ortaya çıkar (26).

P53, DNA hasarına verilen yanıtı regüle eden bir transkripsiyon faktörü olarak görev yapar. DNA hasarı ile aktive olur ve bunun sonrasında bir dizi genin regülasyonuna neden olur. Bu genler; p21, MDM2, BAX ve GADD45' tir. Bu proteinler, G1/S hücre siklus geçişini, G2/M DNA harabiyet checkpoint (kontrol noktası) noktasını ve apoptozisi düzenlemeye yardımcı olurlar.

P53 fonksiyon kaybı sonucunda preneoplastik ve neoplastik hücreler klonal olarak gelişir. Normal bir hücrede DNA hasarı olduğunda, p53 geni genomik stabiliteyi sağlar ve hücre siklusunu G1' de inhibe eder. Böylece hücreye onarım için zaman kazandırır. Eğer hasar onarımı yapılamıyorsa hücre apoptozise uğratılır (27).

P53 mutasyonlarında hücre bölünmesi devam eder. P53 fonksiyon kayıpları genellikle alellik kayıplar ve somatik missense mutasyonlar şeklindedir. Bu mutasyonlar KHAK' lerinin %90' ında, KHDAK' lerinin de %50' sinden fazlasında görülür. Bu mutasyonlar sonucunda, hem tümör supresyon fonksiyonlarında kayıp hemde onkojenik fonksiyon kazanma şeklinde dual bir etki ortaya çıkar.

P53 gen mutasyonları karsinogenezisin erken basamaklarında görülür. K-Ras geninde belli bir noktada mutasyon olurken, p53 mutasyonları 17.kromozom üzerinde ve tüm gen boyunca oluşabilir. Mutant p53, karsinoma insitu evresinde gösterilmiştir.

Yapılan çalışmalarda klinik olarak akciğer kanseri tanısı konulmadan 1 yıl öncesinde alınan balgam örneklerinde p53 ve ras mutasyonlarının varlığı gösterilmiştir. Bu nedenle erken tanı alınmasında çok önem taşımaktadır (28).

Akciğer kanserindeki p53 mutasyonları sigara içilmesi ile ilişki göstermektedir. Sigara dumanı maruziyeti, p53 geni mutasyonu görülme riskini artırır. Mutasyonların çoğu, sigara dumanındaki karsinojenlerin oluşturduğu GCÆTA transversiyonudur.

2.1.4.2.2.Retinoblastom Geni

Retinoblastom geni, ilk bulunan tümör supressör gen olup 13q14' de lokalizedir. RB proteininin yokluğu, KHAK' lerinin hemen tamamında görülmekteyken, KHDAK' lerinin %10-30' unda görülmektedir (28).

Bu gen, hücresel diferansiyasyonda çok önemli role sahiptir. Nonsens mutasyonlar, delesyonlar, azalmış RNA ekspresyonu veya aberran protein yapımı ile inaktive olabilir.

Normalde RB ailesi hücre siklusunu G1 fazında inhibe eder. P16-siklin D1/CDK4-6-RB yolu, hücre siklusunun G1' den S transisyonunda önemli göreve sahiptir. Bu yoldaki proteinlerin fonksiyon bozukluğu mitojenik aktivite ile sonuçlanır. Bu yoldaki proteinlerden biri olan p16, kromozom 9p21' de lokalize olup, genellikle akciğer kanserinde allelik kaybı veya mutasyona uğrar.

KHDAK' lerinin %10-40' ında homozigot delesyonlar ve nokta mutasyonlar saptanmaktadır. P16' yı inhibe eden mir diğer mekanizma da promotor bölgenin

hipermetilasyonudur. Bu yolun diğerk bir proteini olan p19 ise p53/MDM2 kompleksi ile bağlanır ve p53 degradasyonunu önler.

Her iki proteininde tümör büyümesinde önemli roller üstlendikleri düşünülmektedir. Bir diğerk CDK inhibitörü de p27 olup, p27 ekspresyonunda azalma KHDAK' lerinde kötü prognoz ile ilişkilidir (29).

RB gen inaktivasyonu özellikle retinoblastoma ve osteosarkom tümör hücrelerinde gösterilmiştir. Mutasyon ve delesyonlara bağlı olarak inaktive oldukları diğerk maligniteler arasında özefagus ve meme kanserleri sayılabilir.

2.1.4.2.3.Kromozom 3p Kaybı

Kromozom 1p,1q,2q,3p,4p,4q,5q,6p,6q,8p,8q,11p,11q,14q,17q,18q ve 22q tümör supresör genlerinin lokalize olduğu bölgelerdir. Bu bölgelerdeki hemizigot delesyonlar ile tümör supresör genleri azalmış olur. Akciğerk kanserinde sık görülen kırılma noktaları; 1p,3p,9p ve 17p' dir.

Tümör hücre kültürlerinde ve KHAK' de en sık görülen mutasyon şekli kromozom 3' ün her iki kısa kolunda meydana gelen kayıplardır (30). 3p ve 9p kayıpları erken dönemde oluşurken; 2q,18q ve 22q kayıpları geç dönemde görülür.

Yassı hücreli kanserlerde 4q,9q,21q lokalizasyonundaki kayıplar sıktır (31). Sigara içen ve içmeyenlerde 1q21,3p14,7q32 ve 11q13 lokuslarında sıklıkla anomaliler izlenmesi, bu bölgenin kalıtsal olarak fragil olduğunu göstermektedir (32).

Fragil histidin triad geni (FHIT), 3p.14.2 lokalizasyonunda bulunur. Akciğerk kanserinde bu bölgenin hemizigot veya bazen homozigot olarak delesyona uğradığı gösterilmiştir. FHIT gen anomalileri KHAK' lerinin %80' inde, KHDAK' lerinin ise %42' sinde gösterilmiştir (33).FHIT allel kaybının sigara içilmesi ve kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir.

3p delesyonu, karsinogenezisin erken basamaklarında gerçekleştiği düşünülür, çünkü sigara içen kişilerde gelişen displazik lezyonlarda da görülmektedir. Bu değişiklik KHAK' lerinin %100' ünde, KHDAK' lerinin %50' sinde görülür.

3p delesyonunda hücre siklus regülasyonu bozulur. 3p bölgesinde bulunan bir gen, ubiquitin aktive edici enzim ile homologdur. Ubiquitin, aktive edici enzim ile fosforile olduktan sonra, CCND1 degradasyonu ile hücre siklus regülasyonunda görev alır.

Tütüne bağlı gelişen kanserlerde hücre siklus kontrolünün kaybı, CCND1 gen amplifikasyonu ve/veya ubiquitin aktive edici enzim delesyonu mekanizmaları ile açıklanabilir (32).

3p21.3 bölgesinde yer alan bir başka tümör supresör gen ise RASSF1 olup, KHDAK' lerinin %30' unda ve KHAK' lerinin %90' ından fazlasında promotor bölge hipermetilasyona uğrar. Bu hipermetilasyon ise kötü prognoz ile ilişkilidir. RARB2 ise KHDAK ve KHAK' lerinin %60-70' inde hipermetilasyona uğrar (29).

2.1.4.2.4. Diğer bölgelerdeki tümör supressör genler

10q23 bölgesinde bulunan bir diğer tümör supresör geni ise PTEN genidir. Bu gen bir fosfataz kodlar ve bu enzim tümör büyümesinde rol alan protein kinazları antagonize ederek görev yapar (29).

10q bölgesinde bir diğer tümör supresör gen DBMT1' dir. Bunun homozigot delesyonları akciğer kanseri hücre dizilerinde gösterilmiştir.

11.kromozom üzerindeki PPP2RIB' nin de tümör supresör gen fonksiyonu olabileceği düşünülmektedir (29).

2.1.4.3.Akciğer Kanserinde Hücre Siklus Kontrolü

2.1.4.3.1.Hücre proliferasyonunun kontrolü

Ökaryotik hücre siklusu G1,S,G2 ve M fazlarından oluşmaktadır. Kromozomal replikasyon ve mitojenik ayrılma S ve M fazlarında meydana gelir. Bu fazlarda gelişen olaylar ise bu fazlardan önce gelen G1 ve G2 fazlarında regüle edilir. Hücre büyümesi G1 fazında hücre siklus transiti restriksiyon noktası (R) tarafından koordine edilir.

Hücre siklus transiti için, hücrenin belli bir kütleye ulaşması gerekir. Hücreler R noktasında büyüme faktörlerine ve büyüme uyarılarına duyarlıdır. R noktasını geçen hücreler, kromozomal replikasyon ve kromozomal ayrılma emri alırlar. Karsinogenezis sırasında R noktasındaki değişiklikler, kontrolsüz hücre proliferasyonu ile sonuçlanır (34).

2.1.4.3.2.Checkpoint (Kontrol noktası) Kontrolü

Hücre siklusunda belli önemli olayların geçtiği noktalara checkpoint (kontrol noktası) denir. Kontrol noktalarında meydana gelen değişiklikler, mutant hücre proliferasyonu ile maligniteye dönüşmesine neden olur.

Sağlıklı hücrelerde DNA hasarı, DNA replikasyonu olmadan önce G1 fazında onarılır. DNA hasarı olan hücrelerin S fazına geçişi p53 bağımlı bir olay ile inhibe edilir. Eğer hasar onarılmaz ise hücre apoptozise uğrar.

Eğer p53 hatalı ise hücrelerde mutasyonlar ortaya çıkarak malignite gelişimine neden olur. Kontrol noktaları S fazındaki DNA replikasyonunu ve mitoz sırasındaki kromozom ayrılmalarını regüle ederler. Eğer bu işlemler esnasında hata meydana gelirse hücre siklus progresyonu bloke edilir (34).

2.1.4.3.3. Protein fosforilasyonu ile hücre siklusunun kontrolü

Hücre siklus regülasyonunda 3 önemli intrasellüler protein ailesi tanımlanmıştır. Bunlar siklin bağımlı protein kinazlar, siklinler ve siklin bağımlı kinaz inhibe edici proteinlerdir (35).

Siklin bağımlı protein kinazlar (CDK); Fosfat donörü olarak ATP kullanıp protein fosforilasyonu yapan enzimlerdir. CDK ailesi hücre siklusunda önemli rol oynar ve posttranslasyonel olarak regüle edilir. Kinaz üniteleri hücre siklusunda sırasında siklinlere bağlanarak aktive olurlar. 7 çeşit CDK tanımlanmıştır.

CDK 1 M fazına girişte, CDK 2 S fazına girişte, CDK 4 ve 6 G1' de R noktasında, CDK 7 diplo CDK' ları fosforile eder (34).

Siklinler; Hücre siklusunu kontrol regülasyonunda, bu siklin proteinlerinin belirli evrelerdeki sentezi rol oynar. Siklin D ve siklin E G1 fazında, siklin A S fazında, siklin B G2 ve M fazında sentezlenir. Siklin proteinlerinin düzenli yıkımı da kontrol mekanizmasına katkıda bulunur. Ortamda siklin olduğunda CDK ile kompleks oluşturabilir. Aktive olan CDK, siklusta bir sonraki faza geçişi için gereken gen ürünlerini fosforile eder. Siklin A,E ve B CDK 2 ile birleşerek DNA replikasyonunu kontrol eder (35).

Siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CKI); Bu proteinler; CDK' nın diğer CDK subünitelerine bağlanmasını, CDK-siklin kompleksi oluşumunu ve DNA replikasyonunu inhibe eder. Bazı durumlarda kontrolsüz CDK aktivitesinin onkogenik olduğu düşünülürse, CKI' lerinin tümör supresör fonksiyonları olduğu ileri sürülmektedir (35).

P15 ve p16 gen delesyonları KHDAK' inde sık görülür. Bu bölgeler CDK 4 inhibitörlerini kodlar. CDK 4 hücre siklusunda G1' de checkpoint oluşturur. Bu fonksiyonun kaybı kontrolsüz hücre proliferasyonu ile sonuçlanır (31).

2.1.4.4.DNA tamirinde görev alan genlerde ortaya çıkan değişiklikler

İnsanlarda görülen kanserlerin %80 nedeni çevresel faktörlerdir. Gerek endojen gerekse ekzojen karsinojenler ve genotoksik olaylara maruziyet, hücre siklusunda yavaşlamaya neden olur.

Normal koşullarda bu yavaşlama sürecinde hücreler DNA hasarını onarmaya çalışırlar. Onarılmamış DNA hasarı, apoptozisin aktivasyon veya inhibisyonunda görev alan protoonkogen ve tümör supresör genlerde mutasyona neden olur. DNA onarımı normal hücre siklusunun devamı için elzemdir.

Benzo[a]pyren sigara dumanında bulunan ve DNA hasarına neden olan bir karsinojendir. Sitokrom p450 ve peroksidazlar ile biyoaktivasyonu sonucu yüksek toksisiteye sahip elektrofilik ve reaktif serbest radikal ürünleri oluşur. Bu ürünler DNA ile birleşerek DNA addüktlerini oluştururlar.

Sonuç olarak tek bir DNA lezyonun onarılmamış olması bile bir genin transkripsiyonunu engelleyebilir. Tütünün içerdiği karsinojenlerin doğrudan DNA hasarı yapması nedeniyle DNA onarım kapasitesinin azalması tütüne bağlı kanser gelişiminde önemli rol oynar.

Tütün hasarına bağlı DNA onarım kapasitesi, kişiden kişiye farklılık göstermektedir. DNA hasarı onarımında görev alan genler, kromozom 3p üzerinde lokalizedir. Kromozom 3p kayıpları akciğer kanser gelişimini 14 kat arttırmaktadır. Diğer DNA onarım genleri (ERCC1, XPO, XRCC3 ve XRCC1) ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (29).

2.1.4.4.1.Spesifik gen değişiklikleri

Gen amplifikasyonu, normal dokuda sadece iki allel bulunurken, tümör dokusunda aynı kromozom parçasının multibl kopyalarının oluşmasıdır. Baş boyun kanserleri, akciğer, mesane ve özefagus kanserlerinde 11q13 lokusunda amplifikasyonlar gösterilmiştir.

Bu bölgede bulunan pek çok genin amplifiye olduğu ancak aşırı ekspresyonunun hücre siklusunu düzenleyen cyclin D1 (CCND1 veya PRAD1) ile kontrol edildiği gösterilmiştir.

Bu protein, G1 fazı için pozitif bir regülatuar olarak rol alır ve bu proteinin bir tümör hücresinde aşırı ekspresyonu DNA transkripsiyonunu, hücre bölünmesini ve tümör proliferasyonunu artırır (36).

2.1.4.4.2.Retinoik asit reseptör yolundaki değişiklikler

Retinoik asit akciğer kanserini önleyici tedavide en çok adı geçen ajanlardan birisidir. Hücre içi retinoidler, retinoik asit reseptörleri (RARs) ve retinoid X reseptörleri (RXRs) aracılığıyla aktivite gösterirler.

Bu reseptörlerdeki sinyal ileti sorunları akciğer kanserinde gösterilmiştir. RARs kromozom 3p' de bulunur ve tümör supresör gen gibi fonksiyon görür. Bu lokustaki allelik kayıplar KHDAK' lerinin %60' ında görülmektedir (28).

2.1.4.4.3.Telomeraz aktivitesi

İnsan telomerleri kromozomların uçlarında yerleşmiş TTAGGG dizi tekrarlarından oluşan spesifik proteinlerdir. Normal bir hücre bölünmesinde telomeraz yoktur ve bu sayede telomerler hızla kısalır ve sonuçta hücre ölümü gerçekleşir. Bu mekanizma hücre ömrünü belirlemektedir.

Ancak kanser hücresinde telomeraz aktivitesi nedeniyle kısalan telomerlerin hemen hakzamerik yapılarla tamamlandığı görülür ve hücre ölümsüzleşir.

Tüm KHAK' lerinde ve KHDAK' lerinin %80-90' ında artmış telomeraz aktivitesi mevcuttur (22). Bu durum hücre proliferasyon hızında artış ve ileri evre hastalık ile ilişkilidir. Ancak karsinoma in situ fazında da telomeraz aktivitesine rastlanmaktadır (22).

2.1.4.4.Apoptozis Genleri

Tümör hücrelerini apoptozis (programlı hücre ölümü)' den koruyan başlıca onkoprotein Bcl-2' dir. Bcl-2 ekspresyonu KHAK' lerinin %70-90' ında gösterilmiş ve kemosenitivite ve uzun süreli sağkalım ile ilişkisi ortaya konulmuştur (22).

2.1.4.5.Büyüme faktörleri ve reseptörleri

Kanser hücrelerinin ürettikleri hormonlar ile hücre yüzeyinde bulunan reseptörlerinin etkileşmesi sonucu hücrenin büyümesi otokrin stimüle edilir (37).

Neoplastik hücrelerden salgılanan büyüme faktörleri hücrelerin çoğalmasına katkı sağlamaktadır. Pekçok büyüme faktörü akciğerde kanser hücreleri ve normal hücrelerden salgılanmaktadır. Bu büyüme faktörleri otokrin, parakrin ve jukstakrin yollarla kanser büyümesinde etki göstermektedir (38).

Eğer bir tümör hücresi hem bir büyüme faktörü hemde reseptörünü taşıyorsa, kendisini uyaran otokrin büyüme halkasına sahip demektir. Otokrin hücreler normal hücrelerde de bulunur ancak sadece fizyolojik uyarılara cevap verirler.

Dengeli büyüme için karşılıklı düzenleyici sistemler bir arada bulunur. Kanser hücrelerinde bu dengeler bozulmuştur. Ancak tek bir büyüme faktörü kanser gelişimini regüle edemez.

Metastaz ve invazyonunda büyüme faktörleri ve reseptörlerinin etkileşimi sonucunda ortaya çıktığı kabul edilir (38). KHDAK' leri K-ras, EGFR ve ligandları ile aktive olurken, KHAK nöropeptidler ve reseptörleri ile aktive olur (39).

2.1.4.5.1.Epidermal Growth Faktör (EGF), Transforming Growth Faktör-a (TGF-a) ve EGF Reseptörü (EGFR)

EGF ve TGF-a, hücre proliferasyon ve differansiyasyonunu uyaran mitojenik etkileri gösterilmiş olan peptidlerdir. EGF, yüzey reseptörü aracılığıyla etki göstermektedir.

EGFR, tirozin kinaz aktivitesine sahip bir transmembran glikoproteindir. Tirozin kinazlar normal hücre büyümesi ve malign transformasyon ile ilişkili proteinlerdir.

Aberran EGFR sinyalizasyonu ve EGFR regülasyon bozukluğunun tümör gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (40). EGFR' nin apoptozis inhibisyonu, hücre motilitesinde artışı, protein sekresyonunda artışı, adezyon, invazyon, hücre yaşam süresinde artışı, diferansiyasyon, anjiyogenez ve metastaz gelişimi gibi pek çok olayda önemli rol aldığı gösterilmiştir (41).

Yüksek düzeyde EGFR ekspresyonu ileri evre hastalık, metastatik fenotip gelişimi, sağkalımda azalma ve kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur (42). KHDAK' lerinin %13-80' inde EGFR aşırı ekspresyonu saptanmıştır. KHDAK' li olgularda immunohistokimyasal metotla EGFR ekspresyon sıklığının değerlendirildiği bir çalışmada KHDAK' li olguların %58' inde, yassı hücreli akciğer kanserli olguların %64,9' unda EGFR aşırı ekspresyonu saptanmıştır (43).

2.1.4.5.2.Transforming Growth Faktör-s1 (TGF-s1)

Hücre fonksiyonlarının regülasyonunda rol oynayan bir polipeptid olup normal epitelyal hücrelerin büyümesini inhibe eder (44). TGF- β peptidleri, hücre büyümesi, diferansiyasyonu, adezyon, migrasyon, anjiyogenez, ekstrasellüler matriks formasyonu ve immun fonksiyonları etkileyen multifonksiyonel polipeptitlerdir (44).

TGF- β in vitro olarak kanser hücre proliferasyonunu baskılar. Ancak in vivo olarak inhibitör etkinin baskılandığı ve kanser büyümesini arttırdığı gösterilmiştir (35). Ancak neoplastik hücreler inhibitör aktivitelere karşı direnç geliştirirler. Neoplastik hücrelerde TGF- β 1 ekspresyonu gösterilmiştir.

