

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

**KÜÇÜK HÜCRE DİŞİ AKCİĞER KANSERİ
NEDENİYLE REZEKSİYON YAPILAN HASTALARDA
PREOPERATİF VE POSTOPERATİF NK (NATURAL
KILLER) HÜCRE AKTİVASYONU VE TÜMÖR MİKRO
ÇEVRESİYLE OLAN İLİŞKİSİ**

Dr. Nurevşan KUŞDOĞAN

UZMANLIK TEZİ
OLARAK HAZIRLANMIŞTIR

GAZİANTEP

2023

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

**KÜÇÜK HÜCRE DİŞİ AKCİĞER KANSERİ
NEDENİYLE REZEKSİYON YAPILAN HASTALARDA
PREOPERATİF VE POSTOPERATİF NK (NATURAL
KILLER) HÜCRE AKTİVASYONU VE TÜMÖR MİKRO
ÇEVRESİYLE OLAN İLİŞKİSİ**

Dr. Nurevşan KUŞDOĞAN

UZMANLIK TEZİ
OLARAK HAZIRLANMIŞTIR

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet Ferudun IŞIK

GAZİANTEP

2023

TEZ ONAY SAYFASI

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

**KÜÇÜK HÜCRE DİŞİ AKCİĞER KANSERİ NEDENİYLE REZEKSİYON
YAPILAN HASTALARDA PREOPERATİF VE POSTOPERATİF NK
(NATURAL KILLER) HÜCRE AKTİVASYONU VE TÜMÖR MİKRO
ÇEVRESİYLE OLAN İLİŞKİSİ**

Dr. Nurevşan KUŞDOĞAN

23.06.2023

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

**Prof. Dr. Hakan Şevki EREN
Tıp Fakültesi Dekanı**

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

**Prof. Dr. A. Ferudun IŞIK
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. Maruf ŞANLI
3. Prof. Dr. Levent ELBEYLİ

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tezimi hazırlama sürecinde değerli bilgilerini, deneyimlerini, ilgi ve desteklerini esirgemeyen başta danışmanım Göğüs Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ahmet Ferudun IŞIK'a,

Mesleğimin inceliklerini öğrenmemde emekleri büyük, her zaman örnek aldığım değerleri hocalarım Prof. Dr. Maruf ŞANLI, Doç. Dr. Ahmet ULUŞAN ve Dr. Öğr. Üyesi Bekir ELMA 'ya,

Çalışmanın laboratuvar ile ilgili bölümünde emeği büyük, ilgi ve desteklerini hep hissettiğim Doç. Dr. Serdar ÖZTUZCU ve Dr. Öğr. Üye. Demet KAHRAMAN olmak üzere tüm TIP İDEAL laboratuvar ekibine, çalışmanın patolojik verilerini değerlendirip, yorumlayan, bilgi ve deneyimlerini içtenlikle paylaşan Dr. Öğr. Üyesi Ömer ERONAT'a,

Bir çok zor günü ve bir o kadar güzel günü birlikte geçirdiğimiz Göğüs Cerrahi Anabilim Dalı asistan arkadaşlarıma, asistanlığım boyunca ailemden çok vakit geçirdiğim ve her zaman sevgi ve desteklerini hissettiğim Göğüs Cerrahi Teknisyenleri; Ahmet ÖNAL, Cuma YALVAÇ, Ali Hikmet ÖZTEKİN'e, başta İlknur YARDIMCI olmak üzere tüm servis hemşire ve personelimize, yoğun bakımdaki zor anları fedakarlıkla kolaylaştıran başta Selma YILDIZ OR olmak üzere tüm yoğun bakım hemşire ve personeline, ameliyathanenin stresli ortamını ustalıkla yöneten başta Yıldız BULUT olmak üzere tüm ameliyathane hemşire ve personeline,

Tezimin her aşamasında enerjisi ve gülen yüzüyle emek ve destek veren Ebru SAĞLAM'a, zor zamanlarda maddi ve manevi desteğini hep hissettiğim Semih GÜLER'e

Beni canlarından çok seven, bu günlere gelmemi sağlayan ve hiçbir zaman maddi, manevi destekleri esirgemeyen annem Fatma KUŞDOĞAN, babam Ali KUŞDOĞAN ve kardeşim Furkan KUŞDOĞAN'a

Sonsuz teşekkür ederim...

ÖZET

KUŞDOĞAN, N., Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri Nedeniyle Rezeksiyon Yapılan Hastalarda Preoperatif ve Postoperatif NK (Natural Killer) Hücre Aktivasyonu ve Tümör Mikro Çevresiyle Olan İlişkisi, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahi Tezi, Gaziantep 2023 Akciğer kanseri tüm dünyada kanserden ölüm sebeplerinin en sık nedenidir. Etiyolojisinde en sık neden tütün ve tütün ürünlerinin kullanımıdır. Akciğer kanserlerinin %80-85'ini küçük hücre dışı akciğer kanserleri (KHDAK) oluşturur. KHDAK'lerinin erken evrede saptanıp opere olması durumunda beş yıllık sağkalımları %60-70'lere ulaşmaktadır. Ne yazık ki akciğer lezyonlarını erken evrede saptanması geç semptom vermesi nedeniyle zordur. Bu nedenle inoperable ve ileri evre metastatik hasta sayısı fazladır. Bu hastalar kemoterapi, radyoterapi, hedefe yönelik tedavi, immünoterapi veya bir kaçının kombinasyonu olacak şekilde tedaviye yönlendirilir. Cerrahi şansı olmayan hastalarda başlıca tedavi yöntemi kabul edilen kemoterapi ve radyoterapinin ciddi komplikasyonları, hasta yaşam kalitesini düşürmesi, tedavi başarısının istenilen düzeyde olmaması nedeniyle alternatif tedaviler üzerine çalışmalar sürdürülmektedir. Bunun en önemli kolunu immünoterapi üzerine yürütülen çalışmalar oluşturmaktadır. Tüm tedavi yöntemlerinde olduğu gibi immünoterapi tedavilerinin de başarı şansını azaltan ve direnç gelişmesini sağlayan en önemli unsur tümörün oluşturduğu mikro çevresi (TMÇ)'dir. Doğal katil (NK) hücrelerin önceden duyarlaştırma olmadan sitotoksik etki göstermesi, aktive-inhibe edici sinyaller tarafından yönlendirilmesi, kısa sürede yüksek miktarda üretilmesi, allojenik kullanılabilmesi nedeniyle TMÇ'ye karşı başarılı sonuçlar elde ettiği çeşitli solid tümörlerde gösterilmiştir. Bu çalışmada KHDAK nedeniyle rezeksiyon yapılan hastalarda kanda preoperatif ve postoperatif NK hücre aktivasyonuna ve rezeksiyon materyalinde immünohistokimyasal NK hücre varlığına bakılmıştır. KHDAK'de tümör ve mikro çevresi vücuttan çıkarıldıktan sonra NK hücre aktivasyonunda değişim olup olmadığı, değişim olması durumunda TMÇ ile ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen verilere göre postop 1. haftada cerrahi öncesine göre NK aktivasyonunda anlamlı düşüş görülmüş, postop 3. haftada 1. haftaya göre anlamlı artış görülmüştür. Postop 3. haftada preoperatife göre artış görülmüş fakat anlamlı bulunmamıştır. TMÇ'de immünohistokimyasal olarak yapılan NK hücre skorlamasıyla kandan bakılan NK aktivasyonu arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır. KHDAK'lerinde tümör ve mikro çevresinin NK hücre aktivasyonunu baskıladığı düşünülmekte olup NK odaklı immünoterapilerin başarı oranını etkileyeceği öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Akciğer kanseri, İmmünoterapi, Göğüs cerrahisi, Doğal katil hücre

Destekleyen Kuruluşlar: Bu tez, Gaziantep Üniversitesi BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ BİRİMİ tarafından TF.UT.21.39 proje numarası ile desteklenmiştir.

ABSTRACT

KUŞDOĞAN, N., Preoperative and Postoperative NK (Natural Killer) Cell Activation and Relationship with the Tumor Micro Environment in Resected Non-small Cell Lung Cancer Cases, Gaziantep University Faculty of Medicine, Thoracic Surgery Thesis, Gaziantep, 2023. Lung cancer is the most common cause of death from cancer worldwide. The most common cause in its etiology is the use of tobacco and tobacco products. Non-small cell lung cancers (NSCLC) constitute approximately 80-85% of lung cancers. If NSCLCs are detected at an early stage and operated, their five-year survival reaches 60-70%. Unfortunately, detection of lung lesions at an early stage is difficult because of late symptoms. Therefore, the number of inoperable and advanced metastatic patients is high. These patients are referred for treatment, which may be chemotherapy, radiotherapy, targeted therapy, immunotherapy, or a combination of several. Studies on alternative treatments are continuing due to the serious complications of chemotherapy and radiotherapy, which are accepted as the main treatment methods in patients who do not have a chance for surgery, to reduce the quality of life of patients, and to not achieve the desired level of treatment success. The most important part of this is the studies on immunotherapy. As with all treatment methods, the most important factor that reduces the chance of success in immunotherapy treatments and ensures the development of resistance is the micro-environment (TME) formed by the tumor. It has been shown in various solid tumors that natural killer (NK) cells achieve successful results against TME due to their cytotoxic effect without prior sensitization, being directed by activating-inhibitory signals, being produced in high amounts in a short time, and being allogeneic. In this study, NK cell activation in venous blood before and after surgery in patients who underwent resection for NSCLC and immunohistochemically NK cells in TME in resection material were examined. It was aimed to determine whether there is a change in NK cell activation after the tumor and its microenvironment are removed from the body in NSCLC, and if there is a change, its relationship with TME. According to the data obtained, a significant decrease in NK activation was observed in the first week after surgery compared to the preoperative period, and a significant increase was observed in the third week after surgery compared to the first week. In the third week after surgery, an increase was observed compared to the pre-surgery, but it was not found significant. No significant correlation was found between NK cell scoring with immunohistochemical staining and NK activation from venous blood in TME. It is thought that the tumor and its microenvironment suppress NK cell activation in NSCLCs, and it is predicted that NK-focused immunotherapies will affect the success rate.

Keywords: Lung neoplasms, Immunotherapy, Thoracic surgery, Natural killer cell

Supporting Organizations: This thesis was supported by Gaziantep University SCIENTIFIC RESEARCH PROJECTS with Project number TF.UT.21.39.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	xi
TABLolar	xii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 Akciğer Kanseri	5
2.1.1. Akciğer Kanseri Epidemiyolojisi	5
2.1.2. Akciğer Kanseri Tanısal Yöntemler	6
2.1.2.1 Non-invaziv Tanısal Yöntemler	6
2.1.2.2. İnvaziv Tanısal Yöntemler	7
2.1.3 Primer Akciğer Kanseri Patolojik Alt Tipleri.....	11
2.1.4. Akciğer Kanseri Evreleme ve Prognoz	13
2.1.5. Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri Tedavisi	16
2.1.6. Akciğer Kanseri İmmünoterapi Tedavi Seçenekleri	20
2.2. İnsan Bağışıklık (İmmün) Sistemi	21
2.2.1 Kanserojenesis ve İmmün Yanıt	23
2.2.2 Tümör Mikro Çevresi	24
2.2.3 Doğal Öldürücü (NK) Hücreler	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1 Akciğerin Cerrahi Rezeksiyonu.....	31
3.2. NK Aktivasyonun Ölçülmesi.....	32
3.2.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması.....	32
3.2.2. NK Aktivasyonun Belirlenmesi.....	33
3.2.2.1 Standartların Hazırlanması.....	34
3.2.2.2 Numunelerin Absorbans Değerlerine Göre Konsantrasyon Değerinin Belirlenmesi.....	35

3.3 Patolojik Verilerin Elde Edilme Yöntemleri	35
3.3.1 Doku Fiksasyonu ve Preparasyonu	35
3.3.2 İmmünohistokimyasal Çalışma	36
3.3.3 İmmün Reaktivite Skorlaması	36
3.4 İstatistiksel Analiz Yöntemleri.....	37
4.BULGULAR	38
5.TARTIŞMA.....	53
6.SONUÇLAR	57
7. KAYNAKLAR	58



SİMGELER VE KISALTMALAR

ALK	Anaplastik Lenfoma Kinaz
BT	Bilgisayarlı Tomografi
CAF	Kanserle İlişkili Fibroblast
CAR	Kimerik Antijen Reseptörü
CTLA-4	Sitotoksik T Lenfosit İlişkili Protein-4
DDBT	Düşük Doz Bilgisayarlı Tomografi
DLCO	Karbonmonoksit Difüzyon Kapasitesi Ölçümü
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EBUS	Endobronşial Ultrasonografi
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
EGFR	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
ESM	Ekstraselüler Matriks
EUS	Endoskopik Transözefagiyal Ultrasonografi
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
FDG	Fluorodeoksiglukoz
FEV1	Birinci Saniyedeki Zorlu Ekspiratuvar Volüm
FOB	Fiber Optik Bronkoscopi
HIF-1	Hipoksi İle İndüklenebilir Faktör-1
HIV	İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
HPV	İnsan Papilloma Virüs
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
IFN-γ	İnterferon- Gama
IFN-α	İnterferon- Alfa
IL	İnterlökin

İİAB	İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi
KHAK	Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
KHDAK	Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
KT	Kemoterapi
LEC	Lenfatik Endotelyal Hücreler
MDSC	Myeloid Türevli Baskılayıcı Hücreler
MHC-1	Major Doku Uygunluk Kompleksi-1
MMP	Matriks Metalloproteinaz
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
NK	Doğal Öldürücü
PD-1	Programlı Hücre Ölüm Proteini-1
PD-L1	Programlı Hücre Ölüm Ligandı-1
PDGF	Trombosit Büyüme Faktörü
PET	Pozitron Emisyon Tomografisi
PSVM	Parasternal Video Mediastinoskopi
RB	Rijit Bronkoskopi
ROS1	Proto-Onkojen Tirozin Kinaz 1
RT	Radyoterapi
SRT	Stereotaktik Radyoterapi
SUV_{max}	Maksimum Standart Tutulum Değeri
TAN	Tümörle İlişkili Nötrofiller
TEMLA	Transservikal Ekstended Mediastinal Lenfadenektomi
TGF	Transforme Edici Büyüme Faktör
TMÇ	Tümör Mikro Çevresi
TNF-α	Tümör Nekroz Faktör- Alfa

TTİAB	Transtorasik İğne Aspirasyon Biyopsisi
VAMLA	Video Yardımlı Mediastinoskopik Lenfadenektomi
VAMS	Video Yardımlı Mediastinoskopi
VATS	Video Yardımlı Torakoskopik Cerrahi
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VO₂max	Maksimum Oksijen Tüketim Testi



ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Uluslararası Akciğer Kanseri Derneği tarafından önerilen mediastinel lenf nodu haritası	8
Şekil 2.2. Hematopoetik kök hücreden gelişen myeloid ve lenfoid kökenli kan hücreleri.....	22
Şekil 2.3. Tümör mikro çevresi	24
Şekil 2.4. CD56 ^{bright} ve CD56 ^{dim} NK hücreleri.....	28
Şekil 2.5. NK hücre aktivasyonun aktive ve inhibe edici reseptörler tarafından düzenlemesi.....	29
Şekil 2.6. NK hücrelerin hedef hücreyi yok etmek için kullandıkları farklı yollar	30
Şekil 3.1. NK aktivasyonunun belirlenme aşamaları.....	33
Şekil 3.2. Standart solüsyonları seyreltme işlemi	34
Şekil 3.3. Standart eğri üzerinde doğrusal regresyon analizi (x eksen: absorpsiyon, y eksen: konsantrasyon)	35
Şekil 4.1. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 1. ve 3. haftalarda alınan kanlardaki IFN- γ (pg/ml) değerlerinin Box-plot grafiği ile gösterilmesi.....	46
Şekil 4.2. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3.haftadaki NK aktivasyon değişiminin histopatolojik alt tipler ile karşılaştırılması	47
Şekil 4.3. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3.haftadaki NK aktivasyon değişiminin histopatolojik diferansiasyon ile karşılaştırılması	48
Şekil 4.4. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3.haftadaki NK aktivasyon değişiminin CD56 immün reaktivite skorlaması ile karşılaştırılması	49
Şekil 4.5. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3.haftadaki NK aktivasyon değişiminin CD16 immün reaktivite skorlaması ile karşılaştırılması	50

TABLOLAR

Tablo 2.1. DSÖ 2021 Akciğer kanseri patolojik tanı klasifikasyonu.....	12
Tablo 2.2. TNM 8. Evrelemesine göre T faktörünün belirlenmesi	14
Tablo 2.3. TNM 8. Evrelemesine göre N faktörünün belirlenmesi.....	15
Tablo 2.4. TNM 8. Evrelemesine göre M faktörünün belirlenmesi	16
Tablo 2.5. TNM 8. Evrelemesinde Evre'nin belirlenmesi	16
Tablo 3.1. Standart sulandırma metodu.....	34
Tablo 3.2. CD56 ve CD16'nın immün reaktivite skorlanmasının belirlenmesi.....	37
Tablo 4.1. Genel tanımlayıcı istatistikler	40
Tablo 4.2. Tanımlayıcı istatistiklerin ortalama ve medyan değerleri.....	42
Tablo 4.3. Vakaların cerrahi öncesi ve sonrası 1. ve 3. hafta IFN- γ düzeyleri ile immün reaktivite skorlamaları.....	43
Tablo 4.4. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 1. ve 3. haftalarda alınan kanlardaki IFN- γ (pg/ml) değerlerinin karşılaştırılması	45
Tablo 4.5. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişimi ile histopatolojik alt tiplerin Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi ile karşılaştırılması	47
Tablo 4.6. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişimi ile histopatolojik diferansiasyonların Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi ile karşılaştırılması	48
Tablo 4.7. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişimi ile CD56 immün reaktivite skorlamasının Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi ile karşılaştırılması	49
Tablo 4.8. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişimi ile CD16 immün reaktivite skorlamasının Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi ile karşılaştırılması	50
Tablo 4.9. Diğer ölçümlerle NK aktivasyonu arasındaki ilişkinin Spearman Rank Korelasyon Testi ile değerlendirilmesi.	51
Tablo 4.10. Diğer ölçümlerle NK aktivasyonu arasındaki korelasyonun Mann Whitney U Testi ile değerlendirilmesi	52

1. GİRİŞ

Akciğer kanseri; 1920'lerden sonra ekonomik olarak gelişmiş ülkelerde hızla artan bir ölüm sebebidir. Bunun en önemli sebebi ise artan tütün ve tütün ürünlerinin kullanımıştır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2020 yılı verilerine göre dünya genelinde akciğer kanseri erkek cinsiyetinde en sık ve kadın cinsiyetinde ise ikinci sıklıkta görülen kanser türüdür. Dünya genelinde kanserden ölümlerin ise hala en sık sebebidir (1). Türkiye’de ise 2021 yılında yayınlanan Türkiye Kanser İstatistikleri 2017 raporuna göre; tüm yaş gruplarında erkeklerde en sık görülen (%21,7), kadınlarda ise dördüncü en sık görülen kanserdir (%6) (2).