TGF- β 1' in anjiyogeneze, stromal formasyonda ve immun fonksiyonlarda rolü olup, tümör progresyonuna etkisi olduğu gösterilmiştir. TGF- β 1, anjiyogenezi stimüle eder, immun fonksiyonları baskılar, adezyon molekül ekspresyonu ve ekstrasellüler matriks komponentini arttırarak metastatik potansiyeli arttırır (45).

İnsan hücrelerinde TGF- β 1, 3 izoform arasında predominant olanıdır. TGF- β 1-3 ekspresyonu olan hastalarda sağkalımın daha kötü olduğu gösterilmiştir (46). Özellikle adeno kanserli olgularda TGF- β 1 ekspresyonunun sağkalımda azalma ve kötü prognoz ile ilişkisi gösterilmiştir (47).

2.1.4.5.3.Hepatosit Growth Faktor (HGF)

Plazmada bulunan ve trombositlerden sentezlenen HGF, esas olarak karaciğer rejenerasyonunda rol oynar. HGF, endotel hücreleri ve melanositler için mitojenik etki gösterir ve endotel hücrelerinde tübül oluşumunu uyarır. Epitel hücre proliferasyonu, migrasyon ve differansiasyonunda rol oynar.

HGF, normal akciğerde çok düşük düzeyde eksprese edilir. Yaralanma sırasında HGF ekspresyonu artar. Embriyonel akciğerde tomurcuklanma ve dallanmayı uyarır. KHAK ve KHDAK' lerinde HGF ekspresyonu artmıştır. KHDAK' lerinde yüksek HGF düzeyi kötü prognoz göstergesidir (48).

2.1.4.5.4.Fibroblast Büyüme Faktörü

Mezenkimal, nöronal ve epitelyal hücreler üzerine mitojenik etki gösterir. Tümör anjiyogenezi uyarır.

2.1.4.5.5.Stem Cell Faktör (SCF/c-kit)

SCF çeşitli sitokinler ile birlikte myeloid ve lenfoid öncü hücrelerinin proliferasyonunu artırır. SCF/KIT otokrin halkası KHAK' lerinde büyümeyi ve kemoterapiye duyarlılığı sağlamakta rolü olabileceği düşünülmektedir.

2.1.4.5.6.Nikotin ve Opioid Reseptörleri

Akciğer kanseri hücrelerinde nikotin ve opioid reseptör ekspresyonu mevcuttur. Opioidler, kanser hücrelerini baskılar ve apoptozisi uyarır. Nikotin reseptörleri ise opioidlerin apoptotik etkilerini antagonize eder (38). Nikotin-opioid etkileşimi akciğer kanserinin %75' inde gösterilmiştir (49).

2.1.4.5.7.Matriks Metallo Proteinazlar (MMP)

Bronşial in situ karsinomdan invaziv ve metastatik akciğer kanserine progresyon, bazal membranın yıkımı, çevre dokulara invazyon, lenf ve kan damarlarına intravazasyon, damar dışına ekstravazasyon ve sekonder bir dokunun invazyonu sonucunda oluşur.

Tümörün yayılımı için çeşitli derecelerde doku yıkımı gereklidir. Ekstrasellüler matriksin degradasyonu ve bazal membrana penetrasyonu tümörün invazyonu ve metastatik yayılımında önem taşır.

MMP ailesi, proteolitik enzimlerden oluşup, KHDAK gelişminde önemli bir role sahiptir. MMP-2 (Gelatinase A)' nin aşırı ekspresyonu KHDAK' lerinde kötü prognozu gösteren bağımsız risk faktörüdür (50).

MMP-9 bazal membrandaki tip 4 kollajeni parçalayan bir endopeptidazdır ve kötü prognozu gösteren bağımsız bir risk faktörüdür (51). Marimastat ve Batimastat gibi nonspesifik MMP inhibitörlerinin adjuvan tedavide yeri olabilir.

2.1.4.5.8. Vasküler Endotelial Growth Faktor (VEGF)

Tümörler neovaskülarizasyon olmaksızın en fazla 1-2 mm boyuta ulaşabilir. Tümörün büyümesi için yeni damar yapıları ile desteklenmesi gerekir (52). Yeni damar oluşumu endotel hücre proliferasyonunu ve migrasyonunu stimüle eden faktörler arasında ki dengeye bağlıdır. Bu mekanizmanın tetiklenmesi için tümör hücrelerinden büyüme faktörleri ve anjiyogenetik maddeler salınması gerekir.

Vasküler büyüme faktörleri olarak başlıca PD-ECGF, VEGF ve HGF tanımlanmıştır (52).

VEGF; endotelial hücre büyümesinde rolü olan anjiyogenetik faktördür. Vasküler permeabiliteyi artırır. Endotele spesifik mitojenik faktör olarak etki gösterir. Mutant p53 proteini ve mutan tras ekspresyonu VEGF ekspresyonunu artırır (53). VEGF' nin 121,165,189 ve 206 mRNA gibi çeşitli izoformları bulunmaktadır.

PD-ECGF; endotelial hücre proliferasyonunu uyaran faktördür. Özellikle karaciğer, dalak, akciğer ve lenf nodlarında PD-ECGF ekspresyonu yüksektir.

2.1.4.6. Viral Etkenler

Herpes simpleks virüs (HSV) ve Human papilloma virüs (HPV) sigaraya bağlı kanserle ilişkilidir. Bazı çalışmalarda baş boyun ve akciğer kanserlerinde düşük oranda HPV enfeksiyonu gösterilmiştir. HPV E6 proteini p53 degradasyonuna neden olurken, E7 proteini retinoblastom proteinine bağlanır.

Özet olarak akciğer kanser gelişiminde en çok suçlanan protoonkogen aktivasyonu ve tümör supresör gen inaktivasyonudur. En çok suçlanan onkogenler arasında Ras ve Myc ailesi yer alır.

Ras ailesi KHDAK' lerinde daha çok nokta mutasyonlar ile rol alırken, Myc ailesi KHAK' lerinde amplifikasyon ile rol oynar.

Büyüme faktörlerinden cERB1-2 özellikle KHDAK' lerinde, c-met, c-src, c-raf1 ise KHAK' lerinde rol oynamaktadır.

Tümör supresör genlerden p53 ve RB genlerine ilişkin değişikliklerde KHAK' lerinin %75-100' ünde ve KHDAK'lerinin de %15-50' sinde görülür. Ayrıca apoptozis, hücre siklusu ile ilişkili genlerde akciğer kanseri gelişiminde rol oynamaktadır.

2.1.5.Akciğer Kanseri Kliniği

Akciğer kanserinde tanı genellikle geç konulmaktadır. Bunun nedeni akciğerin anatomisinden kaynaklanmaktadır. Semptomlar ortaya çıkmadan, akciğerdeki bir nodül ileri derecede büyüyebilir ve akciğer dışına yayılabilir. Böylelikle hastalar yaygın hastalık döneminde görülürler ve bu hastaların % 80' i opere edilemez. Bu nedenle 5 yıllık mortalite oranları % 85- 90' lardadır.

Akciğer kanserli hastalarda çoğunlukla solunumsal ve yapısal semptomlar bir aradadır. Bunlar; primer tümörle ilgili semptomlar, metastaz düşündüren iştahsızlık, kilo kaybı ve yorgunluk gibi sistemik semptomlar ya da metastaz alanına spesifik semptomlar olabilir.

Asemptomatik hastalar için 5 yıllık sağkalım % 18 iken, primer tümöre ait semptomu olanlarda bu oran % 12'dir. Nonspesifik semptomları olanlarda 5 yıllık sağkalım oranı % 6 iken, metastaz bölgesi ile ilgili semptomu bulunanlarda 5 yıllık sağkalım söz konusu değildir. Hastayı doktora en kısa sürede götüren semptom olarak hemoptizi bildirilmektedir.

Primer tümör ile ilgili semptomlardan öksürük, akciğer kanserinin en sık görülen semptomudur. Diğer sık görülen solunumsal semptomlar ise nefes darlığı, göğüs ağrısı ve hemoptizidir. Bunların dışında kilo kaybı, kemik ağrıları, ateş, halsizlik, yutma güçlüğü gibi semptomlar da görülebilir (54).

Lokal büyüme ve intratorasik yayılıma ait bulgular, tümörün yeri ve büyüklüğüne bağlıdır. Santral tümörler, postobstrüktif pnömoniye yol açabilmektedir. Rekürren laringeal sinir tutulumu, ses kısıklığına, kanserin özofagusu yayılımı veya basısı ise yutma güçlüğüne neden olabilir. Tümörün vena kava superioru invaze etmesi ya da vena kavaya bası yapması vena kava superior sendromuna (VCSS) yol açabilmektedir.

VCSS, en sık KHAK'de, daha az epidermoid karsinomda görülebilir. Apikal bölgede görülen Pankoaast tümörü Horner sendromuna yol açabilir; en sık olarak epidermoid karsinomda bildirilmektedir.

Perikarda metastaz nedeni ile kardiyomegali, aritmi ve tamponad gelişebilmektedir. Frenik sinir invazyonunda hıçkırık ve diyafragma paralizi görülebilir.

Periferik tümörlerin en sık bulgusu plöretik göğüs ağrısıdır. Akciğer kanseri hastalarının % 15-50'sinde plevral effüzyon görülebilmektedir (55, 56). Akciğer kanseri tüm organlara metastaz yapabilmektedir.

Tanı konulduğunda KHAK'lerin % 60'ı, KHDAK'lerinin ise % 30-40'ı evre IV metastatik tümördür. Hastaların üçte birinde uzak metastazın sonucu olarak semptomlar görülür.

Hematojen yayılım en sık, merkezi sinir sistemi, kemik, karaciğer ve adrenal bezlere olmaktadır. Kemik metastazları genellikle osteolitik olmakla birlikte, adenokarsinomda osteoblastik tipte, asemptomatik veya ağrılı olabilmektedir. Karaciğer metastazında sağ üst kadranda hassasiyeti, bulantı, kilo kaybı ve anemi görülebilmektedir. Adrenal bezlerin tutulumu genellikle asemptomatiktir. Adrenal tutulum ve paraaortik lenf nodları tutulumu genellikle KHAK'de görülür. Merkezi sinir sistemi tutulumu ise asemptomatik olabileceği gibi baş ağrısı, bulantı, kusma, fokal nörolojik semptomlar, konvulziyon ve paralizye neden olabilmektedir (55,56).

Akciğer kanserlerinin % 7-15' inde paraneoplastik sendrom görülmektedir. Paraneoplastik sendromlar, tümörün ve metastazının olmadığı organlarda, kansere bağlı görülen belirti ve bulgulardır ve tam olarak açıklanamamış olmakla beraber bir kısmında tümörden salgılanan biyolojik aktif maddeler, bir kısmında ise tümör dokusuna cevaben normal dokulardan salınan maddeler sorumlu tutulmuştur. Sıklıkla endokrin, eklem ve nörolojik anormallikler görülür (54).

2.1.6.Akciğer Kanseri Tanı

2.1.6.1.Radyografi

Asemptomatik hastalarda anormal akciğer grafisi, akciğer kanseri varlığı açısından ilk ipucu olabilir. Hastaların % 40'ında santral tümör atelektazi ya da konsolidasyona yol açabilmektedir. Periferik tümörler, daha çok soliter pulmoner nodül şeklinde olup, kitle veya buzlu cam dansitesi de görülebilmektedir (57).

2.1.6.2. Balgam sitolojisi

Tümör boyutu ve lokalizasyonuna bağlı olarak uygun şekilde alınmış en az 3 örnekte doğru tanı saptanabilir. Balgamın kan içermesi, tümörün santral yerleşimli olması, epidermoid karsinom hücre tipi ve tümör boyutunun 2,4 cm'den büyük olması durumunda balgam sitolojisinin tanı olasılığının artacağı belirtilmektedir. Tanı duyarlılığı % 20-90 arasındadır.

2.1.6.3. Bronkoskopi

Bronkoskopi, akciğer kanserinin tanısında en önemli tanı yöntemlerinden biridir. Tanı olasılığı tümörün yerleşimi ve boyutu ile ilişkilidir. Santral lezyonu olan 4507 hastayı inceleyen 35 çalışmayı kapsayan bir meta-analizde tanı duyarlılığı % 88 olarak bulunmuştur. Görülebilen lezyonlara uygulanan forseps biyopsinin tek başına tanısal duyarlılığı % 74'tür. Lavaj ve fırçalamanın ise tanısal duyarlılığı daha düşüktür (% 48 ve % 59) (59).

2.1.6.4. Transtorasik iğne aspirasyonu (TTİA)

Periferal akciğer kanserlerinde TTİA, ultrasonografi, floroskopi veya bilgisayarlı tomografi (BT) eşliğinde kullanılabilir. Periferal lezyonlarda tanı duyarlılığı fiberoptik bronkoskopiye göre daha yüksektir. BT eşliğinde % 92, floroskopi eşliğinde ise % 88, ortalama % 90 tanı duyarlılığı mevcuttur (59).

2.1.6.5. Bilgisayarlı Tomografi

Bilgisayarlı toraks tomografisi akciğer kanserinin tanısı ve evrelemesinde kullanılan en yaygın görüntüleme yöntemidir. Mediasten lenf nodları, akciğer parankimi ve plevral aralık hakkında bilgi verir. Tek plan göğüs grafilerine göre akciğer parankiminde 10 mm'den küçük nodülleri saptama duyarlılığından dolayı çok daha üstündür. Mediasten lenf nodlarının ve nodüllerin kalsifikasyonunu saptamada belirgin farklılığı, BT'nin kullanımını rutin hale getiren özelliklerinden bazılarıdır (61,62,63). Gould ve arkadaşlarının (64), yaptığı metaanalizde, mediastinel malign lenf nodlarının tanınmasında BT'nin duyarlılığı % 61, özgüllüğü ise % 79 olarak belirtilmiştir.

2.1.6.6. Magnetik rezonans (MR)

Akciğer kanserinde, MR'ın mediasten değerlendirmesinde sağladığı bilgiler sınırlı olmakla birlikte, BT kadar iyi sonuçlar elde edildiğini belirten yayınlar da bulunmaktadır. Ancak akciğer kanserinin tanı ve evrelemesinde rutin olarak MR kullanımı önerilmemektedir. Superior sulkus tümörleri ile brakial pleksus invazyonu şüphesi varlığında kullanılabileceği belirtilmektedir. Ayrıca beyin metastazlarını göstermede de BT'ye göre daha üstündür (63).

2.1.6.7. Pozitron emisyon tomografisi (PET)

PET radyoaktif işaretli bileşikler veya radyoaktif maddelerin vücuda uygun yolla verilerek, incelenecek vücut alanında görüntülenmesi esasına dayanmaktadır. PET' in çeşitli hastalıklar hakkında anatomik bilgi sağlayan radyolojik görüntüleme yöntemlerinden en önemli farkı, fonksiyonel bir görüntüleme yöntemi olmasıdır.

Görüntüleme için kullanılacak madde siklotron adı verilen aygıtta üretilir. PET çalışmalarında % 90 Flor-18 (18F) işaretli bileşikler kullanılmaktadır. Kullanılabilecek diğer maddeler Oksijen-15, Azot-13, Karbon-11, Galyum-68, Rubidyum-82'dir (65).

Malign hücrelerde glukoz transportu ve metabolizması artmıştır. Bu kimyasal değişiklikler, bir glukoz analogu olan 18-Fluoro deoksi glukoz (FDG) verilerek, PET ile görüntülenebilmektedir. Artmış hekzokinaz aktivitesiyle fosforile edilen FDG, metabolize edilemez ve hücre içinde kalır. Hücre içindeki FDG-6-fosfat miktarı PET ile belirlenebilmektedir. Tümöral dokudaki FDG düzeyi, yüksek plazma glukoz düzeyinde azaldığından dolayı, en az 4 saat açlık ve 150-200 mg/dl altında plazma glukoz düzeyi mevcut olmalıdır. Bununla beraber mediastinal metastazlarda maksimum duyarlılık için en az 12 saat açlık önerilmektedir (65).

Tüberküloz, sarkoidoz, abse, romatoid nodül gibi inflamatuvar olaylarda ilgili bölgelerde, egzersizde kaslarda, karaciğerde heterojen şekilde az miktarda, strese bağlı gerginlik sırasında trapezius ve paraspinal kaslarda, osteodejeneratif eklem disk hastalıklarında, kemoterapi sonrası ilk bir ayda kemik iliğinde yaygın olarak, radyoterapi uygulama alanında erken dönemde, granülosit stimülasyonu sonrası dalakta ve kemik iliğinde artmış FDG tutulumu gözlenebilmektedir (66-68).

Bir lezyonun artmış FDG aktivitesine sahip olup olmadığını gösteren ve malign ya da benign ayrımını değerlendirmede kullanılan değer, standardize edilmiş uptake değeridir (Standardized Uptake Value, SUV). SUV değeri ile enjekte edilen FDG dozu, hasta ağırlığı veya vücut yüzey alanına göre standardize edilerek, farklı hastalardaki FDG düzeyi karşılaştırılabilir hale getirilir.

PET'in malign soliter pulmoner nodülün ayırıcı tanısındaki duyarlılığı, 2512 hastayı içeren bir meta-analiz sonucunda % 96 ve özgüllüğü % 80 olarak saptanmıştır (69,70). PET'in 8-10 mm çapındaki nodüller için duyarlılığı düşüktür (71). PET'in uzak metastazları saptamadaki duyarlılığı % 94 ve özgüllüğü % 97'dir (70). Bu şekilde uzak metastaz saptanıp evrelemesi değiştirilmiş ve tedavi değişikliği yapılan hastaların oranı % 40'tır (72). PET'in adrenal bezlerdeki metastazı gösterme duyarlılığının % 100'e yakın olduğu iddia edilmektedir. Yine kemik metastazlarını göstermedeki duyarlılığının sintigrafiden üstün olduğu ileri sürülmektedir (73, 74).

FDG PET ile kemoterapi ve radyoterapi tamamlandıktan sonra kalan canlı rezidüel tümör dokusunun gösterilmesi mümkündür. Bunun yanında erken dönemde tedaviye yanıt alınamamasının gösterilmesi, alternatif tedavi seçeneklerini değerlendirmek bakımından önemli olabilir. Tedavi sonrası FDG tutulumunun azalması parsiyel yanıtın, tutulumun normale gelmesi ise tam yanıtın ve iyi prognozun göstergesi olarak görülmektedir (75,76).

2.1.6.8. Mediastinoskopi

Mediastinoskopinin akciğer kanserindeki en önemli endikasyonu tanı koyma ve mediastinal lenf nodu biyopsisi ile evreleme yapmaktır. Porte ve arkadaşları (77) , akciğer kanserli hastalarda yaptıkları çalışmada mediastinoskopinin tanı duyarlılığını %95 ve özgüllüğünü %100 olarak bildirmişlerdir. Mediastinoskopinin yalancı negatiflik oranı ortalama %9'dur (% 4-16). Yalancı negatiflik paratrakeal alanda çok düşükken, subkarinal bölgede artmaktadır. Video yardımcı mediastinoskopi (VAM), hem direkt hem de monitör görüntüsü sağlayan yeni bir uygulamadır. Mediastinoskopide mortalite oranı % 0-0,08 arasındadır. Komplikasyon oranı %3' tür ve majör komplikasyonlar % 0,52' nin altındadır. En sık görülen komplikasyonlar; hemoraji, pnömotoraks, rekürren sinir paralizi, yara yeri enfeksiyonu, trakeal yaralanma, özofagus perforasyonu, mediastinit ve kardiyak değişikliklerdir (78, 79).

2.1.6.9. Video yardımcı torasik cerrahi (VATS)

Göğüs yan duvarı ve mediastinal yüzey dahil olmak üzere VATS ile tüm plevral boşluk direkt olarak izlenebilir ve değerlendirilebilir. Aynı zamanda pulmoner metastazlar, göğüs duvarının tümör tarafından invazyonu ve aynı taraf lenf nodu değerlendirilebilir. Şüpheli metastazlardan biyopsi alınmasına olanak tanır. VATS ile plevral metastazlar da değerlendirilebilir ve preoperatif değerlendirmede radyolojik olarak görüntülenememiş metastazlar tespit edilerek, hastalar gereksiz cerrahiden korunabilir. Torasentez ile sitolojinin negatif olduğu ancak malign plevral efüzyondan şüphelenilen durumlarda da VATS kullanılabilir (80).

2.1.7. Akciğer Kanseri Evreleme

Akciğer kanserli hastalarda tedavi seçimi ve prognoz, hastalığın tanı sırasındaki evresiyle yakından ilişkilidir ve prognozu belirleyen en önemli faktör tümörün evresidir. Tanı konulduktan sonra akciğer kanserinde uygulanacak tedavinin seçimi için ilk basamak, yine evrelemedir. Akciğer kanserinin evrelendirilmesinde kullanılan TNM (T: primer tümör, N: bölgesel lenf bezleri, M: uzak metastaz) evrelendirme sistemi tanı anında hastalığın anatomik yaygınlığını gösteren önemli bir rehberdir.

KHDAK' de en başarılı ve en uzun sağkalıma sahip olgular, cerrahi tedavi uygulanan özellikle erken evre hastalardır. Bu nedenle, cerrahi uygulanacak olguların seçiminde de koşul olduğundan, doğru evreleme daha da çok önem kazanmaktadır. Evreleme, cerrahinin sağkalıma katkısı olmayan olguların da saptanmasında başlıca kriterdir (81).

Günümüzde akciğer kanserinin evrelendirilmesinde Uluslararası Akciğer Kanseri Derneği'nin (International Association for The Study of Lung Cancer- IASLC) 19 ülkede 46 merkezden 100.863 akciğer kanseri olgusu verilerini kullanarak oluşturduğu ve 2009 yılında yayınladığı TNM evreleme sistemi (Tablo 2, 3) kullanılmaktadır (81).

IASLC'nin yapmış olduğu bu çalışmanın önemli katkılarından biri de toplanan 100.863 olgu içerisindeki küçük hücreli akciğer kanserli (KHAK) 13.290 hastanın verisinde yaptığı istatistiksel analizdir. Bu olguların değerlendirilmesi sonucunda, önerilen yeni TNM evreleme sisteminin KHAK'de uygunluğu gösterilmiş, KHAK'de tedavi ve prognozun öngörülmesinde TNM evrelemesinin yapılması önerilmiştir (81,82).

Tablo 2. Akciğer Kanseri Evreleri

Evre IA	T1a-T1b	N0	M0
Evre IB	T2a	N0	M0
Evre IIA	T1a-T1b-T2a	N1	M0
	T2b	N0	M0
Evre IIB	T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
Evre IIIA	T1a-T1b-T2a-T2b	N2	M0
	T3	N1-N2	M0
	T4	N0-N1	M0
Evre IIIB	T4	N2	M0
	Herhangi bir T	N3	M0
Evre IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1a veya M1b

Tablo 3. Akciğer Kanseri TNM Evreleme Sistemi

	Primer tümör
TX	Primer tümör değerlendirilemiyor, balgam veya bronş yıkamada malign hücreler olmasına rağmen bronkoskopi ve görüntülemelerde tümör görüntülenemiyor
T0	Primer tümöre ait belirti yok
Tis	Karsinoma insitu
T1	Tümör en büyük çapı ≤ 3 cm, akciğer veya visseral plevra ile çevrili, bronkoskopik olarak lob bronşundan daha proksimale (ana bronşa) invazyon göstermeyen tümör T1a: Tümör en büyük çapı ≤ 2 cm T1b: Tümör en büyük çapı > 2 cm fakat ≤ 3 cm
T2	Tümör en büyük çapı > 3 fakat ≤ 7 cm ya da; ana bronşa invaze ve ana karinaya uzaklığı ≥ 2 cm, visseral plevraya invaze, hiler bölgeye ulaşan ancak tüm akciğeri kapsamayan atelektazi veya obstrüktif pnömoni T2a: Tümör en büyük çapı > 3 fakat ≤ 5 cm T2b: Tümör en büyük çapı > 5 , fakat ≤ 7 cm
T3	Tümör > 7 cm veya göğüs duvarı (superior sulkus tümörleri dahil), mediastinal plevra, diafragma, frenik sinir, parietal perikard yapılarından birine invaze ya da ana karina tutulumu olmadan ana karinaya uzaklık < 2 cm ya da bütün bir akciğeri kaplayan atelektazi veya obstrüktif pnömoni ile birlikte olan tümör ya da aynı lobda farklı bir nodül olması
T4	Tümör herhangi bir boyutta ve beraberinde; mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, rekürren laringeal sinir, özefagus, vertebra korpusu ve ana karina yapılarından birine invazyon ya da aynı taraf akciğerde farklı bir lobda nodül
	Bölgesel lenf nodu
NX	Bölgesel lenf nodu değerlendirmesi yapılamıyor
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	Aynı taraf peribronşiyal ve/veya aynı taraf hiler lenf nodlarına metastaz primer tümörün direkt yayılması ile intrapulmoner nodların tutulumu
N2	Aynı taraf mediastinal ve/veya subkarinal lenf nodlarına metastaz
N3	Karşı taraf mediasten, hiler; aynı veya karşı taraf skalen veya supraklaviküler lenf nodu metastazı
	Uzak metastaz
MX	Uzak metastaz değerlendirilemiyor
M0	Uzak metastaz yok
M1	M1a: Karşı taraf lobda nodül, tümörle birlikte plevral nodül veya malign plevral (veya perkardiyal) efüzyon M1b: Uzak metastaz

2.1.8. Akciğer kanserinde prognostik faktörler

Kanserlerde prognostik faktörler ile hastalığın progresyonunu önceden tahmin etmek önemlidir. Kanser biyolojik davranışı tedaviye başlamadan önce belirlenebilirse, bu bilgiler tedaviyi değerlendirme ve klinik çalışmaları planlamada kullanılabilir.

Prognostik faktörlerin tanımlanması, akciğer kanserinin tedavisinin seçiminde kritik bir öneme sahiptir. Akciğer kanseri ile ilgili klinik ve temel bilimsel çalışmalarda, çok sayıda prognostik faktör tanımlanmıştır. Bunlar tümörle, hastayla ve çevre ile ilgili faktörlerdir. En önemlilerinin başında ise hastalığın evresi ve histopatolojik tanısı gelmektedir.

2.1.8.1. TNM evresi

KHDAK'inde TNM evrelemesi kullanılırken, bazı araştırmacılar KHAK için de TNM evrelemesini savunmaktadırlar (81,82). Akciğer kanserinde evre, sağkalımı önemli derecede etkilemektedir (Tablo 4).

Tablo 4. Akciğer kanserinde evrelere göre sağkalım oranları

Klinik Evre	Sağkalım % / (3 yıl)	Sağkalım % / (5 yıl)	Patolojik Evre	Sağkalım % / (3 yıl)	Sağkalım % / (5 yıl)
IA	71	61	IA	80	67
IB	46	38	IB	67	57
IIA	38	34	IIA	66	55
IIB	33	24	IIB	46	39
IIIA	18	13	IIIA	32	23
IIIB	7	5			
IV	2	1			

2.1.8.2. Hücre tipi ve diferansiyasyonu

Hücre tipinin anlamlılığı (büyük hücreli, adenokarsinom veya epidermoid) yaygın olarak çalışılmış olup, bu konuda bronkoalveolar ve karsinoidler hariç olmak üzere, özellikle adenokarsinomla diğer KHDAK alt tiplerinin kıyaslandığı

çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Downey ve arkadaşları (83), opere edilmiş hastalarda yaptıkları çalışmada, epidermoid karsinomu olanların mortalite riskinin, adenokarsinomlulara göre 3,2 kat arttığını ve 2 yıllık sağkalımlarının sırası ile % 68 ve % 86 olduğunu saptamışlardır. Ahuja ve arkadaşları (84) ise, çalışmalarında KHDAK'ta histolojik alt tip ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır.

2.1.8.3. Hastanın performans durumu

Akciğer kanserli hastaların performans durumunu ölçmede Karnofsky ve Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) skalaları kullanılır (Tablo 5). Performans skoru, KHAK ve KHDAK'de hastanın tedaviyi tolere edebilirliği, prognozla yakından ilişkilidir. ECOG skalasına göre 0-1 olan hastalar genellikle tedaviyi iyi tolere ederler. Performans skoru 2 olan hastalar kemoterapi sırasında daha fazla komplikasyonla karşılaşırlar ve genellikle cerrahiye aday değildirler. Performans skoru 3-4 olan hastalar, genellikle tedaviyi iyi tolere edemezler (85,86).

Tablo 5. Karnofsky ve Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performans skalaları

ECOG		KARNOFSKY
0	Yakınması yok. Normal aktivitesini sürdürüyor.	%90-100
1	Tümör bulguları var ancak normal yaşantısını sürdürebiliyor.	%70-80
2	Tümör bulguları rahatsız edici düzeyde ancak günün yarısından azını yatakta geçiriyor.	%50-60
3	Ciddi derecede rahatsızlığı olup günün yarısından fazlasını yatakta geçiriyor.	%30-40
4	İleri derecede rahatsızlığı olup günün tamamını yatakta geçiriyor.	%10-20

2.1.8.4. Prognostik faktör olarak SUVmax

FDG PET, sadece tanısal süreçte değil; evreleme, rekürrensin saptanması, yeniden evreleme, tedavinin izlenmesi, radyoterapinin planlanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Tanı, evreleme, akciğer kanserinin tedavisi sürecinde yapısal görüntüleme tekniğine tamamlayıcı bilgiler sağlar. KHDAK'de klinik olarak tümör, nod ve metastaz durumunu değerlendirmek için kullanılabilecek bir seçenektir. Primer tümör SUV değerinin, sağkalım açısından prognostik faktör olma potansiyeli yaygın olarak çalışılmıştır. Tümör büyüme hızı ile SUV tutulumu arasında korelasyon saptanması ve immunohistokimyasal olarak transmembran glukoz taşıyıcılarının (Glut1 ve Glut3) aşırı üretiminin kötü prognozla ilişkisinin gösterilmesi, prognostik faktör olarak SUV tutulumunun araştırılmasına aracı olmuştur. Ahuja ve arkadaşları (84), 1998 yılında yayınlanan çalışmalarında, evre I-IV arası 155 KHDAK hastasının verilerini değerlendirmişler ve aynı evrelerdeki farklı FDG tutulumuna sahip hastaların yaşam sürelerinin anlamlı olarak değiştiğini bulmuşlardır. Buna göre primer tümörü yüksek SUVmax tutulumu gösteren hastaların sağkalımları daha kısa olmaktadır.

2.1.9. Akciğer Kanseri Tedavisi

Akciğer kanserinde tedavi sonuçları maalesef yüz güldürücü değildir. Tüm evreler birlikte değerlendirildiğinde 5 yıllık yaşam %15 oranındadır. Ancak erken evrelerde bu oranlar oldukça yükselmektedir. Akciğer kanserinde hücre tipi, hastalığın evresi, hastanın performans durumu, kilo kaybı, kardiyopulmoner rezerv ve tümörün biyolojik davranışı tedavi seçiminde etkili faktörler arasında sayılmaktadır.

2.1.9.1.Cerrahi Tedavi

Akciğer kanserli hastaların çok az bir kısmı tanı konulduğu anda operabil olup, büyük kısmı (%20-25) inoperabildir. Cerrahi tedavi erken dönem akciğer kanserlerinde ve opere edilebilir hastalarda esas tedavi yöntemidir. Ayrıca tanısal ve palyatif amaçlı da uygulanabilir. Tümör yükünü azaltarak radyoterapi ve kemoterapinin etkinliği artırılabilir. Cerrahi tedavide başarı, hastaların iyi

seçimine, evrelemenin iyi yapılmasına bağlı olup, ayrıca hastaların fizyolojik durumları, performansları (Karnofsky skalası), solunumsal ve kardiyak fonksiyonlarının preoperatif değerlendirilmesi de önemlidir. Cerrahi tedavi, tümör histolojik tipi ve evresi göz önüne alındığında küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde IAB, IIAB ve IIIA evrelerinde bazende IIIB (seçilmiş bazı T4N0) nadiren de evre IV'de (seçilmiş izole tek metastaz ile birlikte evre I-II tümörlerde), küçük hücreli akciğer kanserlerinde ise evre IA'da (T1, T2, N0, M0) nerilmektedir. Cerrahi rezeksiyon için kesin karar torakotomide alınır ve tümör yayılımına göre belirlenir. Torakotomi esnasında tümör inoperabil çıkabilir. Rezeksiyon sınırında tümör bulunmamalıdır. Ayrıca en distal lenf bezlerinde tümör ve lenf bezlerinde kapsül invazyonu olmamalıdır. Tercih edilen rezeksiyon tipi lobektomidir, gerekirse daha geniş rezeksiyon pnömonektomi yapılabilir Pulmoner rezervi sınırlı olgularda segmentektomi ve wedge rezeksiyon düşünülebilir.

2.1.9.2. Medikal Tedavi

Sitostatik ilaçlardan oluşan tedavidir. Küçük hücreli akciğer kanserlerinde öncelik taşımasına rağmen, küçük hücreli olmayan ileri evrelerdeki hastalarda da uygulanabilmektedir. Kemoterapi akciğer kanserlerinde neoadjuvant (primer tedaviden önce) veya adjuvant (primer tedaviden sonra) verilebilir. Medikal tedavide yanıt oranları düşük olup, yaşam süresine çok belirgin etkileri gösterilememiştir. Kemoterapiler sisplatinle kombine ilaç tedavileri ile yapılmaktadır. İlaçların toksik ve pahalı olmaları gznde tutularak, histolojik tümör tipine göre, özellikle her evredeki küçük hücreli akciğer kanserlerinde sıklıkla kullanılırlar. Kemoterapinin etkisi radyoterapi ile kombine edilerek artırılmaktadır. Sisplatin içeren rejimler n plandadır. Kemoterapi uygulamak için hastaların performans durumları Karnofsky'ye göre % 60 ve daha fazla, ECOG için de 0 ve I olmalıdır. İki kür kemoterapi sonunda tümörde küçülme olmazsa tedavi kesilmelidir. Kemoterapi 70 yaş ve üstünde ve ileri derecede kilo kaybı olan, performans durumu %20-40 olan hastalarda verilmemelidir. Tedavi uygulanacak hastalarda renal veya kardiyak sorunların bulunmamasına dikkat edilmelidir.

2.1.9.3.Hedefe Yönelik Tedaviler

Akciğer kanserinin tedavisinde yoğun bir şekilde uygulanan KT rejimlerinin etkileri geliştirilmeye çalışılmıştır. Ancak bu çabalara rağmen bu gruptaki hastaların prognozunda ilerleme sağlanamamıştır. Son 10 yıldır akciğer kanseri moleküler biyolojisinde ortaya çıkan gelişmeler ile özel olarak hedeflenmiş ajanların tedavide kullanımları gündeme gelmiştir.

Epidermal büyüme faktörü reseptörünün hem kanser biyolojisindeki patogenetik yeri, hem de tümör gelişimindeki yeri göz önüne alındığında en çok EGFR inhibitörlerinin akciğer kanseri tedavisindeki rolü araştırılmıştır. EGFR inhibitörü ajanlar KHDAK'de yüksek oranda ekprese edilen EGFR'nin bloke edilmesi tirozin kinaz aktivitesinin inhibe edilmesi ve sonuçta hücre aktivasyonu ve proliferasyonunun inhibisyonuna neden olurlar.

Gefitinib ve Erlotinib daha önce KT ile tedavi edilen hastalarda yoğun olarak kullanılan ve araştırılan ajanlardır. Bu ajanlar KHDAK'de ümit veren ajanlar olmakla birlikte rolleri tam anlaşılmış değildir, yapılan faz III çalışmalarda platin temelli kombine KT'lere eklenmeleri ile de sağ kalım avantajı sağlanamamıştır. Ancak seçilmiş hastalarda daha etkin olabilecekleri belirtilmektedir. Japon ırkında, sigara içmeyen ve adenokarsinomlu özellikle kadın hastalarda daha iyi sonuçlar bildirilmiştir. Gefitinib ileri evre KHDAK tedavisinde FDA onayı alarak 3.sıra KT ajanı olmuştur.

Ayrıca moleküler hedefe yöneltilmiş tedaviler arasında hücre sinyal iletim inhibitörleri, matriks metalloproteinaz inhibitörleri, antianjiogenesis tedaviler (VEGF'ü hedefleyen Bevacizumab), antisens tedaviler, antikor tedaviler ve immünoterapiler yer almaktadır. EGFR'ye karşı geliştirilmiş monoklonal antikorlardan Cetuximab ve HER2'ye karşı geliştirilmiş monoklonal antikorlardan Trastuzumab ile çalışmalar devam etmektedir.

2.1.9.4.Radyoterapi

Akciğer kanserlerinde radyoterapinin uygulanması hücre tipine göre değişir. Radyoterapiye en hassas olanlar küçük hücreliler başta olmak üzere indiferansiye kanserler ve daha sonra skuamöz hücreli kanserlerdir. Adenokanserlerin radyoterapiye duyarlılığı az, büyük hücreli kanserlerin ise çok azdır.

Radyoterapi, medikal inoperabl yani evre olarak operasyona uygun olup, anormal solunum fonksiyonları, kan gazı bulguları, pulmoner hipertansiyon varlığı ve yeni miyokard infarktüsü gibi solunumsal ve kardiyak nedenlerden dolayı operasyona alınamayan hastalarda, rezektabl olan evre I tümörlerinde, trakea, karina, ana bronş tutulumu olan hastalarda küratif ve agresif (radikal) olarak uygulanmaktadır.

Radyoterapi evre III A'da neoadjuvan (KT ile) uygulandığı gibi, ayrıca cerrahi sonrası adjuvan olarak, insizyon yerlerinde tümör nüksünü ortadan kaldırmada, cerrahi sınırda tümör tesbit edilenlerde, mediastinal pozitif lenfadenopati varlığında (N2), evre IIIA ve B'de lokal kontrolü arttırmada, palyatif olarak evre IV'te, pancoast tümörlerinde, vena cava superior sendromu, dispne, ses kısıklığı, yutma güçlüğü, hemoptizi, atelektazi gibi tümörün bası bulgularında beyin, kemik ve supraklavikuler lenf bezi metastazlarında uygulanmaktadır.

2.1.9.5.Endobronşial Tedavi

Evre IV küçük hücreli olmayan ve yaygın küçük hücreli kanserli hastalarda palyatif tedavi olarak endobronşial tedaviler uygulanmaktadır. (Bronkoscopi, buji ve balon dilatasyon, elektrokoter, argon plazma koagülasyon, fotodinamik tedavi, kriyoterapi, stentler, brakiterapi, laser) Bu tedavilerden laser tedavisi ilk kez 1970 yılında nefes darlığı semptomlu bronş obstrüksiyonu olan hastaları rahatlatmak amacıyla kullanılmış ve %50'den fazla oranda başarılı olarak bulunmuştur. Laser tedavisi, santral ve endobronşial tümörlerde, radyoterapi ve kemoterapi ile bronş tıkanıklığı giderilememiş ise uygulanır. Laser tipleri Nd-

YAG (Neodymium-Yttrium Aluminium garnet), argon laser ve CO2 laserdir. Uygulamada fiberoptik veya rijid bronkoskoplar kullanılmaktadır. Ayrıca endobronşial tedavi olarak kriyoterapi (cryosurgery), electrosurgery, brakiterapi uygulanır.