Akciğer kanseri için en sık etiyolojik sebep olan sigara içimidir. Günlük içilen sigara sayısı, sigara içme süresi, sigaraya başlama yaşı, sigarayı bırakma yaşı, dumanı derin çekme, sigaranın içeriğindeki kimyasal madde oranı ile kanser gelişme riskinin arttığı belirtilmektedir (3,4). Sigara dumanına pasif olarak maruz kalınması da akciğer kanseri riskini arttırmaktadır. Bunun yanında genetik yatkınlık, akciğer enfeksiyonları, aile öyküsü, ilerlemiş yaş, bazı metaller (arsenik, nikel, krom vb.), asbest, silika, hava kirliliği, biomass maruziyeti, beslenme şekli ve radyasyona maruz kalmak da akciğer kanseri riskini arttırır (5).

Akciğer kanseri semptomlarının geç ortaya çıkması nedeniyle genellikle ileri evrede tanı almaktadır. Akciğer kanserinin tanı konulduktan sonraki beş yıllık genel sağkalım oranı %20'den azdır (6,7). Erken evre küçük hücre dışı akciğer kanseri (KHDAK) hastalarında, akciğer rezeksiyonu sonrası 5 yıllık hastalıksız sağkalım oranı yaklaşık %63,5, yıllık genel sağkalım %80 civarı iken (8,9) ileri evre akciğer kanseri hastalarının 5 yıllık sağkalım oranı (tüm patolojik alt tiplerde) yaklaşık %5 tir (10). Bu yüzden erken teşhis ve uygun tedavi ile hastaların hayatta kalma süresi etkili bir şekilde arttırılabilir.

Erken teşhisi zorlaştıran en önemli sebep genellikle semptomların geç ortaya çıkması ve spesifik olmamasıdır. Bu yüzden 55 yaş üstü tütün ve tütün ürünlerini kullananlarda öksürük, balgam, tekrarlayan pnömoni, nefes darlığı, göğüs ağrısı, hemoptizi, ses kısıklığı, kilo ve iştah kaybı gibi nonspesifik semptomlarda klinik olarak akciğer kanserinden şüphelenilmelidir.

Akciğer kanserinin taramasında en sık kullanılan yöntem düşük doz bilgisayarlı tomografi (DDBT)'dir (11,12). Daha yaygın kullanılan X-ray akciğer görüntülenme yöntemlerinde hastalığın erken evrede yakalanma şansı daha azdır (13). Bilgisayarlı tomografi görüntüleme yöntemlerinde rastlantısal lezyon görülme oranı ortalama %15 iken tarama çalışmalarında ortalama %33'tür (14). Tomografide saptanan lezyonların tümünün malign olamayacağı gibi; lezyonun malign olduğunu düşündüren bazı bulgular vardır. Bunlar; nodül çapının 3 mm'den büyük ve solid olması, spiküle uzanım göstermesi, plevral çekinti yapması veya plevraya mesafesinin uzak olması, vasküler bağlantısı olması, üst lobta lokalize olması, anormal büyüme hızı, hava bronkogramı ve buzlu cam varlığı, eşlik eden lenfadenopati, kavite duvarı kalınlığının ≥ 5 mm olmasıdır (15,16). Akciğer kanserinin tanısında çeşitli non-invaziv ve invaziv yöntemler kullanılır. Kesin tanı yöntemi lezyondan alınan biyopsinin patolojik olarak raporlanmasıdır (17). Non-invaziv yöntemler genellikle biyopsi için tercih edilecek olan invaziv yöntemin seçiminde, cerrahi tekniğin belirlenmesinde veya metastatik hastalığın saptanmasında kullanılır.

Akciğer neoplazmları patolojik olarak küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve %80–85 oranında daha sık görülen küçük hücre dışı akciğer kanseri (KHDAK) olmak üzere iki gruba ayrılabilir (18). KHAK geri kalan agresif büyüme gösteren, etyolojinin sigara içmeyle daha ilişkili olduğu, kötü prognozlu akciğer tümörüdür (19). KHDAK daha sık görülen tür olup erken dönemde saptanıp cerrahi uygulandığında sağkalımı yüksektir. Fakat olguların yalnızca %15–20'si rezeksiyona uygun olup, geri kalan %70'i opere edilemeyip alınan biyopsi ile tedavi ve takip edilirler (20).

Akciğer kanserinin tedavisi multimodaldır. Hastalık teşhis edildiğinde, malign hücrelerin vücuda ne kadar yayılmış olduğu ve hastanın mevcut klinik durumu birlikte değerlendirilerek tedavi yöntemi belirlenir. Akciğer kanseri tanı ve tedavi planlamasının her aşamasında (tedavi, metastaz, ikinci primer kanser gelişiminin saptanması, nüks) multidisipliner bir kurul (torasik onkoloji konseyi) çalışması gereklidir.

Hastanın komorbiditesi, tümörün rezektabilitesi ve ilerlemiş hastalık nedeniyle cerrahiye uygun olmayan hastalarda; kemoterapi (KT), radyoterapi (RT), stereotaktik radyoterapi (SRT), hedefe yönelik tedavi, immünoterapi veya birkaçının kombinasyonu şeklinde hastaya uygun olan tedavi planlaması belirlenir.

Son yıllarda immünoterapi tedavisindeki gelişmeler, ciddi yan etkileri bulunan standart tedavi modalitelerinden kemoterapi ve radyoterapiye gelecekte alternatif olabileceğini düşündürmektedir. İmmünoterapi alanında gelişmeler devam etmekte olup şu an için çoğunlukla "immün kontrol noktası inhibitörü" sınıfından immünoterapiler kullanılmaktadır. Bu tedavilerde amaç tümör hücrelerinin immün denetim noktalarındaki inhibitör sinyalleri aktive ederek immün sistemden kaçmasını engellemektir. İmmün denetim noktalarındaki bu inhibisyonu kaldırmak için programlı hücre ölüm proteini 1 (PD-1) ve onun ligandı olan PD-L1, sitotoksik T hücre ilişkili protein 4 (CTLA-4)'e karşı monoklonal antikorlar kullanılmaktadır (21,22). İmmün kontrol noktası inhibitörleri dışında; hedefe yönelik monoklonal antikorlar, kanser aşıları (koruyucu ve tedavi edici aşılar), tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), interferon alfa (IFN- α) ve IL-2 gibi spesifik olmayan immünoterapiler ve kimerik antijen reseptörünün (CAR) kullanıldığı adoptif hücresel immünoterapi (CAR-T, CAR-NK, CAR-M (Makrofaj)) yöntemleri bulunmaktadır. Popüler olan CD19 hedefli CAR-T hücre tedavisi Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onay almasına rağmen, istenmeyen yan etkileri ve bazı vakalarda sitokin fırtınası görülmesi tedavi uygulanabilirliğini zorlaştırmaktadır. Ayrıca hastadan elde edilen T hücrelerin üretiminin uzun vakit gerektirmesi ve yeterli sayıda hücre toplamanın sık tekrar gerektirmesi uygulanabilirliğini zorlaştırmaktadır. Hastadan alınan T hücresi doku uyumsuzluğu nedeniyle başka bir hastada kullanılamaz. Her hasta için kendi seçilmiş T lenfositleri üzerinde moleküler işlemler yapılır. Bu durum ilerlemiş hastalığı olanlar için tedavi gecikmesi ve maliyet açısından sıkıntılar oluşturabilir. CAR-T hücre tedavisi şu ana kadar solid tümörlerde istenilen tatmin edici sonucu verememiştir ve Graft-Versus-Host Hastalığı gelişme riski bulunmaktadır. Bu tedavi yöntemine alternatif olarak NK-92 hücre hattında hazırlanan CAR-NK hücreleri üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. CAR NK-92 hücrelerinin sitotoksitesinin yüksek olması, kısa sürede yüksek miktarda hücre elde edilebilmesi büyük avantaj sağlamaktadır. NK hücreleri birçok hücreye karşı aktive olabilir ve antijen bağımlı değildir. Bu nedenle T hücrelerinin aksine farklı bireylerden doku uyumsuzluğu gibi problemler olmadan hasta bireye verilebilir. Ayrıca yaşam sürelerinin modifiye edilmiş T hücrelerine göre daha kısa olması nedeniyle yan etki oluşum riski daha az olmaktadır (23,24).

Akciğer kanserinde NK hücre immünoterapi tedavi yöntemleri üzerinde araştırmalar henüz yeteri kadar olmasa da devam etmektedir. İleri evrede tanı konulan hasta sayısının fazla, kemoterapi ve radyoterapinin tedavi başarısının yeterli olmadığı akciğer kanseri hasta popülasyonunda NK hücre immünoterapi yöntemlerinin geliştirilmesi önemli bir tedavi planı olabilir. Kanserden ölümlerin en sık sebebi olan akciğer kanserinde, NK hücre terapilerinin kısa sürede yüksek miktarda hücre üretilmesi ve allojenik olması nedeniyle hastalıkla mücadelede gelecekte önemli bir tedavi planı olması beklenmektedir.

Tüm tedavi modalitelerinde olduğu gibi NK odaklı immünoterapi tedavi yöntemlerinde de tedaviye direnç gelişimini sağlayan veya tedavi başarı oranını negatif yönde etkileyen tümör mikro çevresi (TMÇ) önemli bir sorundur. Solid tümörde TMÇ'nin NK hücre aktivasyonunu baskıladığı bilinmektedir. Bu çalışmada KHDAK'lerinde TMÇ'nin NK hücre aktivasyonunu etkileyip etkilemediğine rezeksiyon yapılan hastalarda cerrahi öncesi ve sonrası kan NK aktivasyonu düzeyleri kıyaslanarak bakılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Akciğer Kanseri

2.1.1. Akciğer Kanseri Epidemiyolojisi

Akciğer kanseri gelişmiş toplumlarda sık görülen, genellikle ileri evrede tanı alan, kötü prognozlu bir kanser türü olarak bilinmektedir. Dünyada ve ülkemizde kanserden ölümlerin en sık sebebidir (1). Tedavi yöntemlerindeki ilerlemelere rağmen genel 5 yıllık sağkalım oranları %10-20 arasındadır (25). Farklı histolojik tipleri olan çok faktörlü bir hastalıktır. İnsidansı toplumun sigara kullanım eğilimleriyle yakın ilişkilidir. Sigara gibi diğer tütün ürünleri de bu kanser riskini artırmaktadır. Aktif içenlerin sadece %10'unda kanser gelişmesi, etyolojide başka faktörlerin de etkisi olduğunu düşündürmektedir. Sigara içimiyle bağlantılı bir diğer hastalık olan kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH)'nda akciğer kanseri görülme oranlarının yüksek olması her iki hastalığın ortak bir moleküler yolağı aktive ettiğini düşündürmektedir (26). Kanser gelişme riski önceden sigara içmiş kişilerde bırakmayanlara göre kademeli olarak azalırken, hiç içmemiş kişilere kıyasla takip eden on yıl boyunca hala yüksek kalır. Afrika kıtasında sigara kullanımının yüksek olduğu bilinmekle beraber ilginç şekilde akciğer kanseri insidansı düşük orandadır. Bu durumun sebebi olarak düşük yaşam süresi beklentisi gösterilmektedir (27).

Akciğer kanseri için diğer risk faktörleri; pasif sigara içiciliği, çevresel toksinler (radon, kok kömürü, katran maruziyeti, mesleki arsenik maruziyeti, kromyum, nikel, dizel egzoz partikülleri, silika tozu ve asbest vb.), enfeksiyonlar (tüberküloz, insan papilloma virüs (HPV), insan immün yetmezlik virüsü (HIV) vb.), diyet ile ilişkili faktörler (obezite, düşük beta karoten, C-vitamini ve alfa-tokoferol düzeyi), akciğer fibrozisi, aile öyküsü ve genetik mutasyonlardır (27–29).

Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından yayınlanan GLOBOCAN 2020 verilerine göre ülkemizde erkeklerde en sık görülen kanserlerin sırasıyla akciğer, prostat ve kolorektal kanserler olduğu ve dünya geneli erkeklerde görülen kanserleriyle aynı olduğu bildirilmiştir. Ülkemizde ve dünyada kadın cinsiyette en sık görülen kanserlere baktığımızda meme kanserinin ilk sırada olduğu görülmektedir. Dünyada kadınlarda akciğer kanseri genel sıralama da üçüncü sırada

iken Türkiye’de dördüncü sıradadır. Türkiye Birleşik Veri Tabanı 2017 verilerine göre ise kadın ve erkeklerde akciğer kanseri tanı aldıkları anda hastaların %15,4’ü lokalize, %28’i bölgesel, %56,5’i uzak metastatik hastalık olarak tespit edilmiştir (2).

2.1.2. Akciğer Kanserinde Tanısal Yöntemler

Akciğer kanserinde doku tanısı ve evreleme için yapılan tanısal yöntemler; invaziv ve non-invaziv yöntemler olarak ikiye ayrılır. Kesin tanı patolojik olarak konulacağı için, non-invaziv yöntemler genel olarak evreleme ve hangi invaziv yöntemin seçilmesi gerektiği hakkında yardımcı olmaktadır.

2.1.2.1 Non-invaziv Tanısal Yöntemler

Risk faktörü taşıyan hastalardan detaylı alınan anamnez ve fizik muayene ile akciğer kanserinden şüphelenilebilir ve görüntüleme yöntemlerine başvurulur. Akciğer grafisi en sık kullanılan görüntüleme yöntemi olmasına karşın akciğer kanserinde tarama ve tanı koymak için düşük doz bilgisayarlı tomografi (DDBT) kullanılır (10,11). Saptanan nodül çapının 3 mm’den büyük ve solid olması, spiküle uzanım göstermesi, plevral çekinti yapması veya plevraya mesafesinin uzak olması, vasküler bağlantısı olması, üst lobta lokalize olması, anormal büyüme hızı, hava bronkogramı ve buzlu cam varlığı, eşlik eden lenfadenopati, kavite duvarı kalınlığının ≥ 5 mm olması malignite açısından anlamlı olabilir (14,15). 1 cm’nin üzerindeki lenf nodları BT’de patolojik kabul edilir. Ancak, görünümü patolojik olmayan bir lenf nodunun metastatik olabileceği gibi, patolojik görünen bir lenf nodu da metastaz içermeyebilir. BT nin sadece lenf nodu boyutuna göre değerlendirmesinin pozitif-negatif öngörme değerleri %56-83, duyarlılığı %58-79, özgüllüğü %78-82 arasında farklılık gösterir (30).

İşaretlenmiş fluorodeoksiglukoz (FDG) ile yapılan Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) aynı anda T, N ve M evrelemesi yapabilen tek tanısal yöntemdir. PETcihazlarına BT kesitlerinin eklenmesiyle PET/BT görüntüleme yöntemi geliştirilmiştir. PET/BT görüntülemelerinin BT komponenti genellikle düşük doz radyasyonda, inspirasyona dikkat edilmeden ve çoğunlukla kontrastsız yapıldığı için T evrelemede PET/BT genellikle kontrastlı toraks BT’nin yerini dolduramaz. Bölgesel lenf nodu değerlendirilmesinde PET, BT’ye göre daha başarılıdır. Ancak yalancı

pozitif tutulumların oranının az olmaması nedeniyle lenf nodu tutulumlarının invaziv yöntemlerle doğrulanması gerekmektedir (31).

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) akciğer patolojileri için başlıca görüntüleme yöntemlerinden biri değildir. Mediastinel yapıların detaylı incelenmesinde, göğüs duvarı invazyonu, vertebra invazyonu ve süperior sulkus tümörlerinde ilave bilgiler sağlayabilir. Ayrıca beyin, kemik, sürrenal vb. uzak organ metastazlarında tanı koydurucudur.

Sıvı biyopsi (likit biyopsi) genellikle hastalarının periferik kan örneğinden dolaşan tümör hücrelerini ve tümörlerin genetik materyalinin saptanmasıdır. Dolaşan tümör hücrelerinden tanısal işlemler ve moleküler incelemeler yapılabilmektedir. EGFR ve ALK mutasyonu taramasının uygulanabildiği gösterilmiştir (32,33).