Bu işlemler yanında fotodinamik tedavi (PDT) ve stent (protez) uygulama da yapılmaktadır. Fotodinamik tedavide intravenöz hematoporfirin deriveleri (Hpd) veya dihematoporfirin eter (DHE) verilir. Bu maddeler normal hücrelerde 48 saatte hızla absorbe edilir ve temizlenirler. Tümoral hücrelerde ise daha uzun süre, ortalama 5 gün kalırlar. Bu nedenle kanserlerin erken ve gizli dönemde saptanmasında kullanılırlar. Nd- YAG laser ile endobronşial brakiterapinin birlikte uygulanması sonucu daha iyi neticeler elde edilmiştir.

Brakiterapi endobronşial ve ekstresek bronş obstrüksiyonu olan hastalarda etkilidir, %30-80 yanıt oranları bildirilmektedir. Kriyoterapi genel anestezi altında rijid bronkoskop ile uygulanır. Endobronşial lezyon kriyoprob ile eksi 70 dereceye kadar sıvı nitroz oksit kullanılarak dondurulur. İşlem 10-15 dakika sürer.

Endobronşial stent (protez), tümör ya da büyümüş lenf nodlarının dıştan basısına bağlı obstrüksiyonu olan, cerrahi düşünülmeyen, radyoterapiye yeterli yanıt alınamayan hastalarda kullanılabilir. Endobronşial protezler silikon, paslanmaz çelik veya silikon+çelikten yapılır. Metal stentler malign hastalığı olan ve cerrahi için kısa süre bekleyecek hastalar için en iyi tercihtir.

2.1.9.6.İmmunoterapi

Akciğer kanseri tedavisinde immünoterapi uzun yıllar empirik olarak denenmiş, ancak son yıllarda bu konuda daha olumlu görüşler belirmeye başlamıştır. İmmünoterapide amaç, hastada tümöre karşı immün yanıtı başlatmak veya arttırmaktır. İmmünoterapi ek bir tedavi olarak düşünülmelidir. Başarı tümör kitlesinin radikal tedavi ile küçültülmesine sıkı sıkıya bağlıdır.

2.1.9.7. TxN0M0 ve Yüzeyel Tümörlerde Tedavi

İnvazyon derinliği 3 mm'yi ve uzunluğu 1 cm'yi geçmeyen yüzeyel tümörlerde önerilen tedavi cerrahidir. Cerrahi kabul etmeyen olgularda fotodinamik tedavi, brakiterapi, argon plazma koagulasyon, elektrokoter, kriyoterapi tercih edilecek başlıca yöntemlerdir (87). Komplet cevap ve rekürrens oranları sırasıyla fotodinamik tedavi için % 86 ve % 13, elektrokoter için % 80 ve % 0, kriyoterapi için % 91 ve % 28 olarak rapor edilmiştir. Brakiterapi ve Nd-YAG lazer terapi için bildirilen komplet cevap oranları ise sırasıyla % 85 ve % 100'dür (88).

2.1.9.8. Evre IA ve IB Tümörlerde Tedavi

Bu tümörlerin tedavisinde standart yaklaşım cerrahi rezeksiyondur. Lobektomi ve gerekiyorsa pnömonektomi bu amaçla uygulan rezeksiyonlardır. Pulmoner fonksiyonları sınırlı olgularda wedge rezeksiyon veya segmentektomi gibi yöntemler uygulanabilir. Tam rezeksiyon yapılmış olgulara operasyon sonrası başka bir tedavi verilmesi önerilmemektedir. Tam rezeksiyon yapılmamışsa (cerrahi sınır pozitifliği), tamamlayıcı cerrahi rezeksiyon yapılır. Bunun yapılamadığı durumlarda tercih edilecek yöntem radyoterapidir. Medikal inoperabl evre I olguların tedavi yöntemi ise radyoterapidir (89). Cerrahi rezeksiyon uygulanan olgularda 5 yıllık sağ kalım oranı evre IA olgular için % 71,25, evre IB olgular için ise % 57' dir. Radyoterapi ile tedavi edilen olgularda ise bu oran % 30 olarak rapor edilmiştir (89).

2.1.9.9. Evre IIA ve IIB Tümörlerde Tedavi

Bu evredeki tümörlerin seçkin tedavisi cerrahi rezeksiyondur. Lenf bezi diseksiyonunun rutin olarak yapılması önerilmektedir. N1 olgularda tam rezeksiyon yapıldığında postoperatif radyoterapi önerilmemektedir. Adjuvan radyoterapinin sağ kalımı etkilemediği ancak lokal nüksleri azalttığı rapor edilmiştir. Postoperatif kemoterapi de tam rezeksiyon yapılmış olgularda rutin olarak kullanılmamalıdır. T3N0 olgularda da cerrahi tedavi tercih edilmelidir. Bu olgularda komplet rezeksiyon yapılmışsa adjuvan tedavi uygulanması önerilmemektedir. Parietal plevradan daha derine invazyon gösteren T3 olgularda "an blok" rezeksiyon uygulanmalıdır. Evre II olgularda neoadjuvan

kemoterapi uygulanması yönünde yeterli veri yoktur. Medikal olarak inoperabl olan bu evre hastalarda radyoterapi önerilmektedir (87,90). Patolojik evresi T1N1M0, T2N1M0 ve T3N0M0 olan olgular için 5 yıllık sağ kalım oranı sırasıyla % 57, % 42 ve % 34 olarak rapor edilmiştir (91).

2.1.9.10. Evre IIIA Tümörlerde Tedavi

T3N1 olgularda önerilen tedavi yöntemi cerrahi rezeksiyondur. Bu olgularda adjuvan radyoterapinin lokal nüksleri azalttığı ancak sağ kalım üzerine etkisi olmadığı gösterilmiştir. N2 hastalığın torakotomi sırasında saptandığı olgulara tümörün ve lenf bezlerinin cerrahi rezeksiyonu önerilmektedir. Adjuvan radyoterapinin lokal nüksleri azalttığı ancak sağ kalım üzerine etkisi olmadığı rapor edilmiştir. Bu olgulara adjuvan kemoterapi ve kemoradyoterapinin rutin uygulanması önerilmemektedir. N2 hastalığın operasyon öncesi saptandığı olgulara neoadjuvan tedavi verilmesi önerilmektedir. Böyle olgularda bimodal veya trimodal tedavilerin tek başına cerrahi tedaviden üstün oldukları saptanmıştır. Neoadjuvan tedavi sonrası “down stage” sağlanan olgularda cerrahi yapılması aksi halde kemoradyoterapi verilmesi kabul edilen yaklaşımdır (87,92). Evre IIIA olgular için bildirilen 5 yıllık sağ kalım oranı % 23’tür (92).

2.1.9.11. Evre IIIB Tümörlerde Tedavi

Bazı seçilmiş T4N0 olgulara (satellit nodül, karina tutulumu gibi) cerrahi rezeksiyon uygulanabilmektedir.. Malign plevral efüzyon varlığında seçilecek tedavi yöntemi kemoterapidir. Malign plevral efüzyonun olmadığı evre IIIB olgulara sıklıkla ardışık kemoradyoterapi uygulanır. Bu evre hastalarda 5 yıllık sağ kalım oranı % 3-7 olarak rapor edilmektedir (87,93).

2.1.9.12. Evre IV Tümörlerde Tedavi

Seçilmiş izole tek metastaz olgularında cerrahi tedavi uygulanmaktadır. Evre IV olguların standart tedavisi kemoterapidir. Bu olgularda bazı durumlarda palyatif amaçlı radyoterapi uygulanabilir (87).

2.2.Nigella Sativa (Çörek otu) ve Biyoaktif komponenti Timokinon

Çörek otu ve tohumundan elde edilen preparatlar, ülkemizde olduğu gibi Ortadoğu ve bazı Asya ülkelerinde soğuk algınlığı, çeşitli romatizma ve iltihabi hastalıklar, idrar söktürücü, astım, gaz giderici ve sarılık gibi pek çok hastalığın alternatif tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır

2.2.1.Nigella Sativa (Çörek otu)

Çörek otu, Ranunculacea (Düğünçiçeğigiller) familyasının Nigella sativa (NS) türü olup, bitki çeşitliliği bakımından oldukça zengin olan ülkemizde siyah tohum, siyah kimyon veya bereket tanesi olarak bilinmektedir.

Bölgenin iklimine bağlı olarak farklılık göstermekle birlikte NS tohumlarının yapısında, uçucu yağlar (% 0.4-0.45), sabit yağlar (% 32-40) proteinler (% 16-19.9), amino asitler, alkaloidler, tanenler, saponinler, lifler (5.5%), karbonhidratlar (% 33.9), mineraller (% 1.79-3.44), askorbik asit, tiamin, niasin, pridoksin ve folik asit bulunmaktadır.

Sabit yağın yapısında doymamış yağ asitlerinden oleik asit, linoleik asit, eikozadienoik, araşidonik asit ve linolenik asit bulunurken, doymuş yağ asitlerinden ise miristik asit, palmitik asit ve stearik asit bulunmaktadır. Uçucu yağın yapısında ise nigellon, karvakrol, p-cymene, d-limonen, α ve β -pinen'in yanı sıra farmakolojik olarak aktif temel bileşenlerden başlıca timokinon, ditimokinon, timohidrokinon ve timol yer almaktadır (94).



Resim 1.Çörek otu bitkisi



Resim 2.Çörek otu tohumu

Yapılan alışmalar çörek otu tohumu ve bileşenlerinin antikanserojenik, antitümöral, antiülserojenik, antibakteriyel, antiinflamatuvar ve analjezik, antioksidan, hipoglisemik, bağışıklık sistemini güçlendirici etkilerinin olduğunu göstermektedir (95-101).

2.2.2.Timokinon ve Etkileri

Timokinon (TQ) (C₁₀H₁₂O₂, 2-izopropil-5-metil 1, 4-benzokinon) örek otu uçucu yağında % 18.4-24 oranında bulunan en önemli biyoaktif bileşendir.

2.2.2.1. Antihiperlipidemik ve Antihiperkolesterolemik Etkisi

TQ'nun hipokolesterolemik etkisi, antioksidan kapasitesinden ve gen metabolizmasında etkin rol almasından kaynaklanabilir ki, bu tür antioksidan bileşikler kısmen LDL'yi oksidasyona karşı koruyarak etki göstermektedir (102). Ratlarda TQ'nun standart diyetlere ilavesi ile kontrole göre HDL ve LDL, yağlı diyetle ilavesinde ise trigliserid (TG), LDL ve çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) düzeylerini önemli ölçüde azalttığını bildirmektedir (103). Ayrıca tavşanlarda TQ'nun oksidatif stresi ve aterogenezi azalttığını bildirilmektedir (104).

2.2.2.2. Antioksidatif Etkisi

Çeşitli mekanizmalar ile antioksidan özellik gösteren TQ'nun süperoksit radikal anyonu ve hidroksil radikallerini içeren birçok reaktif oksijen türlerinin süpürücüsü olduğu ve 5-hidroksieikozatetraenoik asit ile 5-lipoksijenaz sentezini inhibe ettiği bildirilmektedir (100,105). Streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan ratlarda kalp ve beyindeki oksidatif stres araştırılmış ve diyabetlilerde glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon (GSH) ve katalaz (CAT)'daki belirgin azalma ile oksidatif stresin oluştuğu, bu düşük düzeylerin hem çörek otu yağı hem de TQ verilmesi ile iyileştirildiği belirtilmektedir (106).

2.2.2.3. Antidiyabetik Etkisi

Diyabet organizmadaki insülin sentezi yetersizliği yada direnciden kaynaklanmakta olup kan glikoz düzeyinin yüksekliği ile karakterize metabolik bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalar

TQ'nun hipoglisemik ve antidiyabetik etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır (107,108). Glikozillenmiş hemoglobin glikoz ile hemoglobin molekülünün nonenzimatik reaksiyonu sonucu oluşmaktadır ve geçmişe yönelik kan glikozunun takibinde HbA1c düzeyleri klinik önem taşımaktadır. Timokinonun total HbA1C'yi önemli derecede düşürdüğü bildirimleri bulunmaktadır (108).

2.2.2.4. Antitümöral ve antikanserojenik etkisi

Pek çok *invivo* ve *invitro* araştırmalar ile NS tohumlarının ve aktif bileşenlerinin antitümöral etkileri gösterilmiştir. Araştırmalar TQ'nun göğüs ve yumurtalık adenokarsinomu, kolorektal kanser, neoplastik keratinositler, insan osteosarkomu, fibrosarkoma, akciğer karsinomu, prostat kanseri gibi pek çok kanser çeşidinde hücrelerin proliferasyonu üzerine inhibitör etki gösterdiğini ortaya koymaktadır (95,109,111).

TQ'nun hepatoselüler karsinoma hücrelerini konsantrasyona bağlı olarak önemli ölçüde yavaşlattığı ve hepatoselüler karsinom tedavisi için umut verici bir antikanser bileşiği olduğu gösterilmiştir (112). TQ'nun insan umbilikal veni endotel hücre göçünü, invazyonunu, proliferasyonunu ve tüp şekillenmesini inhibe ettiğini tespit edilmiştir.

Bu sonuçlar TQ'nun tümör anjiyogenezisini ve tümör büyümesini inhibe ettiğini ve kanser tedavisi için potansiyel bir ilaç olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur (113). TQ'nun nükleer faktör-B'ye bağımlı antiapoptotik genleri azaltarak kemoterapötik bileşikler tarafından indüklenen pankreas hücrelerinin ölümünde etkili olduğu ve antitümöral ilaçlarla TQ'nun birlikte kullanılmasının ise büyüme inhibisyonunu artırdığı gösterilmektedir (114).

2.2.2.5. Sindirim Sistemine Etkisi

Çörek otu uçucu yağının ve TQ'nun mide mukozasındaki redoks durumunun korunmasıyla ilişkili olarak gastroprotektif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (115).

2.2.2.6.İmmun Sisteme Etkisi

Doğal bağışıklık, makrofajlar, doğal katil hücreler, granülositler gibi hücreleri kapsarken, kazanılmış bağışıklık ise spesifik antikor salgılayan B hücreleri aracılı bağışıklığı ve CD4+ ve CD8+ T hücreleri aracılı hücresel bağışıklığı kapsamaktadır. Nigella sativa yağının ve TQ'nun T hücrelerine ve immün yanıtı aracılık eden öldürücü hücrelerin artışı sağladığı ve önemli immünomodülatör etki gösterdiği ifade edilmektedir (116). İnflamasyonlu ve otoimmun hastalıklarının iyileştirilmesinde TQ'un makrofajlarda nitrik oksit (NO) üretimini azaltarak yararlı olabileceğini ortaya koymuştur.

2.2.2.7.Analjezik ve Antiinflamatuvar Etkisi

Farelerde TQ'nun ağrının erken ve geç safhalarında etkili olduğu ve ağrıyı baskıladığı bildirilmektedir (99). COX (siklooksijenaz) ve LO (lipooksijenaz)' nun inhibisyonu, TQ'nun antiinflamatuvar etkilerini düzenleyen anahtar bir faktördür (117).

2.2.2.8.Sinir Sistemine Etkisi

Nöral bozuklukların patolojilerinde TQ'nun nöroprotektif etkili bir bileşik olduğu bildirilmektedir (118).

2.2.2.9.Solunum Sistemine Etkisi

TQ, akciğer dokularında allerjenin indüklediği eozinofilik inflamasyonu ve kadeh hücrelerinden mukus üretimini belirgin olarak inhibe etmiştir. Benzer bir çalışmada TQ'nun deneysel astımda antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (119).

2.2.2.10.Dolaşım Sistemine Etkisi

TQ'nun ratlarda doza bağlı olarak arteryal kan basıncını ve kalp atışını azalttığı bildirilmektedir (120).

2.2.2.11.Boşaltım Sistemine Etkisi

Farelere ve ratlara Cisplatinin tek doz enjeksiyonundan 5 gün önce ve 5 gün sonra verilen TQ'nun serum üre ve kreatinin düzeyinde belirgin bir azalmaya ve kreatinin klirensi ve poliüride de belirgin bir iyileşmeye neden olduğu ortaya konmuş olup TQ'nun nefrotoksiteyi iyileştirdiği gösterilmiştir (100). Düşük dozdaki TQ'nun böbrek taşlarının tedavisinde kullanılabileceğini bildirilmiştir.

2.2.2.12.Toksik Etkisi

Literatürde NS tohumları ve bileşenlerinin olası toksik etkileri üzerine yapılmış pek fazla çalışma bulunmamaktadır. Ancak, ratlarda yüksek dozlarda verildiğinde öldürücü etki göstermiş ve LD50 değeri 90.3 mg/kg olarak belirlenmiştir (121).

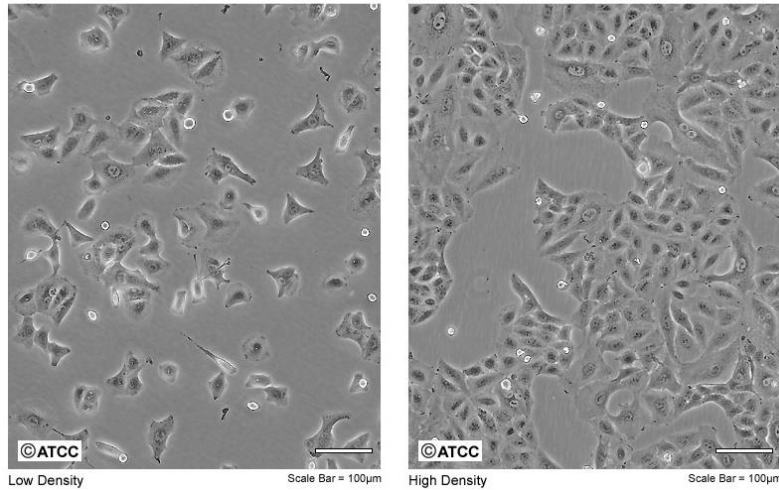
3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Antikanser Aktivite Araştırması

3.1.1.Biyolojik Aktivite Testleri için kullanılan kimyasallar ve hücreler

- Dulbecco's Modified Eagle's Medium-High Glucose (Sigma)
- Hank's Balanced Salt Solutions (Sigma)
- Fetal Bovine Serum (Sigma)
- Penicilin streptomycin solüsyonu (Sigma)
- Trypsin EDTA (%2.5)(Sigma)
- %0,5'lik Trypan-Blue (Sigma)
- A549 (Akciğer bronkoalveoler karsinom hücre hattı), BEAS2B (normal bronş epiteli hücre hattı), HTB54 (Akciğer epidermoid karsinom hücre hattı) hücreleri kullanılmıştır. Hücre hatları ATCC The Global Bioresource Center ve Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Hücre Kültür Laboratuvarından temin edilmiştir.

Designation: **A-549**



Resim 3.Kültür ortamında A549 hücreleri

3.1.1.1. A549 Akciğer Bronkoalveoler Karsinom Hücre Dizi Kültürü

A549 hücre dizileri (ATCC, LGC Promochem, Teddington, UK), epitel karsinoma hücre dizileridir. A549 hücreleri % 5 fetal bovin serum içeren RPMI-1640 hücre vasatında üretilecektir. 25cm²'lik kültür 'flask'larında (BectonDickinson, Türkiye) 48 saat süreyle, 37 °C 'de, %5 CO₂ içeren inkübatörde inkübe edilecektir.

Hücreler kültür kuyucuklarının yüzeyini %70-80 oranında kapladıktan sonra, kültürlerin üzerine bovinpituitar ekstrakt katkısı içermeyen vasat eklenerek 24 saat süreyle bu koşullarda inkübe edilir. Daha sonra hücreler planlanan deneylerde kullanılacaklardır.

3.1.1.2. BEAS-2B Normal Bronş Epiteli Hücre Dizi Kültürü

BEAS-2B hücre dizileri (ATCC, LGC Promochem, Teddington, UK), simianvirus 40 ile transforme edilmiş bronş epitel hücre dizileridir. BEAS - 2B hücreleri epidermal growth faktör (EGF) ve bovinpituitarekstrakt içeren keratinocyte vasatında üretilecektir.