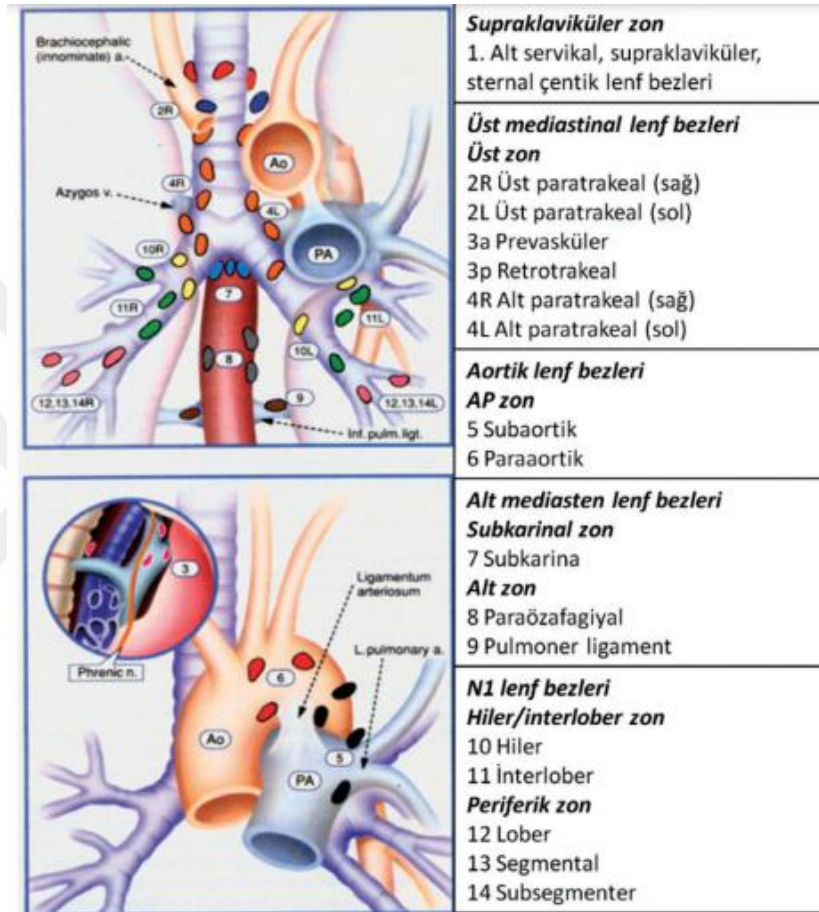
Balgam sitolojisi diğer bir non-invaziv tanı koyma yöntemidir. Günümüzde yaygın kullanılsa da balgam ile elde edilen pozitif tanı oranı %15-%58 oranında değişmektedir (34).

2.1.2.2. İnvaziv Tanısal Yöntemler

Akciğer kanseri tanı ve evrelemesinde invaziv olarak Rijit Bronkoskopi (RB), Fiberoptik Bronkoskopi (FOB), radyal veya konveks problu Endobronşiyal Ultrason (Rp-Cp-EBUS), Endoskopik Transözefagiyal Ultrasonografi (EUS), mediastinoskopi, Video Yardımlı Mediastinoskopi (VAMS), Video Yardımlı Mediastinoskopik Lenfadenektomi (VAMLA), Transservikal Ekstended Mediastinal Lenfadenektomi (TEMLA), Parasternal Video Mediastinoskopi (PSVM), Video Yardımlı Torakoskopi (VATS), ekstended (genişletilmiş) mediastinoskopi, mediastinotomi, sağ-sol torakotomi, transtorasik ve kalın iğne (tru-cut) biyopsi, eksizyonel biyopsi yöntemleri kullanılabilmektedir.

Uzak metastazı bulunmayan KHDAK hastalarında sağkalımı etkileyen en önemli faktör metastatik mediastinal lenf nodu varlığıdır. Literatüre göre pozitif lenf nodu olan hastalarda cerrahi sonrası sağkalım süreleri düşmektedir. Bu nedenle cerrahi planlanan hastalarda görüntüleme yöntemlerinde metastatik lenf nodunu düşündürecek bulgu varsa öncesinde mediastinal evreleme yapılması gereklidir.

Mediastinal lenf nodlarının değerlendirilmesinde mediastinoskopi altın standarttır (35). VATS, EBUS, EUS, mediastinotomi, ekstended mediastinoskopi alternatif olabilir. Periferik Evre 1 tümörlerde PET’de mediastinel lenf nodu tutulumu yoksa girişimsel doğrulama gerekmez. PET multiple N2, karşı taraf N2 varlığı ve N3 varlığında girişimsel işlem ile doğrulama önerilir (36) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Uluslararası Akciğer Kanseri Derneği tarafından önerilen mediastinel lenf nodu haritası

Rijit bronkoskopi rijit bir tüpün içerisinden rijit bir optik ile solunum yollarının incelenmesi yöntemidir. Genel anestezi altında yapılmaktadır ve rijit bronkoskop içerisinden tanısal ve küratif birçok işlem yapmak mümkündür. Distal hava yollarını değerlendirme de yetersizdir ancak solunum yolu kontrolünün daha iyi olması nedeniyle stent takılması, tümör desobstrüksüyonları, yabancı cisim çıkarılması, hemoptizi kontrolü gibi endobronşial tedavilerde kullanılmaktadır.

Fiber optik bronkoskopi (FOB) genellikle sedayon altında yapılır, bu nedenle en sık kullanılan hava yolu değerlendirme yöntemidir. Cihazın uç kısmının ekstansiyon ve fleksiyon özelliğine sahip olması nedeniyle bronşların üçüncü dördüncü dallanma seviyesine kadar ulaşabilir. FOB'un havayolu obstrüksiyonu yapan santral lezyonlarda endobronşiyal veya transbronşiyal biyopsi ile tanısal duyarlılığı %65-85'dir (37). Ancak FOB'un tanı koyma olasılığı subsegment yerleşimli lezyonlarda azalmaktadır. FOB içinden uygulanan bir diğer yöntem ince iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB), santral kitlelerde uygun bir tanısal yöntem olmasına karşın, lenf nodu örneklemede sınırlı bir katkı sağlamaktadır. FOB-İİAB ile sağ-sol alt paratrakeal (4R,4L), subkarinal ve daha az sıklıkla sağ-sol hiler (10R-10L) lenf nodlarına ulaşılabilir (38).

EBUS ucunda ultrason olan bir probun, fiberoptik bronkoskobun çalışma kanalından bronşial sisteme gönderilerek, etrafındaki balonun şişirilmesiyle havayoluna temas etmesi sağlanarak ultrasonik görüntü elde edilmesine dayanır. EBUS'un en önemli avantajı mediastinal ve hiler lenf bezlerinden veya santral kitlelerden eş zamanlı olarak TBİAB (EBUS-TBİAB) yapılabilmesidir. EBUS ile sağ-sol üst paratrakeal (2R-2L), retrotrakeal (3p), sağ-sol alt paratrakeal (4R-4L), sağ-sol hiler (10R-10L), sağ-sol interlober (11R-11L) ve subkarinal (7. istasyon) lenf nodlarından biyopsi alınabilir. Ancak periferik zon, prevasküler, paraaortik, paraözefagiyal, pulmoner ligament lenf bezlerine ulaşım mümkün değildir (38).

EUS; genellikle üst gastrointestinal sistem patolojileri için kullanılır ve teknik olarak EBUS'a benzemektedir. Transözefagiyal yolla yapılır ve iğne biyopsisi (EUS-İİAB) yapılabilmektedir. Özefagus yoluyla subkarinal, paratrakeal (2R,2L,4R,4L), retrotrakeal (3p), paraözefagiyal (8. istasyon) ve pulmoner ligaman (9. istasyon) lenf bezleri görüntülenebilmektedir. Ayrıca karaciğer sol lobu, sol adrenal bez ve çölyak lenf bezleri de EUS ile değerlendirilip metastaz düşünülen lezyonlardan biyopsi alınabilir. Mediasten, büyük damar ve özefagus invazyonları saptanabilir (39,40).

Mediastinoskopi genel anestezi altında yapılan toraksa girilmeden mediasten kitlelerinin tanı ve tedavisinde kullanılan işlemdir. Standart servikal mediastinoskopi, anterior mediastinoskopi, ekstended servikal mediastinoskopi, subksifoidal

mediastinoskopi gibi farklı kesilerden bu bölgeye ulaşılabilir. Video yardımcı yapıldığında VAMS, video ile mediastinel lenf nodlarına yönelik yapıldığında VAMLA adını almaktadır. Klasik servikal mediastinoskopi ile alt-üst paratrakeal alan, subkarinal bölge ve mediastinel lezyonlara rahatlıkla ulaşılabilir (41). Aortikopulmoner pencere ve subaortik bölgelerdeki (5 ve 6 numaralı istasyon) lenf nodlarının örneklenmesinde servikal mediastinoskopi ile ulaşmak zor olduğundan genişletilmiş mediastinoskopi, anterior mediastinotomi (Chamberlain kesisi) veya sol VATS ile ulaşılabilir.

Bronkoscopi, EBUS, EUS ve mediastinoskopi genellikle santral yerleşimli tümörler ve lenf nodu örneklemesi için kullanılırken periferik lezyonlar için Transtorasik İğne Aspirasyon Biyopsisi (TTİAB), VATS ve torakotomi yapılabilir. Tanısal amaçlı torasentez ile plevral sıvı örneklenir. Torasentezler tanısal değilse doku tanısı için biyopsi gerekmektedir (42).

Torakoscopi (VATS) ve robotik cerrahi açık cerrahi operasyonlar (torakotomi) yerine kapalı sistemle yapılan, kamera ile eş zamanlı görünüm ve yardımcı aletler eşliğinde gerçekleştirilen cerrahi uygulamalardır. Bu yöntem ile biyopsi için küçük bir parça alınabileceği gibi lobektomi, pnömonektomi gibi anatomik rezeksiyonlar da yapılabilmektedir. Solda aortikopulmoner pencere veya inferior mediasten lenf nodlarının örneklenmesi gerektiğinde VATS tercih edilebilmektedir.

Torakotomi; göğüs boşluğuna kaburgalar arası açılarak girilen açık cerrahi türüdür. Genellikle akciğer kanseri rezeksiyonları için tercih edilir. Hastada mevcut radyolojik bulgular ve risk faktörleri akciğer kanserini düşündürüyor fakat yapılan tetkiklerle kesin tanı konulamıyor ise tanı koymak amacıyla kullanılabilir. Eksplorasyon amaçlı tümör rezektabilitesini, plevra ve toraks duvar invazyonunu değerlendirmek, intraoperatif evreleme yapmak için de tercih edilir. Tüm preoperatif tanısal yöntemlere rağmen patolojik evre ve klinik evre arasında %50-60 oranında benzerlik saptanmıştır (43,44).

2.1.3 Primer Akciğer Kanseri Patolojik Alt Tipleri

Akciğer kanserlerinin büyük çoğunluğu epitel hücrelerinden köken alan karsinomlardır. Akciğer karsinomlarının iki ana grubu vardır: Küçük hücreli akciğer kanseri (%80,4) ve küçük hücre dışı akciğer kanseridir (%16,8). Histolojik kriterleri baz alan bu sınıflama da amaç; prognozları ve tedavi yaklaşımlarının benzer olan karsinomları bir gruba toplamaktır (45).

En son güncellenen DSÖ'nün 2021 akciğer kanseri patolojik kalsifikasyonuna göre primer akciğer kanseri patolojik alt tipleri Tablo 2.1'de gösterilmiştir (46).



Tablo 2.1. DSÖ 2021 Akciğer kanseri patolojik tanı klasifikasyonu

Papillomlar Skuamöz Hücreli Papillom, NOS Skuamöz Hücreli Papillom, İnverted Glandüler Papillom Skuamöz Hücre ve Glandüler Papillom Karışımı	Tükürük Bezi Tümörleri Pleomorfik Adenom Adenoid Kistik Karsinom Epitelyal-Miyoeptelyal Karsinom Mukoepidermoid Karsinom Hyalinize Şeffaf Hücreli Karsinom Myoeptelyoma Epitelyal Myoeptelyal Karsinom
Adenomlar Sklerozan Pnömositoma Alveoller Adenonom Papiller Adenonom Bronşiooller Adeno/Silyalı Mukonodüler Papiller Tümör Müsinöz Kistadenom Mukoza Bezi Adenomları	Akciğer Nöroendokrin Neoplazmaları Yayılan İdiyopatik Nöroendokrin Hücre Hiperplazi Nöroendokrin Tümörler Karsinoid Tümör, NOS/ Nöroendokrin Tümör, NOS Tipik Karsinoid/ Nöroendokrin Tümör, Grade 1 Atipik Karsinoid / Nöroendokrin Tümör, Grade 2 Nöroendokrin Karsinomalar Küçük Hücreli Karsinom Kombine Küçük Hücreli Karsinom Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom Kombine Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom
Prekürsör Glandüler Lezyonlar Atipik Adenomatöz Hiperplazi Adenokarsinom İn Situ Müsin Olmayan Adenokarsinom İn Situ Müsin Adenokarsinom İn Situ	Ektopik Doku Tümörleri Melonoma Meningioma
Adenokarsinomlar Minimal İnvaziv Adenokarsinomlar Müsinöz Olmayan Minimal İnvaziv Adenokarsinom Müsinöz Minimal İnvaziv Adenokarsinom Müsinöz Olmayan İnvaziv Adenokarsinomlar Lepidik Adenokarsinom Asiner Adenokarsinom Papiller Adenokarsinom Mikropapiller Adenokarsinom Solid Adenokarsinom İnvaziv Müsinöz Adenokarsinom Müsinöz ve Müsinöz Olmayan Karışık İnvazim Adenokarsinom Kolloid Adenokarsinom Fetal Adenokarsinom Enterik Tip Adenokarsinom Adenokarsinom, NOS	Akciğere Özgü Mezankimal Tümörler Pulmoner Hartoma Kondroma Yayılan Lenfogiomasiz Plevra Pulmoner Blastoma İntimal Sarkoma Konjenital Peribronkial Myofibroblastik Tümör EWSR1-CREB1 Füzyonlu Pulmoner Miksoid Sarkoma PEComatus Tümörler Lenfocioleiomyomatosis PEComa, Bening PEComa Maling
Skuamöz Prekürsör Lezyonlar Skuamöz Hücreli Karsinoma İn Situ Hafif Skuamöz Displazi Orta Derece Skuamöz Displazi Şiddetli Skuamöz Displazi	Hemotalenfoit Tümörler MALT Lenfoma Yayılan Büyük B Hücre Lenfoma, NOS Lenfomatoid Granülopatosis, NOS Lenfomatoid Granülopatosis, Grade 1 Lenfomatoid Granülopatosis Grade 2 Lenfomatoid Granülopatosis Grade 3 Intravasküler Büyük B Hücre Lenfoması Langerhans Hücre Histiyoitosis Erdheim-Chester Hastalığı
Skuamöz Hücreli Karsinomlar Skuamöz Hücreli Karsinom, NOS Keratinize Skuamöz Hücreli Karsinom Keratinize Olmayan Skuamöz Hücreli Karsinom Bazaloit Skuamöz Karsinom Lenfoepitelyal Karsinom	
Büyük Hücreli Karsinomlar Büyük Hücreli Karsinom	
Adenoskuamöz Karsinomlar Adenoskuamöz Karsinom	
Sarkomatoid Karsinomlar Pleomorfik Karsinom Büyük Hücreli Karsinom İğsi Hücreli Karsinom Pulmoner Blastoma Karsinosarkom	
Diğer Epitelyal Tümörler NUT Karsinom Torasik SMARCA4 Eksikliği Olan Farklılaşmamış Tümörler	

2.1.4. Akciğer Kanserinde Evreleme ve Prognoz

Akciğer kanseri tanısı radyolojik ve patolojik olarak konulup, tüm vücut metastaz taraması yapıldıktan sonra hastalığın evresi belirlenir. Evreleme tedavi yönteminin seçiminden çok hastalığın prognozunu öngörmede yardımcıdır. Çoğu kanserde olduğu gibi akciğer kanserinde de TNM (T: tümör boyutu ve dokuya yayılımı, N: bölgesel veya uzak lenf nodu tutulumu, M: metastaz) sistemi üzerinden evreleme yapılır. Evrelemede 2018 yılında güncellenen sekizinci evreleme sistemi kullanılmaktadır. Yedinci evreleme sistemine göre tümör boyutu; T faktörü detaylandırılmış, subsolid nodüllere yaklaşım güncellenmiştir (Tablo 2.2) (47). Tis (adenokarsinoma in situ, AIS) ve T1mi (minimal invaziv adenokarsinom, MIA) kavramları klinik ve patolojik olarak ayrı ayrı belirlenmiştir. 3 cm ve altındaki buzlu cam nodülleri klinik Tis olarak adlandırılmıştır. Patolojik Tis ise 3 cm ve altında lepidik büyüme gösteren ve invaze olmamış lezyonlar için kullanılır. Patolojik olarak lepidik baskın olan nodül veya radyolojik görüntülemelerde saptanan buzlu cam nodülü 3 cm'den büyük ise lepidik baskın adenokarsinom olarak kabul edilir ve T1a olarak evrelendirilir. Patolojik olarak invaziv bileşeni 0,5 cm ve altında olan, 3 cm ve altındaki lepidik bileşeni baskın olan MIA lezyonlar için Patolojik Tmi kavramı getirilmiştir. Klinik Tmi, 3 cm ve altındaki buzlu cam kısmı baskın, 0,5 cm ve altında solid bileşeni olan MIA lezyonlar için kullanılır. Buzlu cam bileşeni çoğunlukta olan solid lezyonlarda 0,5 cm ve altında solid bileşen varsa veya tümör MIA için patolojik kriterleri karşılıyor fakat çapı 3 cm'den büyükse bu lezyonlar da cT1a veya pT1a olarak evrelendirilir. Tüm komponenti solid olmayan lezyonlarda T faktörü solid komponent ölçülerek belirlenir fakat lezyonun total boyutu buzlu cam ve solid komponent birlikte hesaplanarak belirlenir (48).

Tablo 2.2. TNM 8 Evrelemesine göre T faktörünün belirlenmesi

T-Primer Tümör		
T_x		Balgam veya bronşiol yıkama sıvısında malign hücreler gösteriliyor fakat bronskopi ve görüntüleme yöntemleri ile primer tümör saptanamıyor.
T₀		Primer tümör değerlendirilemiyor.
T_{is}		Karsinoma in situ (skumöz hücreli karsinoma in situ veya adenokarsinoma in situ).
T₁		Çapı ≤ 3 olup bronkoskopik olarak proksimal hava yollarında invazyon bulgusu olmayan tümörler
	T1mi	Minimal invaziv adenokarsinom
	T1a	Tümörün en geniş çapı ≤ 1 cm ²
	T1b	Tümörün en geniş çapı > 1 cm, ≤ 2 cm
	T1c	Tümörün en geniş çapı > 2 cm, ≤ 3 cm
T₂		Tümörün en geniş çapı > 3 cm, ≤ 5 cm veya aşağıdaki özelliklerden birine sahip olan tümör; *Hiler bölgeye uzanan atelektazi veya obstrüktif pnömoni yapan tümör *Karinayı invazyonu olmadan ana bronşa invaze olan tümör *Visseral plevrayı invaze eden tümör
	T2a	Tümörün en geniş çapı > 3 cm, ≤ 4 cm
	T2b	Tümörün en geniş çapı > 4 cm, ≤ 5 cm
T₃		Tümörün en geniş çapı > 5 cm, ≤ 7 cm veya aşağıdakilerden herhangi birine sahip olan tümör; *Primer tümörle aynı lobda nodül veya nodüller *Göğüs duvarı (superior sulkus tümörleri dahil), perikard, frenik sinir, parietal plevra invazyonu
T₄		Tümörün en geniş çapı > 7 cm veya aşağıdaki dokulardan birine invaze ise; *Karına, özefagus, diyafram, mediasten, trakea, büyük damarlar, kalp, rekürren laringeal sinir, vertebra *Primer tümörle aynı hemitoraksta fakat farklı lobda nodül veya nodüller

Akciğer kanserinde hastalara cerrahi kararı verilirken en önemli parametre N (lenf nodu)'in varlığıdır (Tablo 2.3). Tanısal işlemle kanıtlanmış multiple N2 lenf nodu varlığı ve N3 varlığı olan hastalar öncelikle cerrahi dışı tedavi yöntemlerine yönlendirilir. Fakat N0 ve N1 olan tek odak uzak metastazlı hastalara metastezektomiyle birlikte akciğer rezeksiyonu önerilmektedir.

Tablo 2.3. TNM 8 Evrelemesine göre N faktörünün belirlenmesi

N-Bölgesel Lenf Bezleri	
Nx	Bölgesel lenf bezleri değerlendirilemiyor
N0	Bölgesel lenf bezi metastazı saptanmamış
N1	Aynı taraf hiler , aynı taraf peribronşiyal lenf bezleri veya intrapulmoner lenf bezlerine metastaz veya invazyon
N2	Aynı taraf mediastinal ve/veya subkarinal lenf bezlerine metastaz
N3	Karşı taraf hiler, karşı taraf mediastinel, karşı taraf veya aynı taraf skalen veya supraklavikuler lenf bezlerine metastaz

Metastaz varlığı vücuda yayılmış ileri hastalığı göstermekle birlikte; metastazın sayısı, lokalizasyonu, klinik semptomu neden olması sağkalımı etkilemektedir. Akciğer kanserinde tek odak metastazı olan hastalarda küratif cerrahi şansı mevcuttur (Tablo 2.4) (70).

Tablo 2.4. TNM 8 evrelemesine göre M faktörünün belirlenmesi

M-Uzak Metastaz		
M0		Uzak organ metastazı yok
M1		Uzak organ metastazı var
	M1a	Kontralateral akciğerde metastatik nodül, perikard veya parietal plevrada nodül veya malign plevral/perikardiyal efüzyon
	M1b	Ekstratorasik tek organda tek metastaz
	M1c	Ekstratorasik birden çok organda birden çok metastaz

KHDAK’de 5 yıllık sağkalım %18’civarıdır, rezeksiyon yapılan Evre 1 ve Evre 2 hastalarda bu oran %60-80 ‘lere yükselmektedir. Fakat KHDAK’nin sadece %30’u lokalize Evre 1 ve Evre 2 hastalıktır (Şekil 2.5) (49).

Tablo 2.5. TNM 8 Evrelemesinde Evre’nin belirlenmesi

	N0	N1	N2	N3
T1	IA	IIB	IIIA	IIIB
T2a	IB	IIB	IIIA	IIIB
T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB
T3	IIB	IIIA	IIIB	IIIC
T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC
M1a	IVA	IVA	IVA	IVA
M1b	IVA	IVA	IVA	IVA
M1c	IVB	IVB	IVB	IVB

2.1.5. Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri Tedavisi

Akciğer kanserinde tedavi planlaması hastalığın ve hastanın mevcut durumuna göre yapılır. Yaş, hastaya bağlı komorbiditeler, pulmoner fonksiyonlar, tümör histolojisi, metastaz varlığı ve tedaviye uyumluluk gibi faktörler tedavide göz önünde bulundurulur. Tedavi seçenekleri ve buna bağlı prognozu ön görebilmek için evreleme yapılır. Akciğer kanseri genel olarak ileri yaşlarda görüldüğü için hastaların çoğu çok sayıda komorbiditeye sahip olabilir. Cerrahi uygulanacak veya sistemik tedavi alacak olan hastalar kardiyopulmoner risk açısından değerlendirilmelidir (50). Cerrahi sonrası sonrası pulmoner ve vasküler rezervde azalma olacağı için tedavi öncesi akciğer kapasitesi dikkatli bir değerlendirilmelidir. Cerrahi sonrası solunum rezervlerine bağlı

mortalite ve morbiditeyi öngörmek için preoperatif birinci saniyedeki zorlu ekspiratuvar volüm (FEV1) ve karbonmonoksit difüzyon kapasitesi düzeyi (DLCO) değerleri belirlenir (51). Düşük FEV1 ve DLCO sonuçlarına sahip hastalara ileri tetkikler olarak egzersiz ile maksimum oksijen tüketim testi (VO₂max), ventilasyon-perfüzyon sintigrafisi yapılabilir. Operasyon öncesi pulmoner fonksiyonları düşük olan amfizemli hastalarda, fonksiyonel olmayan akciğer parankiminin rezeksiyonu ile solunum fonksiyonlarında iyileşme sağlanabilir. Akciğer kanserine eşlik eden amfizem varlığında, amfizemin lokalizasyonu, solunum fonksiyonlarına etkisi ve kitlenin lokalizasyonuna göre, anatomik rezeksiyonla birlikte volüm küçültücü cerrahi yapılabilir (52).

Uzak metastazı ve mediastinel lenf nodu invazyonu olmayan genel durumu cerrahiye uygun hastalarda önerilen tedavi yaklaşımı cerrahidir (53,54). Erken evre KHDAK'lı hastalarda uygulanan cerrahi yöntem lobektomidir. VATS torakotomiye alternatif bir yöntemdir, Evre 1 tümörlerde minimal invaziv cerrahi olarak yaygın kullanılmaktadır. Lobektominin teknik olarak mümkün olmadığı hiler yerleşimli lezyonlarda yapılabiliriyorsa pnömonektomi yerine sleeve rezeksiyonlar tercih edilmelidir (53). Erken evre KHDAK hastalarında lobektomi uygulanmasının segmentektomi ve wedge rezeksiyon gibi sınırlı cerrahi rezeksiyonlara kıyasla sağkalım açısından daha iyi olduğu bilinmektedir (55). T1a tümörler için bazı durumlarda görüş ayrılıkları mevcuttur (56). Literatürde adenokarsinomlarda lobektominin wedge rezeksiyondan üstün ancak segmentektomi ile benzer sağkalım oranları olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur. Skuamöz hücreli karsinomlarda lobektomi; segmentektomi ve wedge rezeksiyona göre üstün bulunmuştur (57,58). Adenokarsinomlarda alt tipleri birbirinden farklı sağkalım ve nüks özellikleri gösterebilmektedir. Kötü prognozlu subtipler; mikropapiller ve solid adenokarsinomdur. Tümör çapı 20 mm'nin üzerindeki solid kitlelerde cerrahi teknik olarak lobektomi tercih edilmelidir. Solid komponenti olmayan görüntülemelerde buzlu cam dansitesi şeklinde görülen minimal invaziv adenokarsinom, adenokarsinoma in situ veya lepidik patern adenokarsinomlarda sınırlı parankim rezeksiyonu tercih edilebilir (59).

Erken evre hastada tümör yerleşim yerine göre R0 rezeksiyon yapıldıktan sonra en az altı adet istasyondan lenf nodu örnekleme önerilmektedir. Örneklemenin sağ hemitoraks lezyonlarında 4, 7 ve 10 numaralı, sol hemitoraks lezyonlarında 5, 6 ve 7 numaralı lenf nodu istasyonlarını içermesi önerilmektedir (60). R0 anatomik rezeksiyon yapılan, intraoperatif N0 olarak değerlendirilen Evre 1 hastalarda fazladan lenf nodu diseksiyonunun sağkalıma katkı sağlamadığı, ancak uygun R0 rezeksiyon uygulanan Evre 2 olgularda ilave lenf bezi diseksiyonunun sağkalım avantajı sağlayabildiği bildirilmiştir.

Medikal olarak cerrahiye uygun olmayan yada cerrahi yaklaşımı kabul etmeyen erken evre periferik lezyonu olan hastalarda SBRT tercih edilebilir. Parankimal etkilenme durumunda fatal toksisite görülebilir. Cerrahiye uygun olmayan hiler bölgeye yakın Evre 1 olan hastalarda özel planlama ile SBRT uygulanabilir fakat ana bronş ve trakea invazyonu varsa uygun bulunmamaktadır (61).

Rezeksiyon yapılan Evre 2 veya 4 cm ve üzerindeki Evre 1B hastalar konseyde görüşülerek cerrahi sonrasında adjuvan KT almalıdır (62,63). Adjuvan kemoterapide platin bazlı kemoterapiler, genellikle vinorelbin ve sisplatin kombinasyon protolü uygulanır (64). Adjuvan tedavide, hedefe yönelik tedaviler ve immünoterapilerin yeri yoktur.

Sekizinci evreleme klavuzunda 5 cm üzeri tümörlerde eşlik eden hiler, intrapulmoner ve peribronşiyal lenf bezi tutulumu T3N1 olarak, 7 cm üzerinde lenf bezi tutulumu olmayan tümörler T4 kabul edilir. Cerrahiye uygun lokal ileri evre hastalıkta, invaziv olarak yapılan evrelemede mediastinal lenf nodu tutulumu saptanmadıysa ve R0 rezeksiyon yapılabileceği öngörülüyorsa Evre 1 ve Evre 2 hastalıkta olduğu gibi anatomik cerrahi rezeksiyon yapılmalıdır (62,65,66). Hastada tek istasyon N2 tutulumu olduğu düşünülüyorsa intraoperatif örnekleme yapılabilir. Birden çok N2 tutulumu olduğu düşünülüyorsa mediastinel lenf nodu örnekleme cerrahiden önce yapılmalıdır. Bu hastaların tümünde kraniyal MR görüntülemesi olası beyin metastazlarının atlanmaması için elzemdir (62). Yapılan bir çalışmada cerrahiye uygun N2 hastalar neoadjuvan KRT sonrası cerrahi ve küratif KRT kollarına ayrılarak değerlendirildiğinde her iki grup arasında sağkalım farkı bulunmamıştır. Ancak yapılan neoadjuvan sonrası yapılan operasyon lobektomi ise cerrahi yapılan hastalarda sağkalım sonuçları daha iyi bulunmuştur (67). Literatüre göre; cerrahi öncesi

evrelemeye rağmen operasyon esnasında N2 istasyon tutulumu görülürse anatomik rezeksiyon tamamlanmalı ardından hasta adjuvan KT almalıdır (62). Operasyondan önce lenf nodu değerlendirmesinde tek istasyon N2 varlığı tespit edilebilirse hastanın genel durumu ve kitlenin özelliğine göre tedavi seçenekleri değişebilir. Rezidü tümör bırakılmayacağı düşünülüyorsa rezeksiyon sonrası adjuvan kemoterapi, hiler bölgeye yakın kitleler veya lenf nodunun ekstrakapsüler görünümü varsa indüksiyon KT sonrası cerrahi veya indüksiyon KRT sonrası cerrahi yöntemlerinden hastaya uygun olanı seçilmelidir. T4N0 olan hastalarda mediasten evrelemesi yapılmalı, R0 rezeksiyon elde edilebilecekse rezeksiyon ardından adjuvan KT uygulanmalıdır. Cerrahi öncesi tespit edilen multiple N2'ye evre küçültmeye yönelik verilen indüksiyon KT'den sonra mümkün olduğunca sleeve rezeksiyonlar pnömonektomi yerine tercih edilmelidir (66).

Rezeksiyona uygun olmayan lokal ileri evre KHDAK'lar; R0 rezeksiyonun başlangıçta veya neoadjuvan KT sonrası yapılamayacağı uzak organ metastazın olmadığı olgulardır. Bu hasta grubunda uygun tedavi KRT'dir. Genel durumu iyi, komorbiditesi olmayan hastalarda KT ve RT eş zamanlı verilebilir. Aksi durumda olan hastalarda tedavi ardışık şekilde uygulanmalıdır. İndüksiyon RT; KT'nin ardından 6-7 hafta süresince 60-66 Gy dozunda, 30-33 fraksiyonda verilir (62). İndüksiyon tedavisinde operasyon planlanıyorsa en uygun KT seçeneği, sisplatin içeren protokollerdir (66). Adjuvan, neoadjuvan veya konsolidasyon tedavisi amaçlı immünoterapi PD-1 ve PD-L1 inhibitörlerinin rutin uygulamada yeri yoktur, fakat kullanımına yönelik çalışmalar devam etmektedir. Hedefe yönelik kanser tedavilerinin Evre 4 olgularda önemli yeri olmakla birlikte, Evre 3 hastalıkta sadece seçilmiş olgularda yeri vardır (68).

N3'ün eşlik ettiği T3 ve T4 hastalık evre 3C olarak tanımlanmıştır. İleri evre ve metastatik (Evre 4) KHDAK'lerde tedavi hedefi; hayat kalitesini bozmadan, tedavi sonrası gelişen yan etkileri en aza indirerek sağkalımı arttırmaktır. Bu hastalarda tedavi başarısı metastaz sayı ve lokalizasyonui, metastatik lezyona bağlı semptom varlığı, histolojik tip ve diferansiasyon, sürücü mutasyon varlığı (EGFR, ALK, ROS1 vb.), tümörde yüksek miktarda PD-L1 ekspresyonu ile değişebilmektedir (69). PD-L1 yüksek ekspresyonu olan hastalarda anti-PD-L1 immünoterapiler ile sağkalımda

başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Düşük ya da orta derecede PD-L1 ekspresyonu olan hastalarda tedavide anti-PD-L1 immünoterapi ve KT'nin kombine olarak kullanılmasının da sağkalıma katkı sağladığı gösterilmiştir (70). Çoğu kanserde olduğu gibi KHDAK'nde de moleküler yolakların ve sürücü mutasyonların ortaya konması tedavide büyük yankı uyandırmıştır. Hedefe yönelik tedavilerin tedavinin birinci aşamasında kullanılmasıyla kemoterapiye göre progresyonsuz sağkalımda artış olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (69,70).

Oligometastatik hastalarda primer tümör R0 rezeksiyona uygun ise, invaziv mediastinal evreleme yapıldıktan sonra metastezktomiyle birlikte uygun akciğer rezeksiyonu yapılabilir. Metastaz kraniumda değil ise kraniyal MR değerlendirilmesi mutlaka yapılmalıdır. Birden fazla primer akciğer kanseri yani senkron tümör varlığında her lezyon için ayrı evreleme yapılır (71).

İzole beyin metastazı olan N0-N1 KHDAK'lere lezyonların rezeksiyonu sonrasında kranial RT uygulanır (72). Benzer şekilde rezeksiyona uygun N0-N1 primer akciğer lezyonu, ve izole adrenal metastaz olması durumunda her iki lezyona yönelik küratif cerrahi sonrası sistemik KT uygulanır (71). Şüpheli N2 durumlarında mutlaka invaziv mediastinel evreleme yapılmalıdır. Küratif cerrahi sonrasında metakron tümör ve özellikle beyin, sürrenal ve izole kemik metastazı olması durumunda yeniden evrelemenin ardından lezyonlara yönelik cerrahi yaklaşım önerilmektedir (73).

2.1.6. Akciğer Kanseri İmmünoterapi Tedavi Seçenekleri

Geçtiğimiz 20 yılda KHDAK moleküler yolaklarının daha iyi anlaşılması ile, immün kontrol noktası inhibitörleri kullanılmaya başlanmış ve KHDAK dahil solid tümörlerin tedavisinde önemli bir dönem noktası olmuştur (74). Tedavide kullanılan kontrol noktaları arasında programlanmış hücre ölümü-1 (PD-1) reseptörü, ilgili ligandı (PD-L1) ve sitotoksik T-lenfosit antijen-4 (CTLA-4) yer almaktadır (75,76). Evre 4 KHDAK de sistemik tedavi platin bazlı KT ve hedefe yönelik tedavilerdir. ALK ve EGFR gen yeniden düzenlemesi olan KHDAK hastalarında, ALK inhibitörleri ve epidermal EGFR-tirozin kinaz inhibitörleri gibi hedefe yönelik tedaviler ile sağkalım oranlarında yükselmeler saptanmıştır. PD-1 ve PD-L1 inhibitörlerinden atezolizumab,

pembrolizumab ve nivolumabın KHDAK vakalarında genel sağkalım üzerine başarılı sonuçlar elde ettiği gösterilmiş ve bu ilaçlar KHDAK tedavisinde kullanılmak üzere onay almıştır (77). KHDAK tedavisinde kemoterapi-immünoterapi kombinasyonları ilk basamak tedavi olarak da denenmeye başlanmıştır (77–79). Önceden tedavi almamış metastatik KHDAK hastalarında KT almadan immünoterapinin kullanılması da söz konusudur (80). Erken evre opere edilebilir KHDAK hastalarında immünoterapi kullanımı ile ilgili bir takım çalışmalar bildirilmiştir (81).