25cm²'lik kültür 'flask'larında (BectonDickinson, Türkiye) 48 saat süreyle, 37 °C 'de, %5 CO₂ içeren inkübatörde inkübe edilecektir. Hücreler kültür kuyucuklarının yüzeyini %70-80 oranında kapladıktan sonra, kültürlerin üzerine bovinpituitar ekstrakt katkısı içermeyen vasat eklenerek 24 saat süreyle bu koşullarda inkübe edilir. Daha sonra hücreler planlanan deneylerde kullanılacaklardır.

3.1.1.3. HTB-54 Akciğer Epidermoid Karsinom Hücre Dizi Kültürü

HTB-54 hücre dizileri (ATCC, LGC Promochem, Teddington, UK), akciğer epidermoid karsinom hücre dizileridir. HTB-54 hücreleri % 5 fetal bovin serum içeren RPMI-1640 hücre vasatında üretilecektir.

25cm²'lik kültür 'flask'larında (BectonDickinson, Türkiye) 48 saat süreyle, 37 °C 'de, %5 CO₂ içeren inkübatörde inkübe edilecektir. Hücreler kültür

kuyucuklarının yüzeyini %70-80 oranında kapladıktan sonra, kültürlerin üzerine bovinpituiter ekstrakt katkısı içermeyen vasat eklenerek 24 saat süreyle bu koşullarda inkübe edilir. Daha sonra hücreler planlanan deneylerde kullanılacaklardır.

3.1.2.Cihazlar

- Spektrofotometre (Biotek, µquant model, ABD)
- Santrifüj (soğutuculu, Hettich)
- Işık mikroskobu (Nikon, Eclipse E200)
- Biyogüvenlik kabini (Class 2, Nu-Aire, ABD)
- Magnetik Karıştırıcı
- Karbondioksit (%5) inkübatörü (Nu-Aire, ABD)
- Plate sallayıcı

3.1.3.Hücreler ile yapılan çalışmalar

3.1.3.1. Hücrelerde Kullanılan Kültür Vasatının Hazırlanması

Hücreler için DMEM ile hazırlanan kültür vasatı kullanılmıştır.

Kültür vasatının hazırlanması

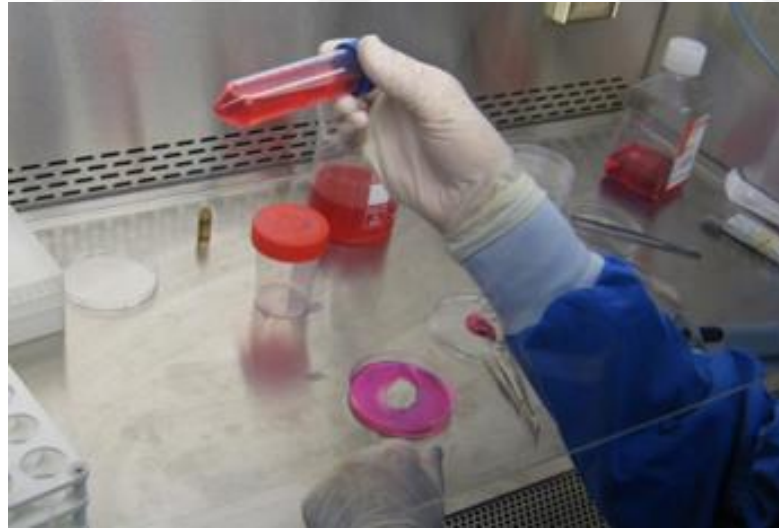
DMEM	500 mL
FCS	50 mL (%10)
Penicilin streptomycin	5 mL

3.1.3.2.Hücrelerin Kaldırılması

Deneyler için kullanılacak hücreler 37 °C 'de, %5 CO₂ ve %95 nemli ortam içeren inkübatör bulunan 75 cm²' lik hücre kültür kaplarında (Falcon; BD Biosciences, ABD) kültür yapılarak çoğaltıldı.

Burada çoğaltılan hücreler inkübatörden alındıktan sonra kültür kabı içinde bulunan DMEM vasatı vakum ile çekildi. Hücrelerin üzerine 5 mL HBSS (Hank's Balanced Salt Solution) eklenerek hücreler yıkandı. Üzerine 1X'lik Tripsin-EDTA eklenip , 37 C°'de 3-4 dakika kadar beklendi.

Hücrelerin kalkıp kalkmadığı mikroskopla kontrol edildi. Hücreler kalktıktan sonra Tripsini etkisizleştirmek için 5-10 mL %10 FCS içeren kültür vasatı eklendi. Kültür kabındaki hücreler 50 mL'lik steril tüpe aktarıldı ve 1500 rpm'de 4 dk santrifüje edildi.



Resim 4: Hücrelerinin Pasajlanması

3.1.3.3. Hücrelerin Sayılması

Santrifüj işleminin ardından tüp içerisindeki üst faz atıldı ve tüpün alt kısmında toplanmış olan hücreler tüpün kenarlarına yavaşça vurularak homojenize hale getirilip üzerine 5 mL hücre kültür vasatı eklendi. Hücre sayımı için aşağıdaki karışım hazırlandı.

20 µL hücre süspansiyonu,
20 µL %0,5'lik Trypan-Blue
160 µL hücre vasatı

Hazırlanan bu karışım thoma lamına (Marienfeld, Germany) aktararak lam içerisindeki canlı hücreler sayıldı. Sonuca göre % 10 FCS li DMEM ile seyreltilen hücreler 24 well hücre kültür kaplarına ekildi. Hücreler %70 konfulans olana kadar yaklaşık 24 saat bekletildi.

3.1.3.4. Sentezlenen Bileşiklerin Hazırlanması

Çalışmada kullanılacak kimyasallar hassas terazide dikkatli bir şekilde 8 mg tartılarak 1 mL lik steril tüpler içerisine alındı. Tüp içerisindeki bileşik DMSO ile 500 µM olacak şekilde dilüe edilip vorteks ile homojenizasyon sağlandı.

Deneyde kullanılacak olan konsantrasyonlar (10,100,200 µM) her bileşik için ayrı ayrı hazırlandı. Negatif kontrol olarak, DMEM içerisine test maddeleri yerine en yüksek konsantrasyondaki (100 µM) kimyasalı çözen DMSO kadar steril DMSO ilave edildi.

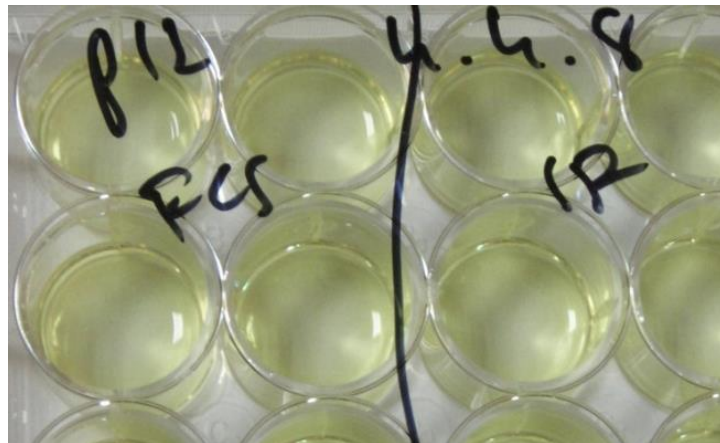
3.1.3.5. Kimyasalların Maruziyeti

24 saat sonunda %70 konfulans olan hücrelerin üzerindeki DMEM ortamdan uzaklaştırıldı. Belirlenen kuyucuklara hazırlanan konsantrasyonlarda negatif kontrol ve kimyasallar eklendi. Toplam sıvı hacmi 500 µL olacak şekilde tamamlandı. İşlem tamamlandıktan sonra hücreler 24 saat inkübasyona bırakılır. Pozitif kontrol olarak piyasada kemoterapi tedavisinde kullanılan Sisplatin kullanıldı.

3.1.3.6. Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi

Canlı hücre sayısı, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) 2,5-difeniltetrazolyum bromid (MTT) canlı hücre tarafından alınarak mitokondrial enzimler tarafından indirgenmesi esasına dayanan boyama yöntemiyle belirlendi.

- Bu amaçla hücrelerin üzerindeki kültür vasatları alındı, yerine 1 mg/mL MTT içeren SF her bir kuyucuğa 500 μ M olacak şekilde aktarıldı, hücreler 45 dakika süre ile inkübe edildi.
- Daha sonra MTT solüsyonu atılarak yerine her bir kuyucuğa 500 μ M olacak şekilde dimetil sülfoksit (DMSO) eklendi ve homojenizasyon sağlandı.
- Renk değişikliği görülen kuyucuklardan 100 μ M alınarak ELIZA okuyucu hücre kültür (96 well) kaplarına alındı.
- Değişen renkler spektrofotometre ile 550 nm'de değerlendirildi. Hücre canlılık deneylerinde tüm deney protokolleri en az üç kez tekrarlandı.



Resim 5: Hücrelerinin bulunduğu plate'e MTT boyası eklenmiş hali



Resim 6: Hücrelerin bulunduğu plate'e DMSO eklenmiş hali

3.1.3.7.İstatistiksel Analiz

Çalışmalarda elde edilen veriler, normal dağılım açısından test edildikten sonra, normal dağılım için tek yönlü varyans analizi (One - wayanalysis of variance, ANOVA), anormal dağılım için Kruskal Wallis testleri ile analiz edileceklerdir.

Anlamlılık görüldüğünde, gruplar arası karşılaştırmalar Dunnett'in çoklu karşılaştırmalar testi veya Bonferroni'nin çoklu karşılaştırmalar testi kullanılarak değerlendirileceklerdir. Her test grubu uygun kontrol gruplarıyla karşılaştırılacak, 0.05'ten küçük p değerleri anlamlı kabul edilecektir. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hatanın ortalaması veya ortanca $\pm$ %25-75 persentil değerleri ('interquartilerange' IQ) ile ifade edilecektir. İstatistiki analizler için 'prism 6' bilgisayar programı kullanılacaktır (GraphPad Software, Inc, USA).

***Antikanser aktivite çalışmaları Gaziantep Üniveristesi Tıp Fakültesi Hücre Kültür Laboratuvarında Dr.Onur BAYRAKÇI tarafından yapılmıştır.

4.BULGULAR

4.1.A549 (Bronkoalveoler karsinom) hücre hattı deneyleri (Pasaj No:14)

A549 hücre hattı uygun koşullarda hücre kültüründe çoğaltılıp pasajlanmıştır. A549 hücreleri; aynı fiziksel şartlar altında, aynı koşullarda, aynı kişi tarafından çoğaltılıp 24 (4x6) kuyucuk içeren kaplarda, her kuyucukta mikroskop altında %100 hücre doygunluğu (ort. 5000 hücre)' na ulaştığında, 24 saat SF' te bekletilip sonrasında deneye alınmıştır.

Her bir kuyucuğunda ortalama 5000 hücre içeren kapların sütun kısmı timokinon için; SF, DMSO, TQ10, TQ100, TQ200 olarak, sisplatin için; SF, DMSO, Cis10, Cis100 ve Cis200 olarak belirlenmiştir. Bu kapların satır kısmı 4 adet olup, ilgili sütunlardaki kuyucuklara uygulanan maddede teknik hatayı ortadan kaldırmak amacıyla, deney kendi içerisinde 4 defa tekrarlanmaktadır.

Her deney aynı fiziki şartlar, aynı koşullar ve aynı kişi tarafından ancak farklı zamanlarda 3 defa tekrarlanmıştır. Kuyucuk içeren kaplarda kendi içerisinde 4 defa, farklı zamanlarda 3 defa tekrarlanan deney, toplamda 12 (4x3) defa tekrarlanmaktadır.

Deneyin verileri için kimyasala maruz bırakılan hücrelerden, canlı olanlarının mitokondriyal enzimine bağlanarak renk değişimi sağlayan MTT solüsyonu uygulanıp, 1 saat sonra sonuçları spektrofotometri cihazı ile alınmaktadır. Bu şekilde A549 hücrelerinde timokinon ve sisplatinin, SF (proteinsiz DMEM solüsyonu), DMSO (uygulanan kimyasalı çözen madde) ve kimyasalların 10, 100 ve 200 mikromolar konsantrasyonları kendi içerisinde ve kendi aralarında karşılaştırılmıştır.

4.1.1.A549 hücrelerinde TQ (timokinon)' nun etkileri

A549 hücreleri üzerinde uygulanan SF ve DMSO her deneyde ayrı ayrı ve deneylerin ortalama sonucu değerlendirildiğinde, hücreler üzerinde belirgin etki göstermemiştir.

Uygulanan kimyasal madde çözücüsü DMSO ile Tq10, Tq100 ve Tq200 sonuçları karşılaştırıldığında ise timokinonun 10 mikromolar dozda kanser hücreleri üzerinde etkisinin olmadığı, 100 mikromolar dozda %50' ye varan oranda öldürücü etkiye sahip olduğu, 200 mikromolar dozda ise her üç deneydede %85' ten daha fazla öldürücü olduğu görülmektedir. A549 kanser hücreleri üzerinde timokinonun 100 mikromolarda etkin, 200 mikromolarda ise toksik doz olduğu belirlenmiştir (Tablo 6).

A549	SF	DMSO	Tq 10	Tq 100	Tq 200
Hücre Yoğunluğu	1,048	0,989	0,526	0,995	0,133
	1,695	1,634	1,646	0,858	0,220
	1,690	1,630	1,610	0,840	0,216
Sonuç	1,477	1,417	1,260	0,897	0,189

Tablo 6. A549 hücreleri üzerinde TQ etkileri

*** Farklı zamanlarda uygulanan 3 deney sonucu; her deney kendi içerisinde 4 defa tekrarlandığından toplamda 12 deney sonucu ve ortalama sonucu göstermektedir.

4.1.2.A549 hücrelerinde Cis (sisplatin)' in etkileri

A549 hücreleri üzerinde uygulanan SF ve DMSO her deneyde ayrı ayrı ve deneylerin ortalama sonucu değerlendirildiğinde, hücreler üzerinde belirgin etki göstermemiştir.

Uygulanan kimyasal madde çözücüsü DMSO ile Cis10, Cis100 ve Cis200 sonuçları karşılaştırıldığında ise sisplatinin 10 mikromolarda belirgin etkisinin olmadığı görülmektedir.

100 mikromolarda yaklaşık %40, 200 mikromolar dozda ise yaklaşık %50 oranda öldürücü etkiye sahip olduğu görülmektedir. A549 kanser hücreleri üzerinde, sisplatinin 200 mikromolar dozda etkin olduğu belirlenmiş olup, ilgili dozlarda toksik etkisi görülmemiştir (Tablo 7).

A549	SF	DMSO	Cis 10	Cis 100	Cis 200
Hücre Yoğunluğu	1,659	1,441	1,419	0,890	0,706
	1,620	1,430	1,415	0,875	0,697
	0,764	1,055	1,398	1,621	0,506
Sonuç	1,347	1,308	1,410	1,128	0,636

Tablo 7. A549 hücreleri üzerinde Cis etkileri

*** Farklı zamanlarda uygulanan 3 deney sonucu; her deney kendi içerisinde 4 defa tekrarlandığından toplamda 12 deney sonucu ve ortalama sonucu göstermektedir.

4.1.3.A549 hücrelerinde Tq ve Cis Etkilerinin Karşılaştırılması

A549 kanser hücreleri üzerine eşit şartlarda ve eşit konsantrasyonlarda uygulanan timokinon ve sisplatinin etkileri karşılaştırıldığında her ikisinde 10 mikromolar dozda etki göstermemektedir.

Timokinonun 100 mikromolar dozda sağladığı öldürücü etki, sisplatinin 200 mikromolar dozunda sağlanmaktadır. Sisplatinin 200 mikromolar etkin doza sahip olduğu konsantrasyonda, timokinon toksik etki göstermektedir.

Daha düşük dozda aynı öldürücü etkiye sahip olması nedeniyle, bu açıdan A549 kanser hücreleri üzerinde invitro koşullarda timokinonun sisplatine üstün olduğu gösterilmiştir.

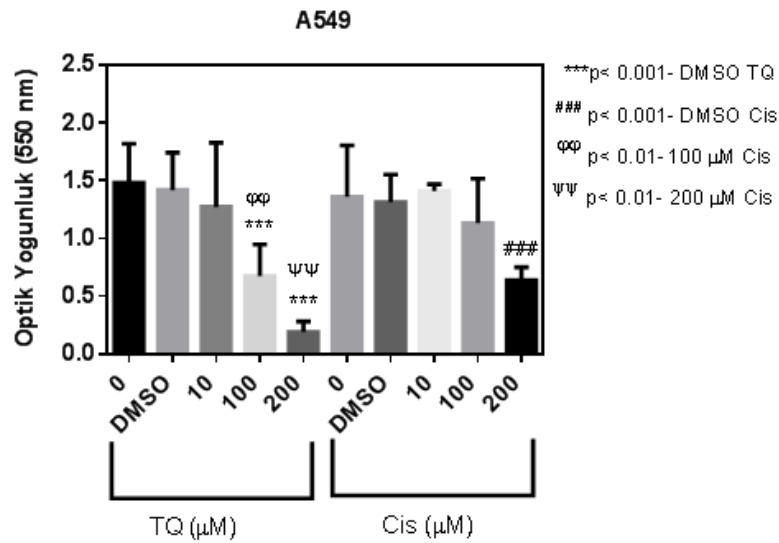
4.1.4.A549 hücrelerinde Tq ve Cis Etkilerinin İstatistiksel Analizi

1. A549 hücrelerinde DMSO ile kıyaslandığında timokinonun 100 mikromolar ve 200 mikromolar konsantrasyonda etkileri istatistiksel anlamlı olarak değerlendirilmiştir ($p < 0.001$). Ancak deneyde timokinonun A549 hücreleri üzerinde 200 mikromolar konsantrasyonda toksik etkili olduğu görülmüştür.

2. DMSO ile kıyaslandığında sisplatinin 200 mikromolar konsantrasyonda etkileri istatistiksel olarak anlamlıdır ancak 100 mikromolar konsantrasyondaki etkisinin istatistiksel olarak anlamı yoktur ($p < 0.001$).

3. A549 hücreleri üzerinde timokinonun 100 mikromolar konsantrasyondaki etkisi, sisplatinin 100 mikromolar konsantrasyondaki etkisinden istatistiksel olarak daha anlamlıdır ($p < 0.01$ -100 μ M Cis).

4. A549 hücreleri üzerinde timokinonun 200 mikromolar konsantrasyondaki etkisi, sisplatinin 200 mikromolar konsantrasyondaki etkisinden istatistiksel olarak daha anlamlıdır ($p < 0.01$ -200 μ M Cis).



Şekil 1.A549 hücrelerinde Tq ve Cis istatistiksel analizi

4.2.HTB-54 (Akciğer Epidermoid karsinom) hücre hattı deneyleri (Pasaj No:4)

HTB-54 hücre hattı uygun koşullarda hücre kültüründe çoğaltılıp pasajlanmıştır. HTB-54 hücreleri; aynı fiziksel şartlar altında, aynı koşullarda, aynı kişi tarafından çoğaltılıp 24 (4x6) kuyucuk içeren kaplarda, her kuyucukta mikroskop altında %100 hücre doygunluğu (ort. 5000 hücre)' na ulaştığında, 24 saat SF' te bekletilip sonrasında deneye alınmıştır.

Her bir kuyucuğunda ortalama 5000 hücre içeren kapların sütun kısmı timokinon için; SF, DMSO, TQ10, TQ100, TQ200 olarak, sisplatin için; SF, DMSO, Cis10, Cis100 ve Cis200 olarak belirlenmiştir. Bu kapların satır kısmı 4 adet olup, ilgili sütunlardaki kuyucuklara uygulanan maddede teknik hatayı ortadan kaldırmak amacıyla, deney kendi içerisinde 4 defa tekrarlanmaktadır.

Her deney aynı fiziki şartlar, aynı koşullar ve aynı kişi tarafından ancak farklı zamanlarda 3 defa tekrarlanmıştır. Kuyucuk içeren kaplarda kendi içerisinde 4 defa, farklı zamanlarda 3 defa tekrarlanan deney, toplamda 12

(4x3) defa tekrarlanmaktadır. Deneyin verileri için kimyasala maruz bırakılan hücrelerden, canlı olanlarının mitokondriyal enzimine bağlanarak renk değişimi sağlayan MTT solüsyonu uygulanıp, 1 saat sonra sonuçları spektrofotometri cihazı ile alınmaktadır.