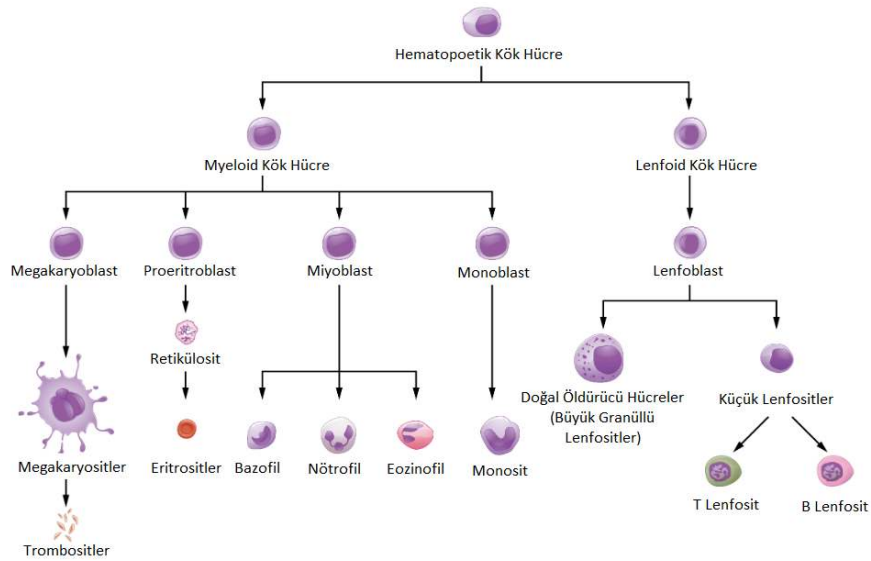
2.2. İnsan Bağışıklık (İmmün) Sistemi

Bağışıklık sistemi en basit tanımıyla; organizmadaki diğer sistemlerin işleyişinin aksamasına neden olan ve organizmaya zarar veren molekül veya canlı mikroorganizmalara karşı vücudun geliştirmiş olduğu savunma mekanizmalarıdır. İmmün sistem, doğuştan gelen (native / innate immünite) ve kazanılmış (edinsel / adaptif immünite) immün sistem olmak üzere ikiye ayrılır. İmmün sistem hücreleri diğer kan hücreleri gibi kemik iliğinden hematopoetik kök hücreden hematopoez ile oluşur, primer ve sekonder lenfoid organlarda olgunlaşırlar (82) (Şekil 2.2).

Doğal bağışıklıkta deri, tüy, kıl, mukozal bariyer, mide asidi vs. gibi fiziksel ve kimyasal bariyerler, nötrofil, eozinofil, NK hücre, mast hücresi ve makrofaj gibi immün sistem hücreleri, bazı plazma proteinleri ve kompleman sisteminin alternatif yolağı yer alır. Doğal bağışıklık hücreleri genel olarak kısıtlı sayıdaki mikrobiyal molekülleri tanır ve doku hasarının olduğu bölgelerdeki enflamasyondan sorumludur.

Edinsel bağışıklık antijene özgüdür, farklı antijenleri ayırt etme özelliğine sahiptir ve hafızası vardır. B hücre (hümmoral immünite) ve T hücre (hücre aracılı immünite) başlıca hücreleridir. B hücreleri bir patojenin antijenik kısmıyla karşılaştıktan sonra o antijene özgü plazma hücreleri ve hafıza hücreleri olmak üzere iki farklı hücreye dönüşebilir. Plazma hücresine dönüştüğünde mevcut antijene karşı antikör olarak çeşitli immünglobülinler üretir ve antijeni etkisiz hale getirir. Bellek hücrelerine dönüştüklerinde ise aynı antijen ile tekrar karşılaştığında daha kısa sürede, daha etkili bir yanıt ortaya çıkarırlar. T hücreleri hücresel bağışıklıktan sorumludur ve tüm lenfositlerin %80'ini oluşturur. Genellikle virüsle enfekte olan,

kanserogeneze katılan veya vücuda yabancı hücreleri hedef alırlar. T lenfositlerin birkaç hücresel tipi bulunmaktadır. Bunlardan ilki yardımcı (helper, CD4⁺) T hücrelerdir ve MHC sınıf II ile ilişkili molekülleri tanır. Hücresel bağışıklıkta aracı hücrelerdir, sitokin salınımına neden olarak efektör lenfositlerin çoğalmasını ve hedef bölgeye yönelmesini sağlar. Yardımcı T hücrelerin de çeşitli modülatör sistemde görevli alt tipleri vardır. Bir başka T hücre tipi öldürücü (sitotoksik, CD8⁺) T lenfositlerdir. Organizmaya özgü MHC sınıf I ile eşleşmiş molekülleri tanıyıp, diğer hücrelere karşı sitotoksik etki gösterirler. Üçüncü bir alt grup bellek T hücreleridir, hafızadan sorumludur (83). Kanser hücreleri, vücut hücrelerinden köken aldığından MHC-I ve MHC-II reseptörleri B ve T hücrelerince çoğu zaman yabancı gibi algılamazlar. Ayrıca kanser hücreleri bağışıklık sistemi tarafından tanınmamak için hücre yüzeylerinde PD-1 ve PD-L1 gibi reseptör ve ligandları eksprese ederler. Bazı immünoterapileri yöntemleri bu bileşenleri hedef alarak antikor benzeri tedavi seçenekleri sunmayı amaçlar (21,22).



Şekil 2.2. Hematopoetik kök hücreden gelişen myeloid ve lenfoid kökenli kan hücreleri

2.2.1 Kanserojenesis ve İmmün Yanıt

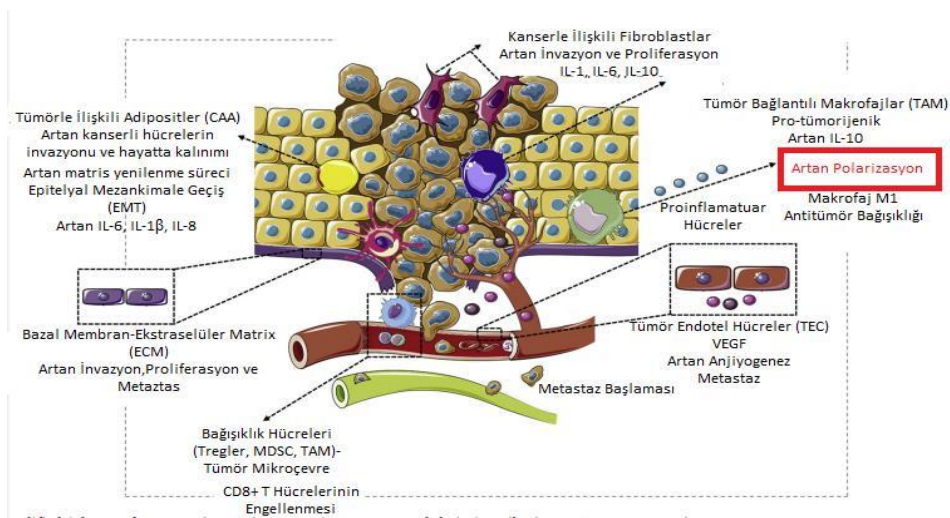
Kanser hücrelerinin malign transformasyona uğramadan bağışıklık sistemi tarafından etkisizleştirilmesine bağışıklık gözetimi denir. Karsinogenezis gerçekleşikten sonra da bağışıklık sistemi tümör hücrelerini eksprese ettikleri reseptör veya moleküller yoluyla tanımlayabilmekte, doğal ve kazanılmış immün sistem hücreleri ile yok edebilmektedir. Bununla birlikte, bağışıklık sistemi bazı gen ekspresyonlarının aktifleşmesiyle tümörün ilerlemesine katkı da sağlayabilmektedir (84).

Gen ekspresyonu bozulmuş, tümör baskılayıcı mekanizmalarından kaçmış bir hücre karsinogenezise doğru ilerler. Karsinogenezisin ilerlemesinin önlenmesinde bağışıklık sisteminin belirli görevleri vardır. İlk olarak viral enfeksiyonlara karşı bağışıklık yanıt oluşturarak virüs kaynaklı tümörlerin oluşmasını önlemektir. İkinci olarak patojenlerin eliminasyonu esnasında mümkün olduğunca kronik enflamatuvar bir ortamın oluşmasını önlemektir. Kronik enflamatuvar bir ortam hücrelerin malign transformasyonuna katkıda bulunmaktadır. Son olarak ise bağışıklık sistemi, tümör hücrelerin bazı reseptör veya antijenik proteinlerini tanıyabilmekte ve hücreleri etkisiz hale getirebilmektedir. İmmün gözetimin kanser öncüllerini tanıyabilmeyi ve kanserojenesis başlamadan yok edilmesini sağladığı dönem eleme dönemidir (elimination phase) (85,86). Gelişimine engel olunamayan kanser hücrelerinin, immün sistem tarafından uzun yıllar hücresel ve moleküler dengede tutulabildikleri dönem denge dönemidir (equilibrium phase). Denge döneminin kanserojenesis lehine ilerlemesiyle kaçış dönemi (escape phase) başlar. İmmün sistem, kanserin başlangıç aşamasında engelleyici rol üstlenmesine karşın, kanserojenesisin ilerlemesiyle zamanla tümöre karşı bir tolerans sergiler. Tolerans yanıtının gelişiminde kanser hücresinin veya mikro çevresinden immünsupresif mediatör salınımı etkilidir. Kanser tedavisinde immün yanıtı geliştirmek amacıyla çeşitli immün tedavi yöntemleri geliştirilmektedir. NK hücre, T hücre, makrofaj gibi immün sistem hücrelerinin çeşitli yöntemler ile geliştirilerek karsinogenezisi baskılama veya baskılayıcı moleküllerin ekspresyonunu arttırarak tümör gelişimini durdurması hedeflenmektedir.

2.2.2 Tümör Mikro Çevresi

Tümör hücrelerinin oluşumunda, çoğalarak kitlesel hale gelmesinde ve çevre dokulara yayılmasında tümörün olduğu mikro çevrenin (TMC) önemi büyüktür. Bu mikro ortam başlıca; kanser hücreleri, stromal doku (immün hücreler, fibroblastlar, vasküler doku, çeşitli faktör ve sitokinler vb.) ve hücre dışı (ekstrasellüler matriks) tarafından oluşturulur (87,88). TMC'nin kanser tedavilerinde direnci artırıp kanserin ilerlemesini sağladığı gösterilmiştir. Kanser tedavilerinin geliştirilmesinde tümör ve mikro çevresi arasındaki ilişkiyi anlamak önemlidir (89,90). Başlarda tümör oluşumu ve invazyonunu engellemeye çalışan mikro çevre, denge karsinogenezis lehine bozulduktan sonra tümör gelişimine katkı sağlamaktadır (91).

Çoğalmaya ve invaze olmaya çalışan tümör hücrelerinin destek aldığı mikro çevredeki hücreler ve hücresel olmayan elamanların oranının tümör genotipine bağlı olduğu bilinmektedir (92). Mikro çevredeki hücreler kanser ve mezenkimal kök hücreler, kanser hücreleri, kanserle ilgili fibroblastlar, dentritik hücreler, perisitler, NK hücreleri, adipositler, tümörle ilişkili makrofajlar veya Tip 2 makrofajlar (M2), düzenleyici T hücreleri gibi çeşitli hücreleri içerir. Ekstrasellüler matriks (ESM), sitokinler, büyüme faktörleri, DNA ve RNA'lar ise hücresel olmayan elemanlardır (Şekil 2.3) (87,93,94).



Şekil 2.3. Tümör mikro çevresi

TMÇ'nin hücreyel olmayan bileşenleri ile hücrelerin etkileşimleri invazyon ve metastaz gelişiminde belirleyici rolü üstlenmektedir. Kanseri hücreleri invazyon yapabilmek için bazal membran ve ESM kollojenini matriks metalloproteinazları (MMP) denen proteolitik enzimler ile hasarlayarak yeni dokulara invaze olmaya çalışır. Tümör ve matriks etkileşimi sitokin, kemokin, çeşitli büyüme faktörlerinin ve MMP üretimini artırmaktadır, bu da tümör büyümesini ve angiogenezi kolaylaştırmaktadır (95). MMP'ler neovaskülarizasyonda ve apoptozun başlatılmasında önemli bir yere sahiptir (96).

TMÇ'deki interlökinler (IL), TNF, interferonlar ve TGF- β vb. görevlere sahip sitokinler tümör oluşumunu etkilemektedir. Araştırmalar tümör infiltrate hücrelerden salınan IL-1, IL-6 ve IL-8 gibi farklı sitokinlerin, TMÇ'nin gelişimi için invazyon, proliferasyon ve epitel-mezenkimal geçişe katkı sağladığını göstermektedir (97). Epitel-mezenkimal geçiş, hücre yüzeyindeki E-kaderinin azalması sonrası epitel hücrelerin kendi özelliklerini mezenkimal özelliklere benzetip, hücreyel farklılaşmaya uğradığı bir süreçtir. E-kaderin azalması kanserde invazyon, metastaz ve tedaviye direnç gibi çeşitli tümör fonksiyonları ile ilişkilidir (98).

TMÇ'de farklı çeşit lenfositler yer almaktadır, bunlardan tümör hücrelerini direkt öldürebilen sitotoksik CD8⁺ T hücreleri iyi prognoz göstergesi kabul edilir. CD8⁺ T hücreler, tümör hücrelerinin immün sistemden kaçmak için hedef hücreleridir. Ayrıca T düzenleyici (T-reg) olarak bilinen bağışıklık bastırıcı CD4⁺ T hücreler, tümör hücrelerinin immün sistemden kaçmasını engellemede CD8⁺ T hücreleri destekler. CD4⁺ T hücreler bu düzenlemeyi CD25 ve FOXP3 molekülleri üzerinden yapar (99). T hücre aktivasyonunu ve proliferasyonunu B lenfositlerinin antijen sunumu da artırır. Ayrıca B hücreler antikor üretimi aracılığıyla immün yanıtta katkıda bulunur. Fakat B lenfositlerden B10 diğer bir adıyla B regülatör hücrelerin (B-reg) PD-L1 gibi inhibitör molekülleri eksprese ederek veya IL-10 gibi anti-inflamatuar sitokinler salgılayarak tümöre karşı oluşturulan otoimmün yanıtları baskıladı gösterilmiştir (100).

Tümör hücrelerinin invazyonunu, metastazı, anjiyogenezisi, kanser kök hücrelerinin korunmasını sağlayıp kemoterapi ve radyoterapiye karşı direnç gelişimine katkıda bulunan tümörle ilişkili makrofajlar (TİM) TMÇ'nin temel immün hücresi sayılabilir. Makrofajlar salgılanan sitokin ve büyüme faktörlerinin etkisiyle M1 ve M2

makrofaj olarak farklılaşırlar. M1 makrofajlar IL-6, IL-12 ve TNF- α gibi proinflatuvar sitokin üretilip patojeni öldürmek üzerine programlı iken M2 makrofajlar yara yeri iyileşmesine katkıda bulunan makrofajlar olarak bilinir. Tümör hücrelerinden salgılanan TNF- β makrofajların çoğunun M2 makrofaj olarak kalmasını sağlar, TMÇ'nin desteklenmesine ve tümör hücrelerinin çoğalmasına katkıda bulunur. Ayrıca M2 makrofajlar; T hücrelerini inhibe ederek immünoşüpresif ortamın devam etmesine katkıda bulunur (101–103). TMÇ' de yüksek miktarda TAM bulunması kanserin agresif ilerleyişi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (104). TMÇ'deki makrofajları hedefleyen birkaç farmakolojik ajan denemesinde tedaviyle ilgili anlamlı sonuçlar elde edilmiştir (105).

Kanserle ilişkili fibroblastlar (CAF) stromal bileşenlerdendir ve normal fibroblastlardan farklı olarak kanser hücrelerinin çoğalmasını, anjiyogenezini ve metastatik yayılma yeteneklerini artırır. Bazı kanser türlerinde sayısının tümör hücrelerinden bile fazla olduğu gösterilmiştir (106,107). Myeloid türevli baskılayıcı hücreler (MDSC); kemik iliğinde myeloid progenitör hücreden köken alan ve immünoşüpresif etkisi bulunan hücrelerdir (108). MDSC' lerin fenotipi ve fonksiyonları tümöre göre şekillenir, hatta kanserin ilerlemesiyle değişebilmektedir (109). Dentritik hücreler genel olarak tümör hücrelerini hasara uğratarak immünmodülatör etki gösterir. Ayrıca birçok tümör antijenini yakalayıp T hücrelerine sunarak T hücre yanıtını başlatır. Ancak aktivasyonu ve olgunlaşması sırasında TMÇ' den salınan sitokinler tarafından bloke edilip immünoşüpresif etki gösterebildiği bilinmektedir (91,110). Tümörle ilişkili nötrofiller (TAN); tümör genotipi ve TMÇ'ye bağlı olarak pro veya anti kanserojenik olarak davranabilmektedir (111). Perisitler; immünoşüpresif etki gösterir, anjiyogenez ve metastazda aktif rol alırlar (112). Kanserle ilişkili adipositler, fibroblastlara benzer fenotipe sahiptir ve normal adipositlere göre kollojen VI'ı aşırı eksprese ederken, adiponektini düşük eksprese ederler. Olgun adipositlerde PD-L1'in yüksek seviyedeki ekspresyonunun, CD8⁺ T hücreleri üzerinde immünoşüpresif etkiye neden olduğu gösterilmiştir (113,114). Bir başka hücre olan lenfatik endotelial hücreler (LEC) ve TMÇ'de oluşturduğu lenfatik damarlar, tümör hücrelerinin davranışlarını etkileyerek tümör invazyonunda ve metastazında önemli rol oynamaktadır (115,116).

NK hücreleri TMC'de sitotoksik T hücreler gibi tümör hücrelerini doğrudan yok etmektedir. T hücrenden farklı olarak NK hücreleri aktive edici ve inhibe edici sinyaller arasındaki bir denge tarafından yönlendirilir ve önceden duyarlılaştırma olmadan anti-tümör etkinlik gösterebilirler. Bu nedenle immünoterapi tedavilerinde NK hücreleri önemli çalışma koludur. Ancak NK hücrelerin TMC'de düşük oksijen düzeyi, nitrik oksit, TGF- β , düşük pH, laktat ve triptofan metaboliti l-kinürenin'den etkilenip aktivitelerinin azaldığı gösterilmiştir (117–120).

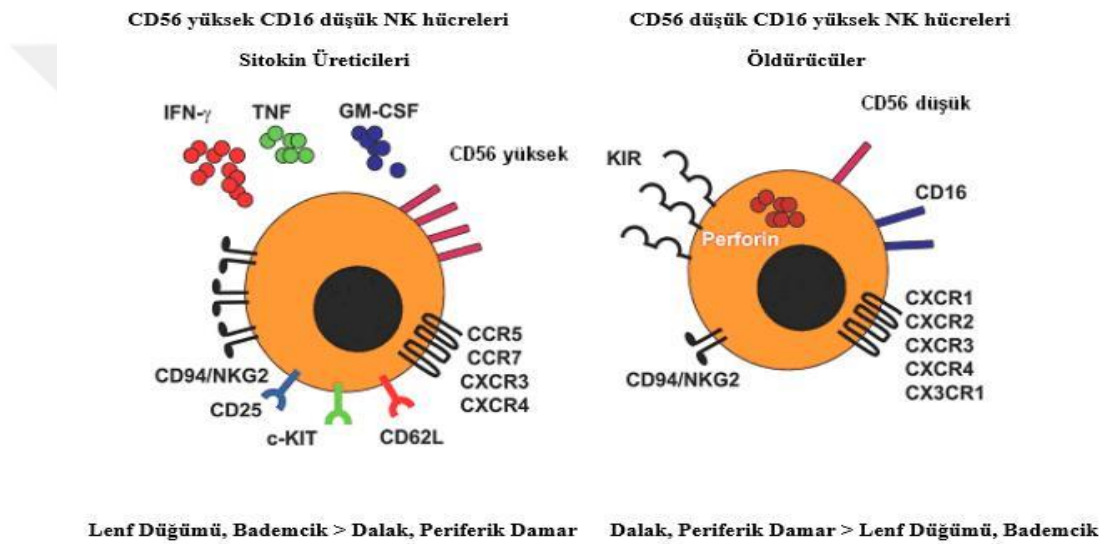
Tümör hücrelerinin sürekli proliferasyonu nedeniyle beslenme ve oksijene olan büyük ihtiyacı agresif bir anjiyogenez oluşmasına neden olmaktadır. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF/VEGF-a), trombosit büyüme faktörü (PDGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve epidermal büyüme faktörü (EGF) anjiogenik büyüme faktörleridir ve TMC'deki endotel, fibroblast ve makrofajlarda üretilir (121). Anjiogenik büyüme faktörlerine ve reseptörlerine karşı geliştirilen antianjiogenik ve antivaskülojenetik ilaçlar kanser tedavilerinde kullanılmaktadır (122,123). TMC etrafında anjiogenez meydana gelirken tümöral dokular kalıcı veya geçici hipoksiye maruz kalabilir. Hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 (HIF-1) hipoksik koşullar altında hipoksi indükleyici genlerin ana düzenleyici olarak aktive olur. İleri evre kanserlerin çoğunda tespit edilen HIF-1, anjiogenezin aktive eden genlerin transkripsiyonunu artırıcı yönde etki eder ve doğrudan PD-L1 ekspresyonunu indükler Tümör yüzeyinde eksprese olan PD-L1, T hücre yüzeyindeki PD-1 reseptörüne bağlanır ve T hücre çoğalmasını baskılar. Anti-PD-L1 antikorları ve PD-L1/PD-1 etkileşim inhibitörleri önemli bir tedavi yöntemi olarak görülmekte ve geliştirilmektedir (124).

2.2.3 Doğal Öldürücü (NK) Hücreler

Doğal öldürücü (NK) hücreler, doğal immünitinin kemik iliği kaynaklı lenfosit alt grubundandır ve periferik kan lenfosit havuzunun yaklaşık %5-10'nunu oluştururlar. T ve B lenfositlerden farklı olarak antikor veya antijen uyarısına gerek olmadan hedef hücreyi öldürebilme yeteneğine sahiptirler (125,126). Büyük granüllü yapıya sahiptir; salgıladıkları sitokinler ve kemokinlerle enfekte vücut hücrelerini doğrudan öldürebilme yetenekleri vardır. Bu yetenekleri ile virüslere ve tümör hücrelerine karşı bağışıklıkta önemli bir rol üstlenirler (127). NK hücreleri doğal bağışıklığın yanı sıra adaptif immün yanıtta da rol oynamaktadır (128). Fc γ RIIIa (CD16a) reseptörü aracılığıyla gerçekleşen antikor bağımlı hücrel sitotoksiste

(ADCC) buna örnektir (129). Ayrıca NK hücrelerinin de diğer lenfoid kökenli hücrelerde olduğu gibi hafıza fonksiyonu sergiledikleri gösterilmiştir (130).

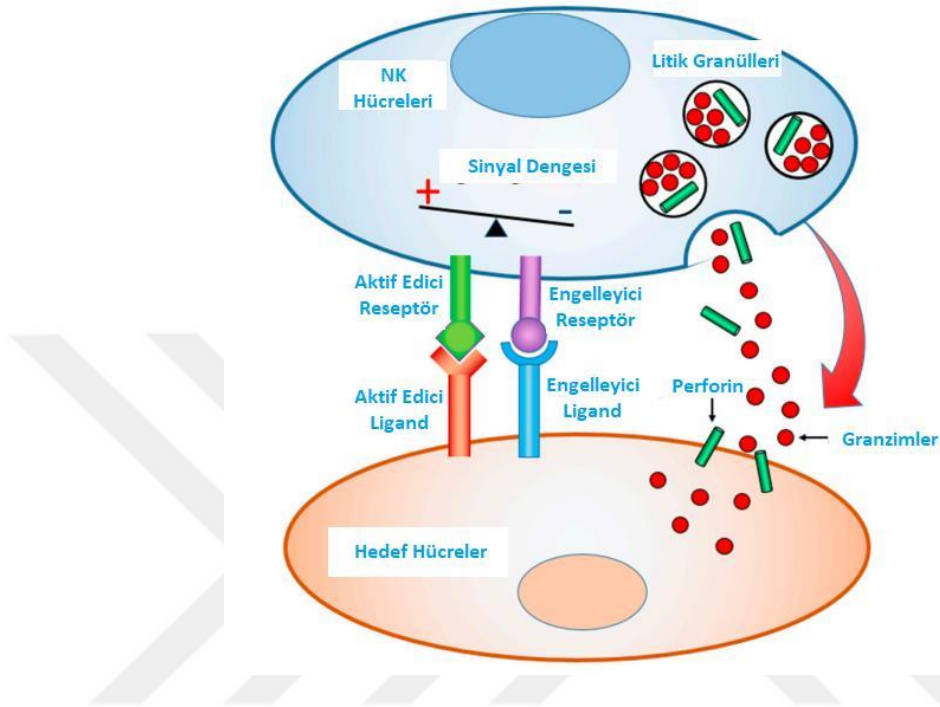
İnsan periferik kanında $CD56^+ CD3^-$ matur NK hücre popülasyonları $CD16$ ($Fc\gamma RIII$) ve $CD56$ (NCAM) ekspresyonuna göre ikiye ayrılır. $CD56^{dim}$ ($CD56^{soluk}$) $CD16^+$ NK hücreleri baskın oranda (yaklaşık %90) kanda bulunup doğrudan hedef hücreyi öldürürken, $CD56^{bright}$ ($CD56^{parlak}$) $CD16^-$ hücreler çoğunlukla lenfoid organlarda bulunup sitokin salgırlar, az miktarda da olsa hedef hücre öldürme yetenekleri vardır (Şekil 2.4) (126,131,132).



Şekil 2.4. $CD56^{bright}$ ve $CD56^{dim}$ NK hücreleri

NK hücrelerinin hedef hücrelere vereceği yanıt, yüzeylerinde bulunan aktivatör veya inhibitör reseptörlerden gelen sinyaller arasındaki denge ile kontrol edilir (Şekil 2.5). NK hücre reseptörleri, hücre ligandları ile etkileşerek organizmaya ait olmayan hücreleri tanır. Vücutta tüm çekirdekli hücrelerin yüzeyinde bulunan, hücrenin sağlıklı ve organizmaya ait olduğunu gösteren doku antijenlerini kodlayan gen bölgesi, Major Doku Uyum Kompleksi-I (Major Histocompatibility Complex-MHC-I) MHC-I varlığında baskılayıcı NK reseptörü aktive olur ve NK hücreleri bu hücreyi yok etmez (133). Hedef hücre yüzeyinde MHC-I molekülü olmaması (missing self (özün kaybı) teorisi), değiştirilmiş MHC-I olması veya stres kaynaklı moleküllerin varlığında aktive edici NK reseptörleri devreye girer ve hücre yok

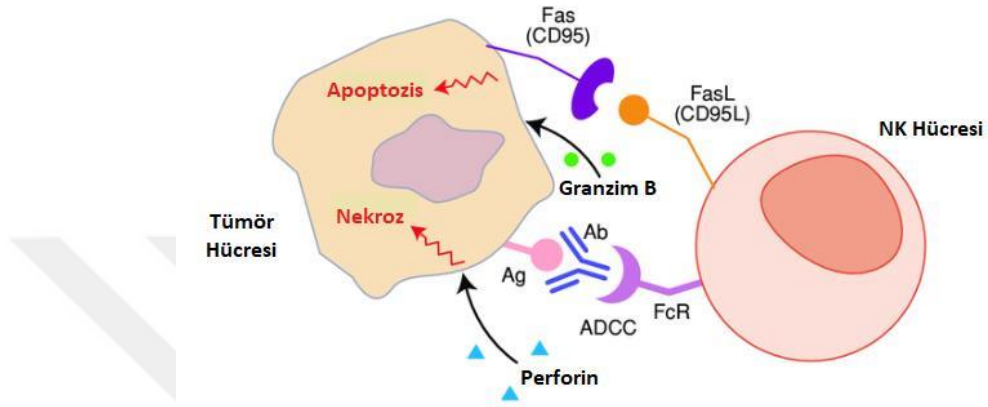
etme mekanizmaları başlatılır. Aynı şekilde IgG antikoru ile kaplanmış hücreler; NK hücresi yüzeyindeki Fc reseptörleriyle NK hücrelerinin hedefi haline gelir ve antikor aracılı hücrel sitotoksiste ile lizise uğratılır.



Şekil 2.5. NK hücre aktivasyonunun aktive ve inhibe edici reseptörler tarafından düzenlenmesi

Aktive edici reseptörleri devreye girdiğinde NK hücreleri üç farklı şekilde hedef hücreleri yok edebilir. Bunlardan ilki ve en etkin olanı perforin ve granzim A-B mediatörleri aracılığıyla sitolitik etkidir. Bu işlevin nükleusdan bağımsız olduğu düşünülür. Perforin; NK yüzeyinde bulunan ligandlarıyla hedef hücredeki ölüm reseptörlerine bağlanır. NK hücreleri ile hedef hücre arasında immunolojik sinaps oluşturulur. Bu köprü vasıtasıyla adaptör proteinler, NK hücresinde kalsiyum salınımına yol açar ve perforin içeren granüller salınır. Perforin salgılandıktan sonra hedef hücrede ortamdaki kalsiyum da etkisiyle transmembran porları oluşturur. Poliperforin porları denen bu porlar; granzim A ve granzim B moleküllerinin hücre içine girişini kolaylaştırır (Şekil 2.6). Perforinin tek başına apoptozisi başlatma yeteneği yoktur granzim aracılığıyla apoptozise yol açar. İkinci ölüm mekanizması ise;

TNF-alfa gibi salgıladıkları sitokinler ile hedef hücrenin lizozom stabilitesini bozmalarıdır. Böylece serbest kalan hidroliz enzimleri ile, hedef hücrenin DNA'sını parçalanır ve hücre yok edilir. Üçüncü mekanizma da ise Fas/FasL ve TNF ile ilişkili apoptoz uyarıcı ligand (TRAIL) yollarından hücreye ölüm sinyali verilmesiyle hücre apoptozise yönlendirilir.



Şekil 2.6. NK hücrelerin hedef hücreyi yok etmek için kullandıkları farklı yollar

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Uygulama ve Araştırma Hastanesi Göğüs Cerrahi Kliniği'ne başvuran KHDAK tanısı nedeniyle anatomik akciğer rezeksiyon (lobektomi, bilobektomi, pnömonektomi, ekstended pnömonektomi) yapılan 40 hasta dahil edilmiştir. Hastalara çalışma hakkında bilgi verilmiş ve çalışmaya dahil olmak istediklerine dair gönüllü onam formu alınmıştır.

Çalışmaya dahil edilen hastaların bilinen romatolojik hastalık, immünsuprese durum, gebelik, bulaşıcı hastalığı olmaması, daha önceden bilinen malignitesinin olmaması, önceden kemoterapi-radyoterapi tedavisi almamış olması kriter olarak belirlenmiş ve hasta seçimi buna göre yapılmıştır.

Bu çalışmada, hastalardan operasyon öncesi ve operasyon sonrası 1. ve 3. haftada alınan 1'er ml venöz kandan IFN- γ miktarı ölçülerek NK hücre aktivitesine bakılması ve opere edilen hastalardan çıkarılan rezeksiyon materyalinden tümör mikro çevresindeki NK hücrelerini belirlemek amaçlı immünohistokimyasal boyama yapılması planlanmıştır.

Çalışmanın cerrahi kısmı Gaziantep Üniversitesi Göğüs Cerrahi Ana Bilim Dalı'nda, moleküler kısmı Gaziantep Üniversitesi İleri Düzey Eğitim Araştırma Laboratuvarı (TIP-İDEAL)'nda, patolojik materyallerin incelenmesi kısmı ise Gaziantep Üniversitesi Patoloji Ana Bilim Dalı'nda yapılmıştır.

Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2021/128 no'lu karar ile onay almıştır.

3.1 Akciğerin Cerrahi Rezeksiyonu

Tüm hastalar preopereatif dönemde kardiyopulmoner sistem ve solunum rezervleri açısından değerlendirildi. Hastaların solunum fonksiyon testleri detaylı olarak incelendi. FEV1 değeri %60'ın altında olan hastalara DLCO ve kantitatif akciğer perfüzyon sintigrafisi yapılarak solunum rezervleri değerlendirildi. Tüm hastalar PET-BT, kranial manyetik rezonans görüntüleme, PET'de N2 ve N3 tutulumuna göre EBUS veya mediastinoskopi yapılarak evreleme ve uzak metastaz

durumları belirlenerek operasyona alındı. Tüm hastalar en geç son 10 gün içinde çekilmiş kontrastlı toraks bilgisayarlı tomografileri ile operasyon öncesi değerlendirildi. Cerrahi açıdan sıkıntı yaşanılabilecek ana pulmoner arter veya trakea invazyonu gibi şüpheli durumu olan hastaların operasyon öncesi son gece radyolojik incelemeleri yenilendi. Operasyon esnasında hastalara rigid bronkoskopi yapılarak bronş cerrahi sınır tespit edildi. Çift lümen entübasyon tüpü ile entübe edilen hastalara uygun taraf posterolateral torakotomi kesisi veya VATS için port giriş kesileri yapıldı. Tümörün yerleşim yeri ve anatomik uygunluğa göre hastalara; lobektomi, bilobektomi, pnömonektomi veya ekstended pnömonektomi rezeksiyonları uygulandı. Tüm hastalara sistematik mediastinel lenf nodu diseksiyonu yapıldı. İntraoperatif hava kaçağı ve kanama kontrolü sonrası uygun sayı ve ölçüde göğüs tüpü yerleştirildi. Tüm vakalar komplikasyonsuz olarak tamamlandı. Tüm hastalar postoperatif yoğun bakımda bir gün takip edildi, ertesi gün göğüs cerrahi servisine alındı. Göğüs tüpünden hava kaçağı kesilip, 24 saatlik drenaj 100 ml altına düştüğünde göğüs tüpleri uygun şekilde çekildi. Göğüs tüpleri çekildikten bir gün sonra genel durumu, kan sonuçları ve vital değerleri iyi olan hastalar şifa ile taburcu edildi. Postoperatif dönemde en sık görülen komplikasyonlar pnömoni, uzamış hava kaçağı ve atelektazidir.