Bu şekilde HTB-54 hücrelerinde timokinon ve sisplatinin, SF (proteinsiz DMEM solüsyonu), DMSO (uygulanan kimyasalı çözen madde) ve kimyasalların 10, 100 ve 200 mikromolar konsantrasyonları kendi içerisinde ve kendi aralarında karşılaştırılmıştır.

4.2.1.HTB-54 hücrelerinde TQ (timokinon)' nun etkileri

HTB-54 hücreleri üzerinde uygulanan SF ve DMSO her deneyde ayrı ayrı ve deneylerin ortalama sonucu değerlendirildiğinde, hücreler üzerinde belirgin etki göstermemiştir.

Uygulanan kimyasal madde çözücüsü DMSO ile Tq10, Tq100 ve Tq200 sonuçları karşılaştırıldığında ise timokinonun 10 mikromolar dozda kanser hücreleri üzerinde etkisinin olmadığı, 100 mikromolar dozda %80' lere varan oranda öldürücü etkiye sahip olduğu, 200 mikromolar dozda ise her üç deneydede %95' ten daha fazla öldürücü olduğu görülmektedir.

HTB-54 kanser hücreleri üzerinde timokinonun 100 mikromolardan daha düşük bir dozda etkin doza sahip olabileceği, 200 mikromolarda ise toksik doz olduğu belirlenmiştir (Tablo 8).

HTB-54	SF	DMSO	Tq 10	Tq 100	Tq 200
Hücre Yoğunluğu	0,893	0,868	0,806	0,155	0,058
	0,916	0,899	0,825	0,147	0,054
	0,895	0,984	0,923	0,224	0,060
Sonuç	0.901	0,917	0,851	0,175	0,057

Tablo 8.HTB-54 hücreleri üzerinde TQ etkileri

*** Farklı zamanlarda uygulanan 3 deney sonucu; her deney kendi içerisinde 4 defa tekrarlandığından toplamda 12 deney sonucu ve ortalama sonucu göstermektedir.

4.2.2.HTB-54 hücrelerinde Cis (sisplatin)' in etkileri

HTB-54 hücreleri üzerinde uygulanan SF ve DMSO her deneyde ayrı ayrı ve deneylerin ortalama sonucu değerlendirildiğinde, hücreler üzerinde belirgin etki göstermemiştir.

Uygulanan kimyasal madde çözücüsü DMSO ile Cis10, Cis100 ve Cis200 sonuçları karşılaştırıldığında ise sisplatinin 10 ve 100 mikromolarda belirgin etkisinin olmadığı görülmektedir.

200 mikromolar dozda ise yaklaşık %25 oranda öldürücü etkiye sahip olduğu görülmektedir. HTB-54 hücrelerinde ilgili dozlarda toksik etkisi görülmemiştir (Tablo 9).

HTB-54	SF	DMSO	Cis 10	Cis 100	Cis 200
Hücre Yoğunluğu	0,941	0,935	0,861	0,797	0,664
	0,911	0,892	0,884	0,884	0,707
	0,780	0,657	0,810	0,760	0,636
Sonuç	0,877	0,828	0,851	0,813	0,669

Tablo 9.HTB-54 hücreleri üzerinde Cis etkileri

*** Farklı zamanlarda uygulanan 3 deney sonucu; her deney kendi içerisinde 4 defa tekrarlandığından toplamda 12 deney sonucu ve ortalama sonucu göstermektedir.

4.2.3.HTB-54 hücrelerinde Tq ve Cis Etkilerinin Karşılaştırılması

HTB-54 kanser hücreleri üzerine eşit şartlarda ve eşit konsantrasyonlarda uygulanan timokinon ve sisplatinin etkileri karşılaştırıldığında her ikisinde 10 mikromolar dozda etki göstermemektedir.

Timokinonun 100 mikromolar dozda sağladığı öldürücü etki, sisplatinin 200 mikromolar dozunda dahi sağlanamamaktadır. Sisplatinin 200 mikromolar %25 öldürücü doza sahip olduğu konsantrasyonda, timokinon toksik etki göstermektedir.

Daha düşük dozda daha fazla öldürücü etkiye sahip olması nedeniyle, bu açıdan HTB-54 kanser hücreleri üzerinde invitro koşullarda timokinonun sisplatine üstün olduğu gösterilmiştir.

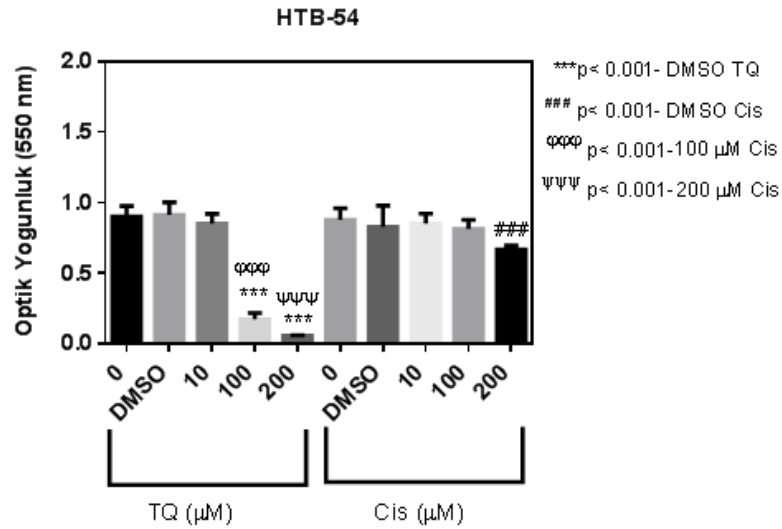
4.2.4.HTB-54 hücrelerinde Tq ve Cis Etkilerinin İstatistiksel Analizi

1. HTB-54 hücrelerinde DMSO ile kıyaslandığında timokinonun 100 mikromolar ve 200 mikromolar konsantrasyonda etkileri istatistiksel anlamlı olarak değerlendirilmiştir ($p < 0.001$). Ancak deneyde timokinonun HTB-54 hücreleri üzerinde 200 mikromolar konsantrasyonda toksik etkili olduğu görülmüştür.

2. DMSO ile kıyaslandığında sisplatinin 200 mikromolar konsantrasyonda etkileri istatistiksel olarak anlamlıdır ancak 100 mikromolar konsantrasyondaki etkisinin istatistiksel olarak anlamı yoktur ($p < 0.001$).

3. HTB-54 hücreleri üzerinde timokinonun 100 mikromolar konsantrasyondaki etkisi, sisplatinin 100 mikromolar konsantrasyondaki etkisinden istatistiksel olarak daha anlamlıdır ($p < 0.001$ -100 μM Cis).

4. HTB-54 hücreleri üzerinde timokinonun 200 mikromolar konsantrasyondaki etkisi, sisplatinin 200 mikromolar konsantrasyondaki etkisinden istatistiksel olarak daha anlamlıdır ($p < 0.001$ -200 μM Cis).



Şekil 2. HTB-54 hücrelerinde Tq ve Cis istatistiksel analizi

4.3.BEAS-2B (Normal Bronş Epiteli) hücre hattı deneyleri (Pasaj No:12)

BEAS-2B hücre hattı uygun koşullarda hücre kültüründe çoğaltılıp pasajlanmıştır. BEAS-2B hücreleri; aynı fiziksel şartlar altında, aynı koşullarda, aynı kişi tarafından çoğaltılıp 24 (4x6) kuyucuk içeren kaplarda, her kuyucukta mikroskop altında %100 hücre doygunluğu (ort. 5000 hücre)' na ulaştığında, 24 saat SF' te bekletilip sonrasında deneye alınmıştır.

Her bir kuyucuğunda ortalama 5000 hücre içeren kapların sütun kısmı timokinon için; SF, DMSO, TQ10, TQ100, TQ200 olarak, sisplatin için; SF, DMSO, Cis10, Cis100 ve Cis200 olarak belirlenmiştir. Bu kapların satır kısmı 4 adet olup, ilgili sütunlardaki kuyucuklara uygulanan maddede teknik hatayı ortadan kaldırmak amacıyla, deney kendi içerisinde 4 defa tekrarlanmaktadır.

Her deney aynı fiziki şartlar, aynı koşullar ve aynı kişi tarafından ancak farklı zamanlarda 3 defa tekrarlanmıştır. Kuyucuk içeren kaplarda kendi içerisinde 4 defa, farklı zamanlarda 3 defa tekrarlanan deney, toplamda 12 (4x3) defa tekrarlanmaktadır. Deneyin verileri için kimyasala maruz bırakılan hücrelerden, canlı olanlarının mitokondriyal enzimine bağlanarak renk değişimi sağlayan MTT solüsyonu uygulanıp, 1 saat sonra sonuçları spektrofotometri cihazı ile alınmaktadır.

Bu şekilde BEAS-2B hücrelerinde timokinon ve sisplatinin, SF (proteinsiz DMEM solüsyonu), DMSO (uygulanan kimyasalı çözen madde) ve kimyasalların 10, 100 ve 200 mikromolar konsantrasyonları kendi içerisinde ve kendi aralarında karşılaştırılmıştır.

4.3.1.BEAS-2B hücrelerinde TQ (timokinon)' nun etkileri

BEAS-2B hücreleri üzerinde uygulanan SF ve DMSO her deneyde ayrı ayrı ve deneylerin ortalama sonucu değerlendirildiğinde, hücreler üzerinde belirgin etki göstermemiştir.

Uygulanan kimyasal madde çözücüsü DMSO ile Tq10, Tq100 ve Tq200 sonuçları karşılaştırıldığında ise timokinonun 10 mikromolar dozda normal bronş epitel hücreleri üzerinde etkisinin olmadığı, 100 mikromolar dozda %50'ye varan oranda öldürücü etkiye sahip olduğu, 200 mikromolar dozda ise her üç deneydede %95' ten daha fazla öldürücü olduğu görülmektedir (Tablo 10).

BEAS-2B	SF	DMSO	Tq 10	Tq 100	Tq 200
Hücre Yoğunluğu	1,402	1,316	1,290	0,421	0,054
	1,398	1,188	1,374	0,715	0,058
	1,157	1,126	1,284	0,758	0,052
Sonuç	1,319	1,210	1,316	0,631	0,054

Tablo 10.BEAS-2B hücreleri üzerinde TQ etkileri

*** Farklı zamanlarda uygulanan 3 deney sonucu; her deney kendi içerisinde 4 defa tekrarlandığından toplamda 12 deney sonucu ve ortalama sonucu göstermektedir.

4.3.2.BEAS-2B hücrelerinde Cis (sisplatin)' in etkileri

BEAS-2B hücreleri üzerinde uygulanan SF ve DMSO her deneyde ayrı ayrı ve deneylerin ortalama sonucu değerlendirildiğinde, hücreler üzerinde belirgin etki göstermemiştir.

Uygulanan kimyasal madde çözücüsü DMSO ile Cis10, Cis100 ve Cis200 sonuçları karşılaştırıldığında ise sisplatinin 10 mikromolarda belirgin etkisinin olmadığı görülmektedir.

100 mikromolarda %20 öldürücü etki gösterdiği ve kanser hücrelerinde etkin dozu olan 200 mikromolar dozda ise yaklaşık %50 oranda öldürücü etkiye sahip olduğu görülmektedir (Tablo 11).

BEAS-2B	SF	DMSO	Cis 10	Cis 100	Cis 200
Hücre Yoğunluğu	1,502	1,418	1,404	1,155	0,782
	1,550	1,430	1,368	1,075	0,749
	1,434	1,312	1,324	1,101	0,725
Sonuç	1,495	1,386	1,365	1,110	0,752

Tablo 11.BEAS-2B hücreleri üzerinde Cis etkileri

*** Farklı zamanlarda uygulanan 3 deney sonucu; her deney kendi içerisinde 4 defa tekrarlandığından toplamda 12 deney sonucu ve ortalama sonucu göstermektedir.

4.3.3.BEAS-2B hücrelerinde Tq ve Cis Etkilerinin Karşılaştırılması

BEAS-2B normal bronş epitelyum hücreleri üzerine eşit şartlarda ve eşit konsantrasyonlarda uygulanan timokinon ve sisplatinin etkileri karşılaştırıldığında her ikisinde 10 mikromolar dozda etki göstermemektedir.

Timokinonun kanser hücreleri üzerindeki etkin dozu olan 100 mikromolar dozda yaklaşık %50 öldürücü etki, kanser hücreleri üzerine toksik doz olan 200 mikromolar konsantrasyonda %95' lere varan öldürücü etkiye sahiptir.

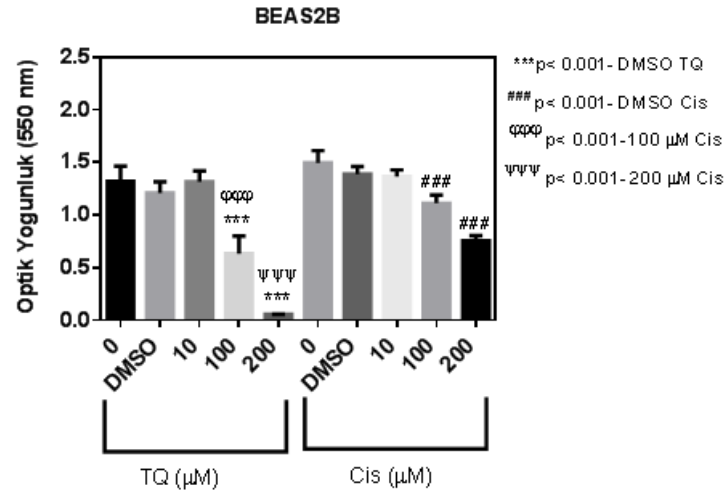
Sisplatinin kanser hücreleri üzerinde etkin dozu olan 200 mikromolar konsantrasyonda yaklaşık %50 öldürücü doza sahip olduğu görülmektedir. Timokinonun etkin dozu olan 100 mikromolar konsantrasyonda ise sisplatin normal bronş epiteli üzerinde yaklaşık %20 öldürücü etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Ancak kanser hücreleri üzerinde sisplatin 100 mikromolar dozda etki göstermemektedir. Aynı konsantrasyonlarda timokinon normal bronş epiteli

üzerinde sisplatine göre daha öldürücü etkiye sahiptir. Ancak kanser hücreleri üzerinde etkin oldukları dozlarda (timokinon için 100, sisplatin için 200) normal bronş epiteli üzerinde her ikisinde yaklaşık %50 öldürücü etkiye sahip oldukları görülmektedir.

4.3.4.BEAS-2B hücrelerinde Tq ve Cis Etkilerinin İstatistiksel Analizi

1. BEAS-2B hücrelerinde DMSO ile kıyaslandığında timokinonun 100 mikromolar ve 200 mikromolar konsantrasyonda etkileri istatistiksel anlamlı olarak değerlendirilmiştir ($p<0.001$).
2. DMSO ile kıyaslandığında sisplatinin 100 ve 200 mikromolar konsantrasyonda etkileri istatistiksel anlamlı olarak değerlendirilmiştir ($p<0.001$).
3. BEAS-2B hücreleri üzerinde timokinonun 100 mikromolar konsantrasyondaki etkisi, sisplatinin 100 mikromolar konsantrasyondaki etkisinden istatistiksel olarak daha anlamlıdır ($p<0.001$ -100 μ M Cis).
4. BEAS-2B hücreleri üzerinde timokinonun 200 mikromolar konsantrasyondaki etkisi, sisplatinin 200 mikromolar konsantrasyondaki etkisinden istatistiksel olarak daha anlamlıdır ($p<0.001$ -200 μ M Cis).
5. BEAS-2B normal bronş epiteli hücreleri üzerinde aynı konsantrasyonlarda timokinon sisplatine göre daha öldürücü etkili olduğu istatistiksel olarak görülmektedir. Bu açıdan sisplatin, timokinona üstün olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.BEAS-2B hücrelerinde Tq ve Cis istatistiksel analizi

5.TARTIŞMA

İnsidanslarının sürekli olarak artması, yüksek mortalite oranları, yüksek tedavi maliyetleri, buna karşın önemli bir bölümünün tam olarak tedavi edilememeleri nedeniyle dünya genelinde kanserler en önemli sağlık sorunlarından biri olma özelliklerini sürdürmektedirler. Yapılan istatistiksel çalışmalar, ölüm nedenleri sıralamasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada kansere bağlı ölümlerin yer aldığını göstermektedir. Ülkemizde kansere bağlı ölüm oranı %11,4 olarak bildirilmektedir (7).

Akciğer kanserinde tanı genellikle geç konulmaktadır. Bunun nedeni akciğerin anatomisinden kaynaklanmaktadır. Semptomlar ortaya çıkmadan, akciğerdeki bir nodül ileri derecede büyüyebilir ve akciğer dışına yayılabilir. Böylelikle hastalar yaygın hastalık döneminde görülürler ve bu hastaların % 80' i opere edilemez. Bu nedenle 5 yıllık mortalite oranları % 85- 90' lardadır.

Asemptomatik hastalar için 5 yıllık sağkalım % 18 iken, primer tümöre ait semptomu olanlarda bu oran % 12'dir. Nonspesifik semptomları olanlarda 5 yıllık sağkalım oranı % 6 iken, metastaz bölgesi ile ilgili semptomu bulunanlarda 5 yıllık sağkalım söz konusu değildir (54).

Bütün akciğer kanserlerinin %75'ini KHDAK oluşturur. Ancak olguların çoğuna evre III ve IV de tanı konduğu için ortalama 5 yıllık yaşam şansı %13 oranındadır. Tanı konulduğunda KHAK'lerin % 60'ı, KHDAK'lerinin ise % 30-40'ı evre IV metastatik tümördür.

Evre IA, IB, IIA, IIB, IIIA akciğer kanserinde öncelikli ve standart tedavi cerrahidir. Anatomik rezeksiyon (segmentektomi, lobektomi, pnömonektomi) tercih edilmektedir. Ancak solunum rezervi nedeniyle wedge rezeksiyon da uygulanması mümkündür.

T1 N0 M0 olgularında cerrahi sonrası 5 yıllık sağkalım %80' dir. Evre IIA ve IIB akciğer kanserinde cerrahi tedavi sonrası 5 yıllık sağkalım %39-48 arasında değişmektedir. Karinaya 2 cm' lik mesafedeki T3 N0 M0 olgularında sleeve rezeksiyon uygulanmaktadır. 5 yıllık sağkalım %40 olarak bildirilmiştir (122).

Evre IIIA T3 N1 olgularında tedavi cerrahidir. 5 yıllık yaşam oranı %37 olarak bildirilmiştir. Tek istasyonda N2 varlığı cerrahi tedaviden yarar görürken, birden çok istasyonda N2, bulky N2 ve ektranodal N2 kötü prognostik göstergedir.

5 yıllık yaşam minimal N2 de %41 diğer N2 de %5-10 dur. N2 pozitif olgularda neoadjuvanm kemoterapi sonrası uygulanan cerrahi tedavi hastanın sağkalımına katkı sağlamaktadır. N2 pozitif olguların sadece cerrahi yapılanlarda sağkalım 11 ay iken, neoadjuvan tedavi sonrası cerrahi uygulanan olgularda sağkalım 64 ay olarak bildirilmektedir (122).

Evre IIIB olgularının standart tedavisi kemoradyoterapidir. Ancak seçilmiş olguların cerrahi şansı mümkündür. Aynı lobta satellit nodül nedeniyle T4 kabul edilen rezektabl T4 N0/1 M0 olgularda ve karina invazyonu olgularında karinal rezeksiyon ve/veya sleeve rezeksiyon tedavileri mümkündür. Evre IIIB olgularında cisplatin içeren kombine kemoterapi sonrası yapılan radyoterapinin, tek başına uygulanan radyoterapiye göre avantaj sağladığı gösterilmiştir.

Evre IV olgularda kemoterapi uygulanmaktadır. Kemoterapi hastanın yaşam kalitesini düzeltir, yaşam süresini uzatır. Ortalama 4 kür kemoterapi yapılması yeterlidir. Genellikle cisplatin içeren kombinasyonlar tercih edilmektedir.

İleri yaş ve böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda tek ilaç olarak vinorelbin, gemcitabilin tedavisi uygulanmaktadır. Paclitaxel, docetaxel, gemcitabine, vinorelbine, irinotecanin, cisplatin veya carboplatinli

kombinasyonların cevap oranları ve yaşam süresi açısından birbirine üstünlüğü gösterilmemiştir. Ortalama sağkalım süresi 18-64 haftadır (122).

Onkolojik medikal tedaviler içerisinde; birinci jenerasyon, ikinci jenerasyon ve modern veya üçüncü jenerasyon kemoterapi tedavileri uygulanmaktadır. İkinci jenerasyon ilaç grubu cisplatin, ifosfamid, mitomisin C, vindesin ve vinblastin ilaçlarını içermektedir. Bu ilaçların her birisi ayrı ayrı hastalığın yanıt oranını istatistiksel anlamlı bir şekilde artırmaktadır (123).

Üçüncü jenerasyon aktif ilaçlar gemsitabin, paclitaxel, docetaxel ve vinorelbini içermektedir (124). Bu grupta gemsitabin dışında ki ilaçların yapılan çalışmalarda yalnız destek tedavisi ile karşılaştırıldığında sağkalımı iyileştirdiği gösterilmiştir (125).

Sisplatin-bazlı rejimler yaygın olarak kullanılmaktadır. Cisplatin vindesin, mitomisin C ve/veya ifosfamid gibi eski ilaçlarla veya gemsitabin, docetaxel, paclitaxel veya vinorelbin gibi yeni ilaçlarla kombine edilmektedir. Tek ajan ile tedaviye göre polikemoterapi daha iyi sonuçlar vermektedir. Hem tedaviye yanıt hem de sağkalım açısından iki ilaçlı rejimler, tek ilaçlı rejimlerden daha üstündür. Üç ilaçlı rejimler sadece yanıt bakımından iki ilaçlı rejimlerden daha iyidir (126).

Akciğer kanserinde hücre tipi, hastalığın evresi, hastanın performans durumu, kilo kaybı, kardiyopulmoner rezerv, tümörün biyolojik davranışı tedavi seçiminde etkili faktörler arasında sayılmaktadır.

Cerrahi tedavi erken dönem akciğer kanserlerinde ve opere edilebilir hastalarda esas tedavi yöntemidir. Buna rağmen hastaların çok az kısmı tanı konulduğu anda operabl olup, büyük kısmı (%20-25) inoperabldır. Cerrahi tedavi ayrıca tanı ve palyasyon amaçlıda uygulanmaktadır.

İnoperabl ve cerrahi tedavi uygulanamayan hastaların tedavisinde, kemoterapi ve radyoterapi uygulanmaktadır. Son dönemlerde hedefe yönelik tedaviler (gefitinib, erlotinib) uygulanmakta olsa da, kemoterapötik rejimler içerisinde cisplatin oldukça sık tercih edilen bir ajandır. Bu nedenle çalışmamızda *nigella sativa*'nın biyoaktif komponenti olan timokinon, aynı dozlarda cisplatin ile karşılaştırılmıştır.

Nigella Sativa (çörek otu); ülkemizde halk arasında siyah tohum, siyah kimyon, bereket taneleri olarak bilinmekte olup, sık kullanılmaktadır. Çörek otu tohumu %0,4 oranında uçucu yağ içermektedir. Bu uçucu yağdan elde edilen, biyoaktif komponent olan timokinon maddesinin invitro çalışmamızda akciğer kanser hücreleri üzerinde etkileri araştırılmış ve sisplatin ile karşılaştırılmıştır.

Daha önce yapılmış olan birçok çalışmada çörekotunun antiülserojenik, antibakteryel, antiinflamatuvar, analjezik, antioksidan, hipoglisemik, bağışıklık sistem güçlendirici etkisinin yanı sıra antitümöral ve antikanserojenik etkileri gösterilmiştir (95-101).

Bizim çalışmamızda; A549 (akciğer bronkoalveoler karsinom), HTB54 (akciğer epidermoid karsinom) ve BEAS2B (normal bronş epiteli) hücre hatları kültür ortamında çoğaltılıp aynı fiziki şartlar, aynı koşullar ve aynı kişi tarafından ancak farklı zamanlarda deney 3 defa tekrarlanarak, timokinon ve sisplatin 10,100 ve 200 μ M konsantrasyonları karşılaştırılmış ve sonuçlar spektrofotometri ile elde edilmiştir.

A549 kanser hücreleri üzerine eşit şartlarda ve eşit konsantrasyonlarda uygulanan timokinon ve sisplatinin etkileri karşılaştırıldığında her ikisinde 10 μ M dozda etki göstermemektedir. Timokinonun 100 μ M dozda sağladığı öldürücü etki, sisplatinin 200 μ M dozunda sağlanmaktadır. Sisplatinin 200 μ M etkin doza sahip olduğu konsatrasyonda, timokinon toksik etki göstermektedir. Daha düşük dozda aynı öldürücü etkiye sahip olması nedeniyle, bu açıdan A549 kanser hücreleri üzerinde invitro koşullarda timokinonun sisplatine üstün olduğu

gösterilmiştir. A549 hücrelerinde timokinonun 100 ve 200 μM ile sisplatinin 200 μM konsantrasyondaki etkileri istatistiksel olarak anlamlıdır.

Timokinonun toksik etki gösterdiği 200 μM konsantrasyonda sisplatin ancak etki gösterebilmektedir. Dolayısıyla 100 μM ve 200 μM konsantrasyonda timokinonun etkisi, sisplatinin etkisinden istatistiksel olarak daha anlamlıdır. Akciğer bronkoalveoler karsinomda invitro koşullarda timokinonun sisplatinden daha üstün olduğu gösterilmiştir.

HTB-54 kanser hücreleri üzerine eşit şartlarda ve eşit konsantrasyonlarda uygulanan timokinon ve sisplatinin etkileri karşılaştırıldığında her ikisinde 10 μM dozda etki göstermemektedir. Timokinonun 100 μM dozda sağladığı öldürücü etki, sisplatinin 200 μM dozunda dahi sağlanamamaktadır.

Sisplatinin 200 μM %25 öldürücü doza sahip olduğu konsantrasyonda, timokinon toksik etki göstermektedir. Daha düşük dozda daha fazla öldürücü etkiye sahip olması nedeniyle, bu açıdan HTB-54 kanser hücreleri üzerinde invitro koşullarda timokinonun sisplatine üstün olduğu gösterilmiştir. HTB-54 hücrelerinde timokinonun 100 μM ve 200 μM konsantrasyonda etkisi ile sisplatinin 200 μM konsantrasyonda ki etkisi istatistiksel olarak anlamlıdır.

Sisplatinin 100 μM konsantrasyonda etkisinin istatistiksel olarak anlamı yoktur. Dolayısıyla timokinonun 100 μM konsantrasyonda ki etkisi, sisplatinin hem 100 μM hemde 200 μM konsantrasyondaki etkisinden istatistiksel olarak daha anlamlıdır. Akciğer epidermoid karsinomda invitro koşullarda timokinonun sisplatinden daha üstün olduğu gösterilmiştir.

BEAS-2B normal bronş epitelyum hücreleri üzerine eşit şartlarda ve eşit konsantrasyonlarda uygulanan timokinon ve sisplatinin etkileri karşılaştırıldığında her ikisinde 10 μM dozda etki göstermemektedir.

Timokinonun kanser hücreleri üzerindeki etkin dozu olan 100 μ M dozda yaklaşık %50 öldürücü etki, kanser hücreleri üzerine toksik doz olan 200 μ M - öldürücü doza sahip olduğu görülmektedir.

Timokinonun etkin dozu olan 100 μ M konsantrasyonda ise sisplatin normal bronş epiteli üzerinde yaklaşık %20 öldürücü etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Ancak kanser hücreleri üzerinde sisplatin 100 μ M dozda etki göstermemektedir.

Aynı konsantrasyonlarda timokinon normal bronş epiteli üzerinde sisplatine göre daha öldürücü etkiye sahiptir. Ancak kanser hücreleri üzerinde etkin oldukları dozlarda (timokinon için 100 μ M, sisplatin için 200 μ M) normal bronş epiteli üzerinde her ikiside yaklaşık %50 öldürücü etkiye sahip oldukları görülmektedir.

BEAS-2B hücrelerinde timokinonun ve sisplatinin 100 μ M ve 200 μ M konsantrasyondaki etkileri istatistiksel olarak anlamlıdır. Timokinonun 100 μ M konsantrasyonu sisplatinin 100 μ M konsantrasyonundan ve timokinonun 200 μ M konsantrasyonu sisplatinin 200 μ M konsantrasyonundan istatistiksel olarak daha anlamlı etki göstermektedir.

Ancak kanser hücreleri üzerinde timokinon 200 μ M konsantrasyonda toksik etkili iken sisplatin 200 μ M konsantrasyonda ancak etkilidir. Timokinonun kanser hücrelerindeki etkin dozu 100 μ M konsantrasyondur. Dolayısıyla her iki madde etkin dozlarında (timokinon 100 μ M ve sisplatin 200 μ M) BEAS-2B normal bronş epiteli üzerinde her ikiside yaklaşık %50 öldürücü etkiye sahip oldukları görülmektedir.

Çalışmamızda akciğer bronkoalveoler karsinom ve epidermoid karsinom hücrelerinde invitro koşullarda timokinonun etkisi, sisplatinin etkisinden istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu gösterilmiştir.

Normal bronş epiteli hücrelerinde ise invitro koşullarda aynı konsantrasyonda istatistiksel olarak timokinon daha etkili iken etkin dozlarında (timokinon 100 μ M ve sisplatin 200 μ M) normal bronş epiteli üzerinde benzer etkiye sahip oldukları görülmektedir. Dolayısıyla timokinon etkin dozlarda sisplatinden daha üstündür. Akciğer kanserinde gerekli çalışmalar sonrası, timokinonun tedavi seçeneği olarak kullanılması düşünülmektedir.



6.SONUÇ VE ÖNERİLER

1. A549 hücrelerinde DMSO ile kıyaslandığında timokinonun 100 mikromolar ve 200 mikromolar konsantrasyonda etkileri istatistiksel anlamlı olarak değerlendirilmiştir ($p<0.001$). Ancak deneyde timokinonun A549 hücreleri üzerinde 200 mikromolar konsantrasyonda toksik etkili olduğu görülmüştür.

2. A549 hücreleri DMSO ile kıyaslandığında sisplatinin 200 mikromolar konsantrasyonda etkileri istatistiksel olarak anlamlıdır ancak 100 mikromolar konsantrasyondaki etkisinin istatistiksel olarak anlamı yoktur ($p<0.001$).

3. A549 hücreleri üzerinde timokinonun 100 mikromolar konsantrasyondaki etkisi, sisplatinin 100 mikromolar konsantrasyondaki etkisinden istatistiksel olarak daha anlamlıdır ($p<0.01$ -100 μ M Cis).

4. A549 hücreleri üzerinde timokinonun 200 mikromolar konsantrasyondaki etkisi, sisplatinin 200 mikromolar konsantrasyondaki etkisinden istatistiksel olarak daha anlamlıdır ($p<0.01$ -200 μ M Cis).

5. BEAS-2B hücrelerinde DMSO ile kıyaslandığında timokinonun 100 mikromolar ve 200 mikromolar konsantrasyonda etkileri istatistiksel anlamlı olarak değerlendirilmiştir ($p<0.001$).

6. BEAS-2B hücreleri DMSO ile kıyaslandığında sisplatinin 100 ve 200 mikromolar konsantrasyonda etkileri istatistiksel anlamlı olarak değerlendirilmiştir ($p<0.001$).

7. BEAS-2B hücreleri üzerinde timokinonun 100 mikromolar konsantrasyondaki etkisi, sisplatinin 100 mikromolar konsantrasyondaki etkisinden istatistiksel olarak daha anlamlıdır ($p<0.001$ -100 μ M Cis).

8. BEAS-2B hücreleri üzerinde timokinonun 200 mikromolar konsantrasyondaki etkisi, sisplatinin 200 mikromolar konsantrasyondaki etkisinden istatistiksel olarak daha anlamlıdır ($p<0.001$ -200 μ M Cis).

9. BEAS-2B normal bronş epiteli hücreleri üzerinde aynı konsantrasyonlarda timokinon sisplatine göre daha öldürücü etkili olduğu istatistiksel olarak görülmektedir. Bu açıdan sisplatin, timokinona üstün olarak değerlendirilmiştir.

10. HTB-54 hücrelerinde DMSO ile kıyaslandığında timokinonun 100 mikromolar ve 200 mikromolar konsantrasyonda etkileri istatistiksel anlamlı olarak değerlendirilmiştir ($p<0.001$). Ancak deneyde timokinonun HTB-54 hücreleri üzerinde 200 mikromolar konsantrasyonda toksik etkili olduğu görülmüştür.

11. HTB-54 hücreleri DMSO ile kıyaslandığında sisplatinin 200 mikromolar konsantrasyonda etkileri istatistiksel olarak anlamlıdır ancak 100 mikromolar konsantrasyondaki etkisinin istatistiksel olarak anlamı yoktur ($p<0.001$).

12. HTB-54 hücreleri üzerinde timokinonun 100 mikromolar konsantrasyondaki etkisi, sisplatinin 100 mikromolar konsantrasyondaki etkisinden istatistiksel olarak daha anlamlıdır ($p<0.001$ -100 μ M Cis).

13. HTB-54 hücreleri üzerinde timokinonun 200 mikromolar konsantrasyondaki etkisi, sisplatinin 200 mikromolar konsantrasyondaki etkisinden istatistiksel olarak daha anlamlıdır ($p<0.001$ -200 μ M Cis).

7.KAYNAKLAR

1. İtil O. Akciğer kanserlerinin epidemiyolojisi ve etiolojisi. In:Haydaroğlu A. Akciğer kanserleri; tanı ve tedavi. First edition. İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi 2000; 15-34.
2. Halilçolar H, Tatar D, Ertuğrul G, Çakan A, Acıtaş MG, Kömürcüoğlu B. Epidemiyoloji. In:Akkoçlu A, Öztürk C, eds.Akciğer kanseri; multidisipliner yaklaşım. First edition. Ankara, Toraks kitapları 1999; 1:17-22.
- 3.Skuladottir H, Olsen JH. Epidemiology of lung cancer. Eur Respir Mon, 2001, 17, 1–12.
- 4.Toraks Derneği Akciğer Maligniteleri Çalışma Grubu. Akciğer kanseri tanı ve tedavi rehberi.Toraks Dergisi 2006; Ağustos Ek 2; 1-35.
5. Van Zandwijk N. Aetiology and prevention of lung cancer. Eur Respir Mon, 2001; 17:13–33.
6. World Health Organization [internet sitesi]. Global Health Observatory. Data and Statistics. Life Tables 1990, 2000, 2008 by sex for the World Health Statistics 2010.
7. Pulgat E, Tugay D, Öncül HG, Arı HO. TC Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2008, Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Hıfzısıhha Mektebi Müdürlüğü. İç: Mollahaliloğlu S, Kodsak M, Eryılmaz Z, ed. Ankara, Türkiye, 2010:1-129.
8. Tanoue LT, Matthay RA. Lung Cancer: Epidemiology and Carcinogenesis. In: Shields TW ed. General Thoracic Surgery. Sixth edition. Philadelphia: Willams and Wilkins, 2005: 1425-41.
- 9.Simonato L, Agudo A, Ahrens W, et al. Lung cancer an, cigarette smoking in Europe: an update of risk estimatesandan assessment of inter-country heterogeneity. Int JCancer 2001;91:876-87.
10. Öztürk C, Yurdakul AS. Pulmoner neoplazmlar. In:Türktaş H. Synopsis of diseases of the chest. 3th eds. Ankara, Güneş kitabevi 2006; 337-422.

11. Zablotska LB, Angevine AH, Neugut AI. Therapy-induced thoracic malignancies. *Clinics in Chest Medicine* 2004;25: 217-224.
12. Van Loon AJ, Brug J, Goldbohm RA, et al. Differences in cancer incidence and mortality among socio-economic groups. *Scand J Soc Med* 1995;23:110-20.
13. Zablotska LB, Neugut AI. Lung carcinoma after radiation therapy in women treated with lumpectomy or mastectomy for primary breast carcinoma. *Cancer* 2003;97: 1404-11.
14. Swerdlow AJ, Barber JA, Hudson GV, et al. Risk of second malignancy after Hodgkin's diseases in a collaborative British cohort: the relation to age at treatment. *J Clin Oncol* 2000;18:498-509.
15. Spiro SG, Porter JC. Lung cancer--where are we today? Current advances in staging and nonsurgical treatment. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Nov 1;166(9):1166-96.
16. Travis WD. Update on small cell carcinoma and its differentiation from squamous cell carcinoma and other non-small cell carcinomas. *Mod Pathol* 2012; 25: 512-30.
17. Sica G, Yoshizawa A, Sima CS, Azzoli CG, Downey RJ, Rusch VW et al. A grading system of lung adenocarcinomas based on histologic pattern is predictive of disease recurrence in stage I tumors. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 1155-62.
18. Bunn PA. Epidemiologic aspects of lung cancer. *Cancer J Clin* 2000;50:7-33.
19. Siegfried SM. Biology and chemoprevention of lung cancer. *Chest* 1999;113(Suppl):40S-45S.
20. Wei Q, Spitz MR. The role of DNA repair capacity in susceptibility to lung cancer: A review. *Cancer and Metastasis Reviews* 1997;16:295-307.

21. Akbulut H, Akbulut KG. Karsinogenez In: Içli F, ed. Tıbbi Onkoloji. Ankara, ANTIP Afi Tıp Kitapları ve Bilimsel Yayınlar 1997:23-38.
22. Fong KW, Sekido Y, Minna JD. Molecular pathogenesis of lung cancer. J Thorac Cardiovasc Surg 1999;118:1136-1152.
23. Jacobson DR. Ras mutations in lung cancer. In: Brambilla C, Brambilla E, eds. Lung tumors fundamental biology and clinical management. New York, Marcel Dekker Inc.1999:139-156.
24. Mabry M. Activating oncogenes in lung cancer. In: Kane MA, Bunn PA, eds. Biology of lung cancer. New York, Marcel Dekker Inc. 1998:391-412.
25. Hussain SP, Harris CC. Molecular epidemiology and carcinogenesis: endogenous and exogenous carcinogens. Mutation Research 2000;311-322.
26. Bolon I, Robert C. Matrix proteases and transcription factors in the process of dissemination. In: Brambilla C, Brambilla E, eds. Lung tumors Fundamental biology and clinical management New York, Marcel Dekker Inc.19 99:399-422.
27. Spivack SD, Fasco MJ, Walker VE, Kaminsky LS. The molecular epidemiology of lung cancer. Crit Rev Toxicology 1997;27:319-365.
28. Siegfried SM. Biology and chemoprevention of lung cancer. Chest 1999;113(Suppl):40S-45S.
29. Fong KM, Minna JD. Molecular biology of lung cancer: clinical implication. Clinics In Chest Medicine 2002;23:83-101.
30. Groeger AM, Esposito V, Mueller MR, ve ark. Advances in the understanding of lung cancer. Anticancer Research 1997;17:2519-2522.
31. Lecture GFF. Molecular mechanisms of lung cancer. Interaction of environmental and genetic factors. Chest 1996;109 (Suppl): 14S-19S.
32. Davidson BJ, Hsu TC, Schantez SP. The genetics of tobaccoinduced malignancy. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1993;119:1198-1205.