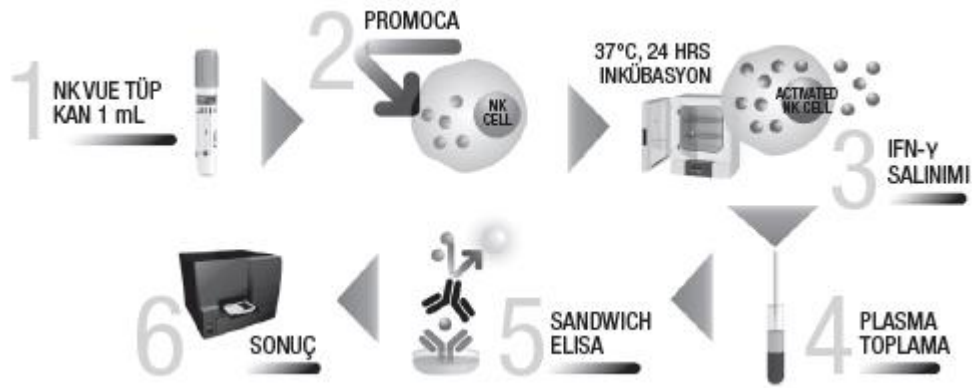
3.2. NK Aktivasyonun Ölçülmesi

3.2.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Cerrahi operasyondan hemen önce ve postoperatif birinci ve üçüncü haftada hastalardan alınan 1'er ml venöz kan NK VUE® tüplerinin içerisine alındı. NK VUE® tüpünün içerisinde tam kanda NK hücrelerini stimüle etmek için tescilli bir stabilizatör olan immünmodülatör sitokin (Promoca) bulunmaktadır. Hasta kanları tüp içerisine alındıktan sonra 37°C'lik 24 saat inkübatörde bekletilerek IFN- γ salınımı olması beklendi. 24 saat sonra inkübatörden alınan tüplerin plazmaları ayrıştırılarak ependorf tüplere konuldu ve deney zamanına kadar -80 °C'de muhafaza edildi.

3.2.2. NK Aktivasyonun Belirlenmesi

Plazma kısımları alınan numunelerdeki IFN- γ miktarını belirlemek için Sandwich Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELİSA) yöntemi kullanıldı. Bu amaçla anti-IFN- γ monoklonal antikoru önceden adsorbe edilmiş mikro plakalar kullanıldı. Hasta numuneleri, mikro plakalar üzerindeki kuyucuklara pipetle konuldu, hasta örneklerindeki antijenlerin immobilize edilmiş IFN- γ antikoruna bağlanması için numuneler bekletildi. Bağlanmamış tüm materyal yıkandıktan sonra, raportör enzime konjuge edilmiş ikinci bir anti IFN- γ monoklonal antikoru kuyucuklara ilave edildi. Bağlanmamış antikor kompleksini uzaklaştırmak için yıkama yapıldı, yıkamadan sonra substrat solüsyonu kuyucuklara eklendi ve renk değişikliği gözlemlendi. Renk değişikliği gözlenen numunelerdeki IFN- γ miktarını ölçmek için BioTek μ Quant Microplate Spectrophotometer® (mikroplaka spektrofotometresi) cihazı kullanıldı. Numuneler 450 nm dalga boyunda okutuldu ve ölçülen OD (optik dansite) değerleri kaydedildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. NK aktivasyonunun belirlenme aşamaları (134)

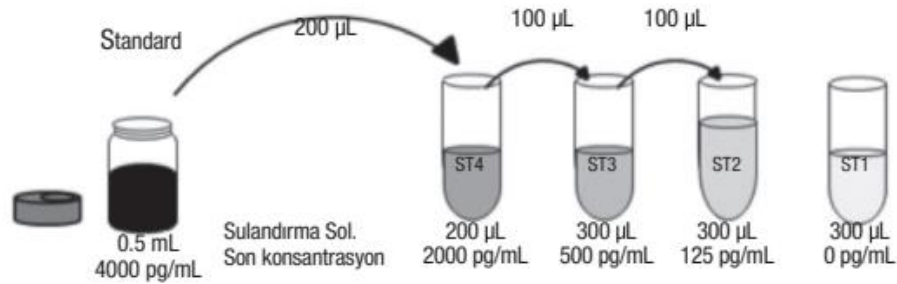
3.2.2.1 Standartların Hazırlanması

Tüm IFN- γ standartları yüksek pozitif kontrol ve düşük pozitif kontrol olarak belirlendi ve sırayla 500 uL deiyonize su içerisinde çözündürüldü. IFN- γ 'ların sonuç konsantrasyonları; standart için 4,000 pg/ mL, yüksek pozitif kontrol için 1,000 pg/mL ve düşük pozitif kontrol için 165 pg / mL olarak belirlendi. Bu üç solüsyondan 100 μ L'lik kısım her çalışma için kullanılmak üzere ayrıldı. Ependorf tüplerindeki standart solüsyonlarını seyreltmek için 1'den 4'e kadar numara verildi. Şekil 3.2 ve Tablo 3.1'deki şekilde seri sulandırma yapıldı.

Tablo 3.1. Standart sulandırma metodu

Standard Sulandırma Metodu (standart aralığı = 0-2,000pg/ml)			
ST	Seyreltme (μ L)	Sulandırmadan Önceki Standart Solüsyon (μ L)	Son Standart Konsantrasyon
1	300	0	0 (blank)
2	300	100	125
3	300	100	500
4	200	200	2000

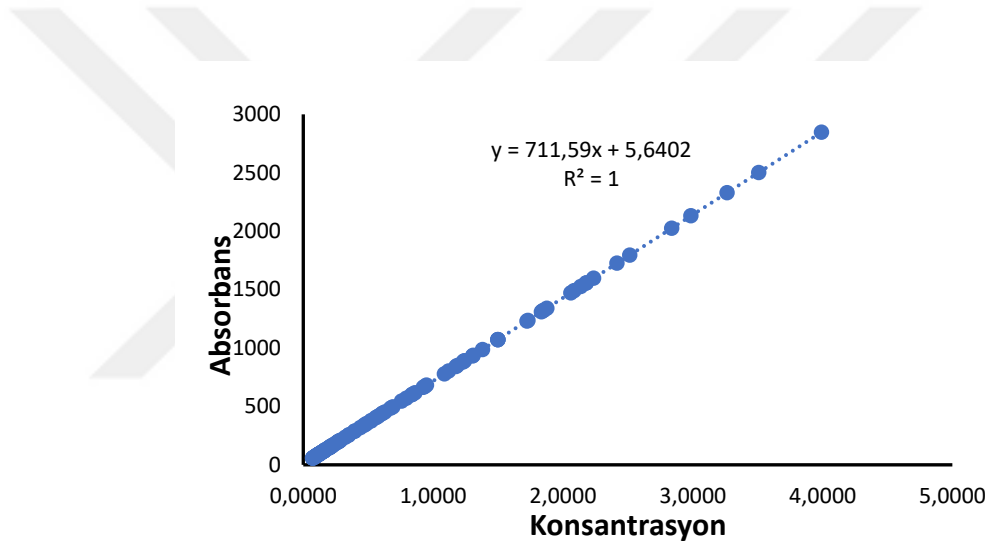
Sulandırma solüsyonundan Şekil 3.2'de de görüldüğü gibi 200 uL Tüp 4'e, 300 uL' Tüp 3'e ve Tüp 1'e konuldu. IFN- γ stok standartından (4,000 pg / mL) 200 μ L alıp tüp 4'e konuldu ve iyice karıştırıldı. Tüp 4'e den 100 μ L alarak 3'e konuldu ve iyice karıştırıldı. Tüp 3'den 100 μ L alınıp Tüp 2'ye konuldu ve iyice karıştırıldı. Tüp 1'e sulandırma solüsyonundan başka bir şey konulmadı (tüp 1 (0 pg/mL)).



Şekil 3.2. Standart solüsyonları seyreltme işlemi

3.2.2.2 Numunelerin Absorbans Değerlerine Göre Konsantrasyon Değerinin Belirlenmesi

Spektrofotometresinde 450 nm dalga boyunda okutulan örneklerin OD değerlerine göre salınan IFN- γ miktarı hesaplandı. Bu hesaplama için standartların OD değerine göre Curve Expert® programında eğri çizdirildi (Şekil 3.3). Bu eğrinin denklemine göre numunelerdeki IFN- γ konsantrasyonu hesaplandı. Curve Expert® programında oluşturulan ve prosedürde belirtilen eğrinin denlemi; $y=b*x+a$ (x: konsantrasyon, y: düzeltilmiş absorbans değeri)'dir. Prosedürde belirlenen $R^2 \geq 0,98$ şartı sağlanmış olup çalışmamızda $R^2=1$ bulunmuştur (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Standart eğri üzerinde doğrusal regresyon analizi (x eksen: absorbans, y eksen: konsantrasyon)

3.3 Patolojik Verilerin Elde Edilme Yöntemleri

3.3.1 Doku Fiksasyonu ve Preparasyonu

Patoloji spesmenleri Gaziantep Üniversitesi Patoloji Ana Bilim Dalı'nda rutin çalışmalar kapsamında örneklenip tanı için gerekli prosedürler uygulandı. Bu bağlamda hastaların tedavileri için gerekli olan patoloji raporlarında, tümörün histolojik tipi, boyutu, lenf nodu ve uzak organ metastaz durumu gibi özellikleri tespit

edilip kaydedildi. Rutin preparasyon işlemler sırasında CD56 ve CD16 immün belirteçi için gerekli olan boyasız kesitler Poly-L-lizin kaplı lamalara alındı.

3.3.2 İmmünohistokimyasal Çalışma

İmmünohistokimyasal çalışmalar, 5µm kalınlığındaki formalinde tespit edilmiş, parafine gömülmüş kesitlere uygulandı. CD56 (123C3.D5, Monoclonal Mouse Antibody, 1:100, Cell Marque Sigma-Aldrich, USA) ve CD16 (116R-14, Monoclonal Rabbit Antibody, 1:100, Cell Marque Sigma-Aldrich, USA) antikoru otomatik immünohistokimya boyama cihazında (Ventana, Bench Mark Ultra AutoStainer, Roche Diagnostics, IN, USA) boyandı.

3.3.3 İmmün Reaktivite Skorlaması

CD56 ve CD16 immün reaktivitesi değerlendirilirken, boyanma yoğunluğuna bakılmaksızın, tümör dokusu ile temas halindeki, kahverenginde sitoplazmik-membranöz boyanma gösteren hücrelerin toplam sayısı, beş adet büyük büyütme alanında (BBA) (400x) sayıldı. Tümör dokusunun kendisiyle doğrudan temas halinde olan CD56⁺ ve CD16⁺ hücreler 'intratümöral', tümörü çevreleyen stroma içerisinde saptanan CD56⁺ ve CD16⁺ hücreler ise ''stromal-peritümöral'' olarak sayıldı (135). Kontrol boyanma amacıyla dokularda yeterli düzeyde saptanan periferik nöral yapılar internal kontrol olarak kullanıldı. Sayılan hücrelerin geniş dağılıma sahip olması nedeniyle istatistiksel veriyi etkilememesi için Tablo 3.2'ye göre immünohistolojik skorlama yapıldı. Preparatlarda sayılan CD 56⁺ ve CD16⁺ hücreler intratümöral, stromal ve total sayılacak şekilde, hücre sayısına göre 0'dan başlayıp +3'e kadar skorlandırıldı (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. CD56 ve CD16'nın immün reaktivite skorlanmasının belirlenmesi

Patoloji Verileri	Hücre Sayısı (n=adet)	İmmüno reaktivite Skorlaması
CD56 Stroma CD56 Tümör	0	0
	$1 \leq n \leq 2$	+1
	$3 \leq n \leq 5$	+2
	$n > 5$	+3
CD56 Total	0	0
	$1 \leq n \leq 5$	+1
	$5 < n \leq 10$	+2
	$n > 10$	+3
CD16 Stroma CD16 Tümör	0	0
	$n < 10$	+1
	$10 \leq n \leq 20$	+2
	$n > 20$	+3
CD16 Total	0	0
	$n < 20$	+1
	$20 \leq n < 40$	+2
	$n \geq 40$	+3

3.4 İstatistiksel Analiz Yöntemleri

ELISA yöntemiyle ölçülen IFN- γ konsantrasyonlarının normal dağılıma uygunluğu Sharphiro Wilk Testi ile test edilmiştir. Farklı zamanlarda ölçülen IFN- γ değerleri Freidman ve Dunn Çoklu Karşılaştırma Testleri ile değerlendirilmiş olup, $<0,05$ düzeyi anlamlı kabul edilmiştir. Sayısal değişkenler arasındaki istatistiksel anlamlılığa Sperman Rank Korelasyon Testi ile bakılmıştır. Farklı zamanda elde edilen ölçümleri karşılaştırılmasında Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi ve 2 farklı grupta elde edilen ölçümlerin karşılaştırılmasında Mann Whitney U Testleri kullanılmıştır. Analizler SPSS 24.0 windows paket programı kullanılmış ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya katılan KHDAK tanılı 40 hastanın 35'i (%87,5) erkek, 5'i (%12,5) kadındır (Tablo 4.1). Her iki cinsiyet birlikte değerlendirildiğinde yaş ortalaması $64,25 \pm 7,95$ yıl olup medyan değeri 63,5'tur (Tablo 4.2).

Çalışmaya dahil edilen 40 hastanın lezyonları incelendiğinde tümör çapı ortalama $50,22 \pm 23,03$ bulunmuştur. Lezyon lokalizasyonu hastaların 8'inde (%20) tümör sağ üst lobta iken, 2'sinde (%5) sağ orta lob, 8'inde (%20) sağ alt lob, 1'inde (%2,5) sağ hiler bölge, 6'sında (%15) sol üst lob, 3'ünde (%7,5) lingula, 8'inde (%20) sol alt lob, 4'ünde (%10) sol hiler bölge yerleşimindedir. Cerrahi öncesi yapılan bronkoskopi işleminde hastaların 15 'inde (%37,5) endobronşial lezyon saptanmamış olup, 25'inde (%62,5) endobronşial lezyona rastlanmamıştır.

Çalışmaya dahil edilen 40 hastanın PET-BT raporları analiz edildiğinde; 5 hastada (%12,5) N1 lenf nodu tutulumu görülürken, 35 hastada (%12,5) tutulum görülmemiştir. PET'de N2 lenf nodu tutulumu 11 hastada (%27,5) görülürken; 29 hastada (%72,5) görülmemiştir. PET SUVmax sınır değeri 2,5 kabul edilmiş olup, bu değer altı değerlendirmeye alınmamıştır (136).

Çalışmaya dahil edilen 40 hastanın 6'sına (%15) sağ üst lobektomi, 2'sine (%5) sağ orta lobektomi, 5'ine (%12,5) sağ alt lobektomi, 3'üne (%7,5) sağ alt bilobektomi, 2'sine (%5) sağ pnömonektomi, 1'ine (%2,5) sağ ekstended pnömonektomi, 5'ine (%12,5) sol üst lobektomi, 7'sine (%17,5) sol alt lobektomi, 7'sine (%17,5) sol pnömonektomi, 2'sine (%5) sol ekstended pnömonektomi yapılmıştır.

Çalışmaya dahil edilen 40 hastanın patoloji verileri incelendiğinde; 23 hasta (%57,5) skuamöz hücreli karsinom, 15 hasta (%37,5) adenokarsinom, 2 hasta (%5) adenoskuamöz karsinom tanısı almıştır. Diferansiasyon dereceleri incelendiğinde; 22 hasta (%55) az diferansiye, 14 hasta (%35) orta diferansiye, 4 hasta (%10) iyi diferansiye olarak raporlanmıştır. Mediastinel lenf nodları patolojik olarak incelendiğinde 24 hasta (%60) N0, 9 hasta (%22,5) N1, 7 hasta (%17,5) N2 olarak raporlanmıştır.

Histopatolojik olarak elde edilen bilgilerle hastaların patolojik evrelemesi yapılmıştır. Buna göre çalışmaya katılan 40 hastanın 1'i (%2,5) evre IA2, 5'i (%12,5) evre IA3, 5'i (%12,5) evre IB, 2'si (%5) evre IIA, 8'i (%20) evre IIB, 17'si (%42,5) evre IIIA, 2'si (%5) evre IIIB'dir.