33. Sozzi G. Deletions of the short arm of chromosome 3 and the FHIT gene in lung cancer. In: Brambilla C, Brambilla E, eds. Lung tumors fundamental biology and clinical management. N KÖKTÜRK ve ark. 137 New York, Marcel Dekker Inc.1999:157-171.
34. Scalfani RA, Schaurer IE, Langan TA. Alterations in cell cycle conyrol in lung cancer. In: Kane MA, Bunn PA , eds. Biology of lung cancer. New York, Marcel Dekker Inc. 1998;295-315.
35. Çay F. Hücre siklusu ve apoptozis. In: Içli F, eds. Tıbbi Onkoloji. Ankara, ANTIP Afi Tıp Kitapları ve Bilimsel Yayınlar. 1997: 17-22.315.
36. Davidson BJ, Hsu TC, Schantez SP. The genetics of tobaccoinduced malignancy. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1993;119:1198-1205.
37. Fernandes AM, Hamburger AW, Gerwin BI. Production of epidermal growth factor related ligands in tumorigenic and benign human lung epithelial cells. Cancer Letters 1999; 142: 55-63.
38. Takanami I, Imamura T, Hashizume T, ve ark. Expression od PDGF, IGF-II, bFGF and TGF- β 1 in pulmonary adenocarcinoma. Path Res Pract 1996;192:1113-1120.
39. Heasley LE, Johnson GL. Signal transduction abnormalities in lung cancer. In: Kane MA, Bunn PA, eds. Biology of lung cancer. New York, Marcel Dekker Inc. 1998;371-390.
40. 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 Research 1998;19:221-228.
41. Ciardello F. Epidermal growth factor receptor tyosine kinase inhibitors as anticancer agents. Drugs 2000;60 (Supl 1):25-32.

42. Gorgoulis V, Aninos D, Mikou P, ve ark. Expression of EGF, TGF- α and EGFR in squamous cell lung carcinomas. *Anticancer Research* 1992;12:1183-188.
43. Kılıçoğlu CE. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde epidermal growth faktör ekspresyonunun prognostik değeri. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 2002.
44. Hasegawa Y, Takanashi S, Kanehira Y, ve ark. Transforming growth factor- β 1 level corelates with angiogenesis, tumor progression, and prognosis in patients with nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* 2000;91:964-971.
45. Hasegawa Y, Takanashi S, Kanehira Y, ve ark. Transforming growth factor- β 1 level corelates with angiogenesis, tumor progression, and prognosis in patients with nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* 2000;91:964-971.
46. Boldrini L, Calicini A, Samaritani E, ve ark. Tumour necrosis factor- α and transforming growth factor- α are significantly associated with better prognosis in nonsmall cell lung carcinoma: putative relation with BCL-2 mediated neovascularization. *Br J Cancer* 2000;83:480-486.
47. Colasante A, Mascetra N, Brunetti M, ve ark. Transforming growth factor- β 1, interleukin-8 and , interleukin-1 in nonsmall cell lung tumors. *Am J Crit Care Med* 1997;156:968-973.
48. Hastürk S. Akciğer kanserinin moleküler biyolojisi. In: Hastürk S, Yüksel M eds, Akciğer Kanseri. İstanbul, 2000:1-27.
49. Minna JD. The molecular biology of lung cancer pathogenesis. *Chest* 1993;103:445S-456S.
50. Passlick B, Sienel W, Seen-Hibler R, ve ark. Overexpression of matrix metalloproteinase 2 predicts unfavorable outcome in early stage nonsmall cell lung cancer. *Clin Cancer Research* 2000;6:3944-3948.
51. Cox G, Jones JL, O'Byrne KJ. Matrix metalloproteinase 9 and the epidermal growth factor signal pathway in operable nonsmall cell lung cancer. *Clin Cancer Research* 2000;6:2349-2355.

52. Pezella F, Gatter KC, Pastorino U. Angiogenesis in lung cancer In: Brambilla C, Brambilla E, eds. Lung tumors fundamental biology and clinical management. New York, Marcel Dekker Inc.1999:383-398.
53. Rak J, Yu JL, Klement G, Kerbel RS. Oncogenes and angiogenesis: signaling three- dimensional tumor growth. J Invest Derm Symposium Proc 2000;5:24-33.
54. Spiro SG, Gould MK, Colice GL. American College of Chest Physicians. Initial evaluation of the patient with lung cancer: symptoms, signs, laboratory tests, and paraneoplastic syndromes: ACCP evidenced-based clinical practice guidelines (2nd edition). Chest 2007; 132(3):149-160.
55. Kraut M, Wozniak A. Clinical Presentation.In: Pass HI, Mitchell JB, Johnson DH, Turrisi AT, Minna JD, Eds. Lung cancer. 2nd Ed. Philadelphia: Lipincott Williams&Wilkins 2000; 29:521-534.
56. Carr DT, Holoye PY, Hong WK. Broncogenic Carcinoma. Murrey JF, Nadel JA, Eds. Textbook of Respiratory Medicine. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1994: 1528–1596.
57. Mcloud TC. Imaging techniques for diagnosis and staging of lung cancer. Clin Chest Med 2002; 23:123-35.
58. Spiro SG, JC Porter. Lung Cancer- Where are we today? Current advances in staging and nonsurgical treatment. Am J Respir Crit Care Med 2002; 166:1166-1196.
59. Rivera MP, Mehta AC. Initial Diagnosis of Lung Cancer Chest 2007; 132; 131-148.
60. Shulman L. Ost D. Advances in bronchoscopic diagnosis of lung cancer. Curr Opin Pulm Med 2007; 13:271–277.
61. Kodallı N. Göğüs Cerrahisinde Görüntüleme Yöntemleri. Yüksel M, Kalaycı G. Ed. Göğüs Cerrahisi. İstanbul: Özlem Grafik Matbaacılık; 2001; 49–63.

62. Tunacı A. Akciğer kanserinin görüntülenmesinde güncel yaklaşımlar. Hastürk S, Yüksel M. Ed. Akciğer Kanseri. İstanbul: Özlem Grafik Matbaacılık; 2000; 57–77.
63. Gerard A, Silvestri, Michael K, Gould, Mitchell L, Lynn T, Tanoue, Douglas M, Eric T, Frank D. Noninvasive staging of non-small cell lung cancer: ACCP Evidencebased clinical practice guidilines (2nd edition). Chest 2007; 132:178-201.
64. Gould MK, Kuschner WG, Rydzak CE, Maclean CC, Demas AN, Chan JK, Owens DK. Test performance of positron emission tomography and computed tomography for mediastinal staging in patients with nonsmall-cell lung cancer: a meta-analysis. Ann Intern Med 2003; 139:879-892.
65. PET El Kitabı Erişim: http://www.gata.edu.tr/dahilibilimler/nukleertip/dosya/pet_el_kitabi.pdf
66. Gallagher BM, Ansari A, Atkins H, Casella V, Christman DR, Fowler JS, Ido T, MacGregor RR, Som P, Wan CN, Wolf AP, Kuhl DE, Reivich M. Radiopharmaceuticals XXVII. 18F-labeled 2-deoxy-2fluoro-D-glucose metabolism in vivo. Tissue distribution and imaging studies in animals. J Nucl Med 1977; 18: 990- 996.
67. Delbeke D. Verbal communication. GE PET Masters Series Clinical PET; 2002; 18- 20.
68. Delbeke D. Oncological applications of FDG PET imaging: Brain tumors, colorectal cancer, lymphoma, and melanoma. J Nucl Med,1999; 40: 591-603.
69. Cook GJ, Maisey MN. The current status of clinical PET imaging. Clin Radiol 1996; 51:603–613.
70. Reske SN, Kotzerke J. FDG PET for clinical use. Results of the 3rd German Interdisciplinary Consensus Conference, "Onko-PET III". Eur J Nucl Med, 2001; 28:1707-1723.

71. Herder GJ, Golding RP, Hoekstra OS, Comans EF, Teule GJ, Postmus PE, Smit EF. The performance of (18)F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in small solitary pulmonary nodules. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2004; 31:1231–1236.

72. Gambhir SS, Czernin J, Schwimmer J, Silverman DH, Coleman RE, Phelps ME. A tabulated summary of the FDG PET literature. *J Nucl Med* 2001; 42:1-93.

73. Krüger S, Buck AK, Mottaghy FM, Hasenkamp E, Pauls S, Schumann C, Wibmer T, Merk T, Hombach V, Reske SN. Detection of bone metastases in patients with lung cancer: 99mTc-MDP planar bone scintigraphy, 18F-fluoride PET or 18F-FDG PET/CT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2009; 36(11):1807-1812.

74. Cameron R, Loehrer Sr, Thomas CR Jr. Neoplasms of the Mediastinum. In: DeVita VT HS, Rosenberg SA, Eds. *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 7th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 2005; 845-860.

75. Kostakoglu L, Goldsmith SJ. 18F-FDG PET evaluation of the response to therapy for lymphoma and for breast, lung and colorectal carcinoma. *J Nucl Med* 2003; 44:224-239.

76. Higashi K, Ueda Y, Arisaka Y, Sakuma T, Nambu Y, Oguchi M, Seki H, Taki S, Tonami H, Yamamoto I. 18F-FDG uptake as a biologic prognostic factor for recurrence in patients with surgically resected non-small cell lung cancer. *J Nucl Med* 2002; 43:39-45.

77. Porte H, Roulmilhac L, Eraldi L. The role of mediastinoscopy in the diagnosis of mediastinal lymphadenopathy. *Eur J Cardiothorac Surg* 1998;13:196-9.

78. Poon RB. Invasive diagnostic procedures. In: Shilds TW, Locicero III J, Poon RB, Rusch VW (eds). *General Thoracic surgery*, 6th ed. Philadelphia, Lippincot Williams Wilkins, 2005: 299-313.

79. Reed CE, Silvestri GA. Diagnosis and staging of lung cancer. In: Shilds TW, Locicero III J, Poon RB, Rusch VW (eds). *General Thoracic surgery*, 6th ed. Philadelphia, Lippincot Williams Wilkins 2005: 1534-1547.

80. Yim APC, Shioe ADL. Video-assisted thorasic surgery as a diagnostic tool. In: Shilds TW, Locicero III J, Poon RB, Rusch VW (eds). General Thorasic surgery, 6thed. Philadephia, Lippincot Williams Wilkins, 2005: 314-326.

81. Cangır AK. Akciğer Kanserlerinde Tanı ve Evreleme. Göğüs Cerrahisi. Türk Göğüs Cerrahisi Derneği. Ed. İlker Ökten, Hasan Şevket Kavukçu, İstanbul Tıp Kitapevi Yayınları: 2013: 1073- 92.

82. Shepherd FA, Crowley J, Van Houtte P, Postmus PE, Carney D, Chansky K et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals regarding the clinical staging of small cell lung cancer in the forthcoming (seventh) edition of the tumor, node, metastasis classification for lung cancer. J Thorac Oncol 2007; 2: 1067-77.

83. Downey RJ, Akhurst T, Gonen M, Vincent A, Bains MS, Larson S, Rusch V. Preoperative F-18 Fluorodeoxyglucose–Positron Emission Tomography Maximal Standardized Uptake Value Predicts Survival After Lung Cancer Resection. J Clin Oncol 2004; 22:3255-3260.

84. Ahuja V, Coleman RE, Herndon J, Patz EF Jr. The prognostic signifiante of fluorodeoxyglucose positron emission tomography imaging for patients with nonsmall cell lung carcinoma. Cancer 1998;83:918-924.

85. Naruke T. Tsuchiya R, Kondo H, Asamura H. Prognosis and survival after resection for bronchogenic carcinoma based on the 1997 TNM-Staging classification: The Japanese Experience. Ann Thorac Surg 2001; 71:1759-1764.

86. Abdul R.Jazieh, Mohammad H, John A. Prognostic Factors in Patients with Surgically Resected Stages I and II non-small cell lung cancer. Ann Thorac Surg 2000; 70:1168-1171.

87. Akciğer ve Plevra Maligniteleri Çalışma Grubu. Akciğer kanseri tanı ve tedavi rehberi. Toraks Dergisi 2006; 7 (Ek 2): 1-37.

88. Mathur PN, Edell E, Sutedja T, Vergnon JM. Treatment of early stage non-small cell lung cancer. Chest 2003; 123: 176s-80s.

89. Smythe WR. Treatment of stage I non-small cell lung carcinoma. Chest 2003; 123: 181s-7s.
90. Scott WJ, Howington J, Movsas B. Treatment of stage II non-small cell lung cancer. Chest 2003; 123: 188s-201s.
91. Inoue K, Sato M, Fujima S et al. Prognostic assessment of 1310 patients with non-small cell lung cancer who underwent complete 48 resection from 1980-1993. J Thorac Cardiovasc Surg 1998; 116: 407-11.
92. Robinson LA, Wagner H, Ruckdeschel JC. Treatment of stage IIIA non-small cell lung cancer. Chest 2003; 123: 202s-20s.
93. Jett JR, Scott WJ, Rivera MP, Sause WT. Guidelines on treatment of stage IIIB non-small cell lung cancer. Chest 2003; 123: 221s-5s.
94. Randhawa MA, Al-Ghamdi MS. 2002. A review of the pharmaco-therapeutic effects of *Nigella sativa*. Pakistan J Med Res, 41(2): 77-83.
95. Kaseb AO, Chinnakannu K, Chen D, Sivanandam A, Tejwani S, Menon M, Dou QP, Reddy GP. 2007. Androgen receptor and E2F-1 targeted thymoquinone therapy for hormone-refractory prostate cancer. Cancer Res, 67: 7782-8.
96. Badary OA, Taha RA, Gamal El-Din AM, Abdel-Wahab MH 2003. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. Drug Chem Toxicol 26(2): 87-98.
97. Kanter M. 2008. *Nigella sativa* and derived thymoquinone prevents hippocampal neurodegeneration after chronic toluene exposure in rats. Neurochem Res, 33: 579-588.
98. Halawani E. 2009. Antibacterial activity of thymoquinone and thymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and their interaction with some antibiotics. Advances in Biological Research, 3(5-6): 148-152.

99. Abdel-Fattah AFM, Matsumoto K, Watanabe H. 2000. Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone in mice. *European Journal of Pharmacology*, 400: 89-97.
100. Badary OA, Abdelnaim AB, Abdel-Wahap MH, Farid MA, Hamada FMA. 2000. The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology*, 143: 219-226.
101. Salem ML. 2005. Immunomodulatory and immunotherapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *International Immunopharmacology*, 5(13-14): 1749-1770.
102. Zaoui A, Cherrah Y, Alaoui K, Mahassine N, Amarouch H, Hassar M. 2002. Effects of *Nigella sativa* fixed oil on blood homeostasis in rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 79: 23-26.
103. Bacak G 2010. Yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda timokinon'un plazma leptin, karnitin, paraoksanaz, tiroid hormonları, insülin ve glikoz ile lipid profiline etkilerinin araştırılması. AKÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tez no: 2010-005, Afyonkarahisar.
104. Ragheb A, Attia A, Elbarbry F, Prasad K, Shoker A. 2009. Attenuated combined action of cyclosporine a and hyperlipidemia on atherogenesis in rabbits by thymoquinone. *eCAM*, 1-9.
105. El-Dakhakhny M, Madı NJ, Lember N, Ammon HPT. 2002. *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 81: 161-164.
106. Hamdy NM, Taha R. 2009. Effects of *nigella sativa* oil and thymoquinone on oxidative stress and neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacology* 8: 127-134.
107. Hawsawi ZA, Ali BA, Bamosa AO. 2001. Effect of *Nigella sativa* (Black Seed) and thymoquinone on blood glucose in albino rats. *Annals of Saudi Medicine*, 21: 242-244.

108. Fararh, KM, Shimizu, Y, Shiina, T, Nikami, H, Ghanem, MM, Takewaki, T. 2005. Thymoquinone reduces hepatic glucose production in diabetic hamsters. *Research in Veterinary Science*, 79: 219-223.
109. Shorib AM, Elgayyar M, Dudrick PS, Bell JL, Tithof PK. 2003. In vitro inhibition of growth and induction of apoptosis in cancer cell lines by thymoquinone. *Int J Oncol*, 22:107-13.
110. Gali-Muhtasib H, Diab-Assaf M, Boltze C, Al-Hmaira J, Hartig R, Roessner A, Schneider-Stock R. 2004a. Thymoquinone extracted from black seed triggers apoptotic cell death in human colorectal cancer cells via a p53-dependent mechanism. *Int J Oncol*, 25(4): 857-66.
111. Roepke M, Diestel A, Bajbouj K, Walluscheck D, Schonfeld P, Roessner A, Schneider-Stock R, Gali-Muhtasib H. 2007. Lack of p53 augments thymoquinone-induced apoptosis and caspase activation in human osteosarcoma cells. *Cancer Biol Ther*, 6 (2): 160-9.
112. Ahmed WA, Hassan SA, Galeb FM, El-Taweel MA, Abu-Bedair FA. 2008. The in vitro promising therapeutic activity of thymoquinone on hepatocellular carcinoma (HepG2) cell line. *Global Veterinaria*, 2 (5): 233-241.
113. Yi T, Cho S-G, Yi Z, Pang X, Rodriguez M, Wang Y, Sethi G, Aggarwal BB, Liu M. 2008. Thymoquinone inhibits tumor angiogenesis and tumor growth through suppressing AKT and ERK signaling pathways. *Mol Cancer Ther*, 7(7): 1789-1796.
114. Banerjee S, Kaseb AO, Wang Z, Kong D, Mohammad M, Padhye S, Sarkar FH, Mohammad RM. 2009. Antitumor activity of gemcitabine and oxaliplatin is augmented by thymoquinone in pancreatic cancer. *Cancer Research*. 69(13): 575-83.
115. El-Abhar H S, Abdallah D M, Saleh S. 2003. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by ischaemia/reperfusion in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 84: 251-258.
116. Salem ML. 2005. Immunomodulatory and immunotherapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *International Immunopharmacology*, 5(13-14): 1749-1770.

117. Mansour M, Tornhamre S. 2004. Inhibition of 5-lipoxygenase and leukotriene C4 synthase in human blood cells by thymoquinone. *J Enzyme Med Chem*, 19: 431-6.
118. Al-Majed AA, Al-Omar FA, Nagi MN. 2006. Neuroprotective effects of thymoquinone against transient forebrain ischemia in the rat hippocampus *European Journal of Pharmacology*, 543: 40-47.
119. El Gazzar MA, El Mezayen R, Nicolls MR, Dreskin SC 2007. Thymoquinone attenuates proinflammatory responses in lipopolysaccharide-activated mast cells by modulating NF-kappaB nuclear transactivation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 177:, 556-564.
120. El Tahir KE, Ashour MM, Al-Harbi MM. 1993. The cardiovascular actions of the volatile oil of the black seed (*Nigella sativa*) in rats: elucidation of the mechanism of action. *Gen Pharmacol*, 24(5): 1123-31.
121. Mansour M, Tornhamre S. 2004. Inhibition of 5-lipoxygenase and leukotriene C4 synthase in human blood cells by thymoquinone. *J Enzyme Med Chem*, 19: 431-6.
122. Yaman M. İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sempozyum Dizisi No:58 I Kasım 2007; s. 157-168
123. Donnadieu N, Paesmans M, Sculier JP. Chimiothérapie des cancers bronchiques non à petites cellules. Méta-analyse de la littérature en fonction de l'extension de la maladie [Chemotherapy of nonsmall cell bronchial cancers. Literature according to a meta-analysis; extension of the disease]. *Rev Mal Respir* 1991; 8: 197-204.
124. Meert AP, Berghmans T, Branle F, et al. Phase II and III studies with new drugs for non-small cell lung cancer: a systematic review of the literature with a methodology quality assessment. *Anticancer Res* 1999; 19: 4379-4390.

125. Roszkowski K, Pluzanska A, Krzakowski M, et al. A multicenter, randomized, phase III study of docetaxel plus best supportive care versus best supportive care in chemotherapy-naïve patients with metastatic or non-resectable localized non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer* 2000; 27: 145-157.

126. Delbaldo C, Michiels S, Syz N, Soria JC, Le Chevalier T, Pignon JP. Benefits of adding a drug to a single-agent or a 2-agent chemotherapy regimen in advanced non-small-cell lung cancer: a meta-analysis. *JAMA* 2004; 292: 470-484.