Tablo 4.1. Genel tanımlayıcı istatistikler

TANIMLAYICI İSTATİSTİKLER (n=40)		N	%
CİNSİYET	Erkek	35	87,5
	Kadın	5	12,5
TÜMÖR YERLEŞİMİ	Sağ Üst Lob	8	20,0
	Sağ Orta Lob	2	5,0
	Sağ Alt Lob	8	20,0
	Sağ Hiler	1	2,5
	Sol Üst Lob	6	15,0
	Lingula	3	7,5
	Sol Alt Lob	8	20,0
	Sol Hiler	4	10,0
BRONKOSKOPI	Endobronşial Lezyon Yok	25	62,5
	Endobronşial Lezyon Var	15	37,5
PET N1	Yok	35	87,5
	Var	5	12,5
PET N2	Yok	29	72,5
	Var	11	27,5
OPERASYON	Sağ Üst Lobektomi	6	15,0
	Sağ Orta Lobektomi	2	5,0
	Sağ Alt Lobektomi	5	12,5
	Sağ Pnöminektomi	2	5,0
	Sağ Ekstended Pnöminektomi	1	2,5
	Sağ Alt Bilobektomi	3	7,5
	Sol Üst Lobektomi	5	12,5
	Sol Alt Lobektomi	7	17,5
	Sol Pnöminektomi	7	17,5
	Sol Ekstended Pnöminektomi	2	5,0
PATOLOJİ	Skumöz Hücreli Karsinom	23	57,5
	Adenokarsinom	15	37,5
	Adenoskumöz Karsinom	2	5,0

DİFERANSİYASYON	İyi Diferansiye	4	10,0
	Orta Diferansiye	14	35,0
	Az Diferansiye	22	55,0
T	T1a	0	0,0
	T1b	2	5,0
	T1c	7	17,5
	T2a	8	20,0
	T2b	5	12,5
	T3	9	22,5
	T4	9	22,5
N	0	24	60,0
	N1	9	22,5
	N2	7	17,5
EVRE	IA2	1	2,5
	IA3	5	12,5
	IB	5	12,5
	IIA	2	5,0
	IIB	8	20,0
	IIIA	17	42,5
	IIIB	2	5,0

Tablo 4.2. Tanımlayıcı istatistiklerin ortalama ve medyan değerleri

TANITICI ÖZELLİKLER	N	TANIMLAYICI İSTATİSTİKLER	
		Ort±St.Sapma	Medyan (Min-Max)
YAŞ (yıl)	40	64,25 ± 7,95	63,5 (41 -77)
TÜMÖR ÇAPI (mm)	40	50,22 ± 23,03	45 (15 -110)
KİTLE SUV _{max}	40	12,66 ± 7,23	11,45 (1,5 -28,5)
N1 SUV _{max} (tüm hastalar)	40	0,645 ± 1,89	0 (0-10,2)
N2 SUV _{max} (tüm hastalar)	40	1,28 ± 2,09	0 (0-7,5)
N1 SUV _{max}	5	4,56±3,2	3,2 (2,9-10,2)
N2 SUV _{max}	11	3,94±3,4	3,3 (2,6-7,5)

Tablo 4.3. Vakaların cerrahi öncesi ve sonrası 1. ve 3. Hafta IFN- γ düzeyleri ile immün reaktivite skorlamaları

Vaka	Cerrahi Öncesi	Cerrahi Sonrası 1.Hafta	Cerrahi Sonrası 3. Hafta	CD56 Total	CD56 Tümör	CD56 Stroma	CD16 Total	CD16 Tümör	CD16 Stroma
1	148,6704698	86,05025578	163,61393	+1	+1	+1	+2	+2	+2
2	123,7647029	121,6299228	88,1850358	+2	+2	+1	+2	+2	+2
3	58,29811548	1073,03022	157,921183	+2	+1	+2	+2	+2	+3
4	1073,03022	90,31981583	105,974869	+3	+3	+3	+2	+3	+2
5	1073,03022	58,29811548	71,818389	+1	+1	+1	+2	+1	+2
6	128,0342629	236,1964508	681,653882	0	0	0	+1	+1	+1
7	287,4311713	155,7864032	318,029685	+2	+2	+3	+1	+1	+1
8	337,9542985	96,7241559	110,956023	+1	+1	+1	+2	+2	+2
9	409,5405886	91,88532118	79,5036	+1	0	+1	+2	+2	+3
10	345,4260286	96,43951856	842,0470	+2	0	+2	+2	+2	+2
11	603,7344114	144,4720691	193,6432	+1	0	+2	+3	+2	+3
12	2328,209714	153,0823485	544,7433	+2	+2	+1	+3	+3	+3
13	93,45082653	78,5785257	81,9230	+1	+1	0	+2	+2	+2
14	57,23072547	107,7538527	496,3550	+2	+2	+2	+1	+1	+2
15	166,3179847	600,1052854	1489,9528	+2	+2	+1	+1	+1	+2
16	378,2304816	96,79531523	92,6681	+2	+1	+3	+1	+1	+1
17	778,928692	121,6299228	2131,2407	+1	+1	+1	+1	+1	+2
18	932,9886504	74,59360299	208,2308	+3	+3	+3	+1	+1	+1
19	988,1371343	131,0229549	2503,1905	+2	+2	+1	+3	+2	+3
20	200,901421	148,8127885	1231,8579	+2	+1	+2	+2	+1	+2
21	887,0197205	802,9093876	1596,8341	+1	+1	+1	+2	+2	+2
22	1236,839007	141,056421	570,4318	+2	+3	+1	+2	+2	+2
23	94,3047385	89,6082225	805,8981	0	0	0	+1	+1	+1
24	287,0042153	881,0423365	664,3622	+3	0	+3	+1	+1	+1
25	252,9900536	164,8236386	1340,3758	+2	0	+3	+2	+2	+2
26	177,4188408	79,93055305	441,4911	+2	+1	+2	+2	+2	+3
27	120,4202142	65,62752689	159,4155	+1	0	+2	+1	+1	+1

28	2847,103579	1725,490154	937,1871	+2	0	+3	+3	+2	+3
29	1795,012824	199,9051904	420,3568	+1	+2	0	+2	+2	+3
30	1472,376403	85,33866244	1527,7384	+1	0	+1	+3	+3	+3
31	107,2557373	158,7039359	1556,8425	+1	+1	+1	+1	+1	+1
32	82,99040442	95,79908456	185,8868	+1	+1	+1	+2	+2	+2
33	256,9749763	145,2548218	1318,6011	+2	0	+3	+2	+2	+3
34	1556,700214	77,08417968	617,1124	0	0	0	+1	+1	+1
35	196,5607017	438,0043223	2024,3594	+1	0	+1	+3	+3	+3
36	125,1167302	353,609352	485,1830	+3	2	+3	+1	+1	+1
37	672,0473722	60,36173617	890,5065	+2	2	+1	+3	+3	+3
38	157,6365459	73,24157564	119,9221	+3	2	+3	+3	+2	+3
39	96,5106779	199,2647563	1324,3650	+1	1	+1	+2	+2	+3
40	208,8712665	118,9970275	376,9496	+1	0	+1	+1	+1	+2

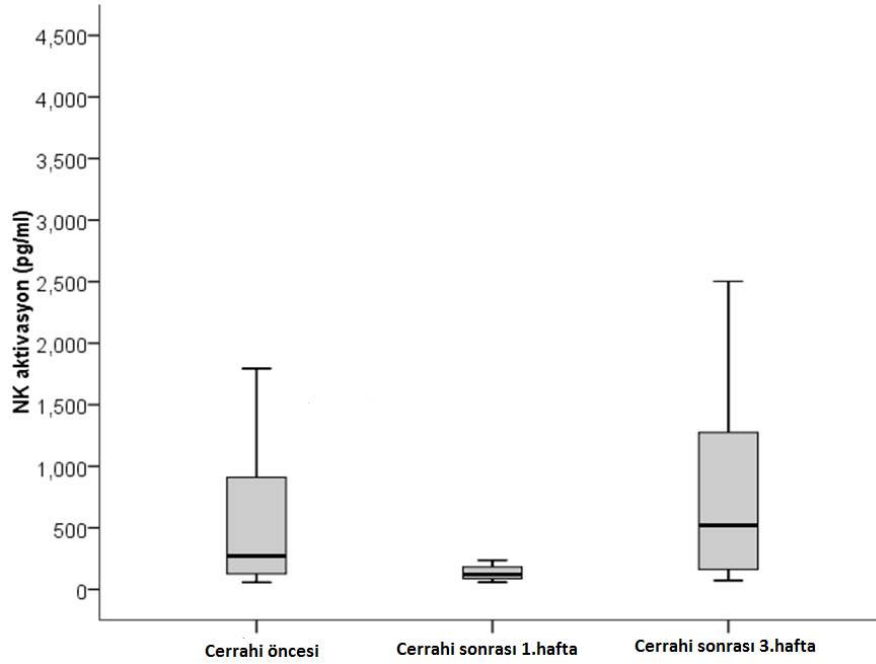
Tablo 4.4. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 1. ve 3. haftalarda alınan kanlardaki IFN- γ (pg/ml) değerlerinin karşılaştırılması

IFN- γ (pg/ml) (n=40)	Ortalama $\pm$ SS	Medyan (% 25- % 75)	pVs Cerrahi öncesi	pVs 1. hafta
Cerrahi öncesi	578,61 $\pm$ 660,6	271,99 (126,58 -910)		
Cerrahi sonrası 1.hafta	242,98 $\pm$ 334,91	121,63 (87,83 -182,04)	0.001*	
Cerrahi sonrası 3.hafta	723,93 $\pm$ 651,97	520,55 (161,51 -1275,23)	0.118	0,001*

* Freidman ve Dunn Çoklu Karşılaştırma Testi $p < 0,05$ anlamlı

Çalışmaya katılan 40 hastadan cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 1. ve 3. haftalarda alınan kan plazmasındaki IFN- γ değerleri Freidman ve Dunn Çoklu Karşılaştırma Testleri ile değerlendirilmiş olup, cerrahi öncesi ile cerrahi sonrası 1. hafta sonuçları karşılaştırıldığında anlamlı düşüş görülmüştür ($p= 0,001$). Cerrahi sonrası 1. hafta ile cerrahi sonrası 3. hafta karşılaştırıldığında anlamlı artış saptanmıştır ($p= 0,001$). Cerrahi öncesi değerler ile cerrahi sonrası 3. hafta karşılaştırıldığında artış görülmüş fakat anlamlı bulunmamıştır ($p= 0,118$). Cerrahi öncesi IFN- γ medyan (%25-%75) değeri 271,99, cerrahi sonrası 1.hafta IFN- γ medyan (%25-%75) değeri 121,63 ve cerrahi sonrası 3. hafta IFN- γ medyan (%25-%75) değeri 520,55 bulunmuştur (Tablo 4.4).

Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 1. hafta ve 3. haftada venöz kanda ölçülen IFN- γ (pg/ml) değerlerinin Box-plot grafiği ile karşılaştırılması Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



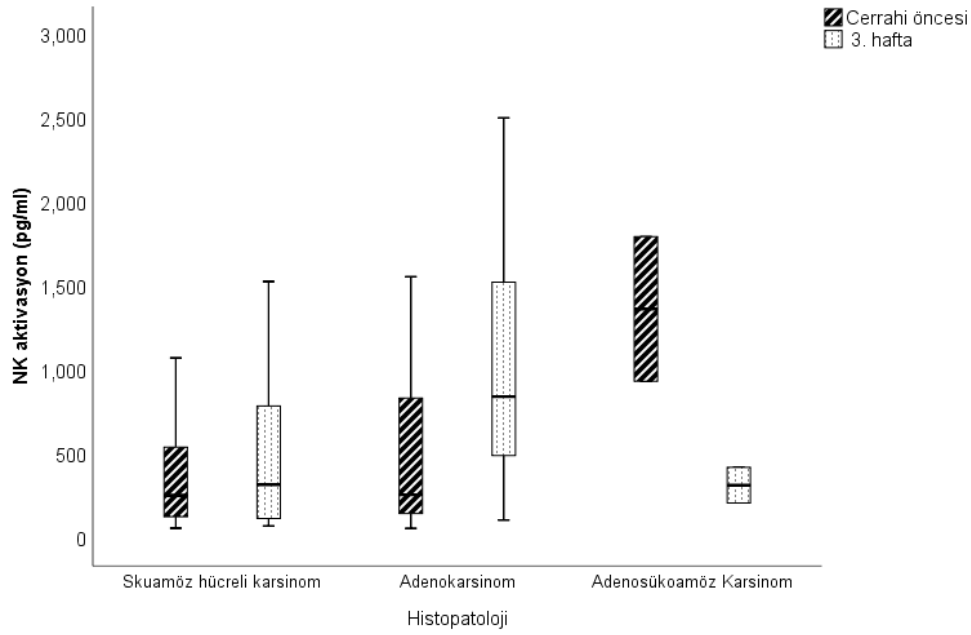
Şekil 4.1. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 1. ve 3. haftalarda alınan kanlardaki IFN- γ (pg/ml) değerlerinin Box-plot grafiği ile gösterilmesi

Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişiminin histopatolojik alt tiplerle Wilcoxon test ile karşılaştırılması Tablo 4.5’de, Box-plot grafiği Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Adenokarsinom alt tipinde cerrahi öncesine göre NK aktivasyonunda anlamlı yükselme görülmüştür ($p = 0,023$).

Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3.haftadaki NK aktivasyon değişiminin histopatolojik diferansiasyonlarla Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi ile karşılaştırılması Tablo 4.6’de, Box-plot grafiği Şekil 4.3’de gösterilmiştir. İyi diferansiye alt tipinde tüm hastalarda NK aktivasyonunda artış görülürken, hasta sayısının az olması nedeniyle anlamlı artış görülmemiştir ($p = 0,068$).

Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişiminin CD56 immün reaktivite skorlamasıyla Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi ile karşılaştırılması Tablo 4.7’de, Box-plot grafiği Şekil 4.4’de gösterilmiştir.

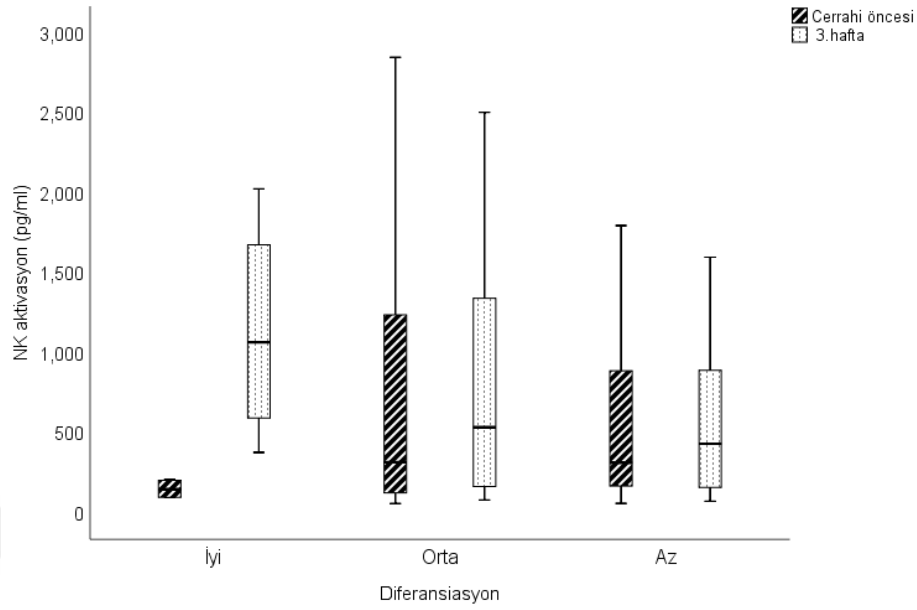
Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişiminin CD16 immün reaktivite skorlamasıyla Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi ile karşılaştırılması Tablo 4.8’de, Box-plot grafiği Şekil 4.5’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişimin histopatolojik alt tipler ile karşılaştırılması

Tablo 4.5. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişimi ile histopatolojik alt tiplerin Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi ile karşılaştırılması

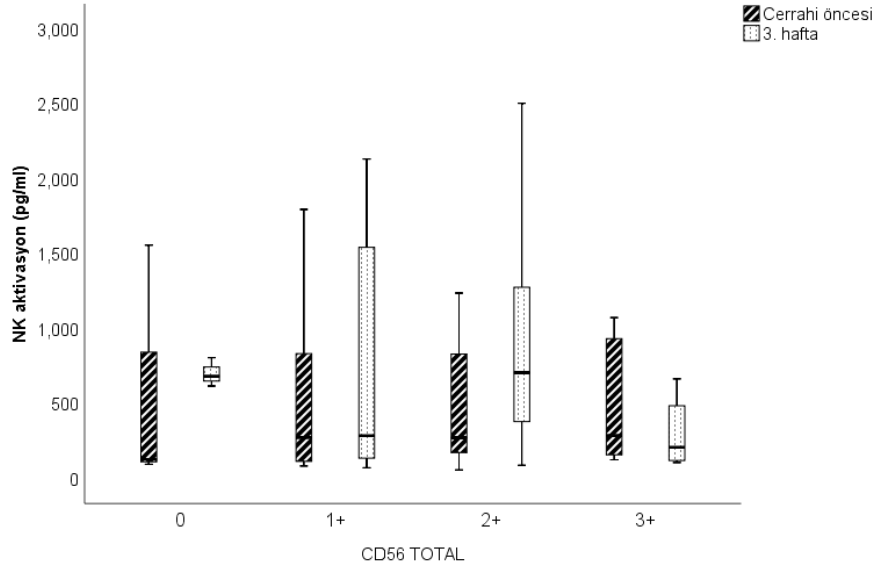
PATOLOJİ		N	Persentil Değeri			P
			25th	50th (Medyan)	75th	
SCC	NK aktivasyon cerrahi öncesi (pg/ml)	23	123.7647	252.9901	672.0474	0,761
	NK aktivasyon 3. hafta (pg/ml)	23	110.9560	318.0297	890.5065	
ADENOKARSİNOM	NK aktivasyon cerrahi öncesi (pg/ml)	15	125.1167	256.9750	887.0197	0,023*
	NK aktivasyon 3. hafta (pg/ml)	15	485.1830	842.0470	1556.8425	
ADENOSKUAMÖZ KARSİNOM	NK aktivasyon cerrahi öncesi (pg/ml)	2	699.7415	1364.0007	1412.2777	0,180
	NK aktivasyon 3. hafta (pg/ml)	2	156.1731	314.2938	381.2857	



Şekil 4.3. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişiminin histopatolojik diferansiasyon ile karşılaştırılması

Tablo 4.6. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişimi ile histopatolojik diferansiasyonların Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi ile karşılaştırılması

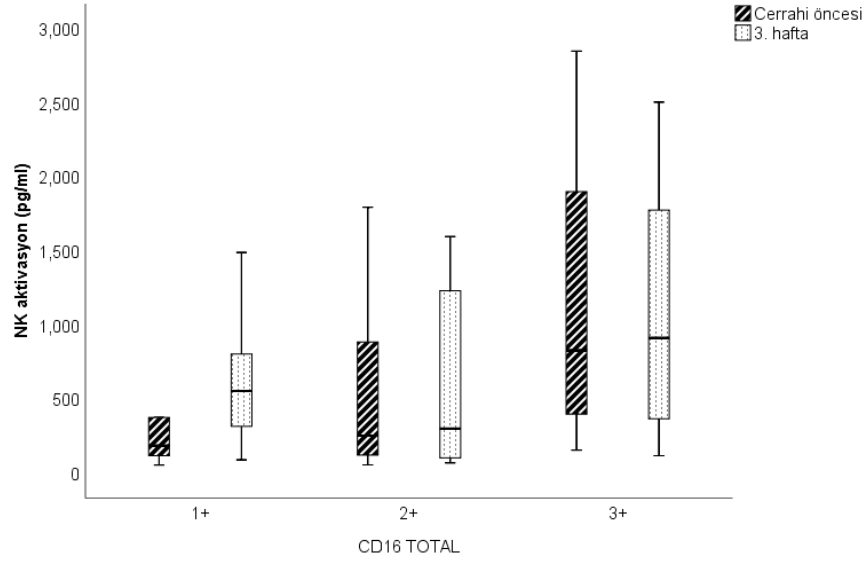
Diferansiasyon		N	Persentil			P
			25th	50th (Medyan)	75th	
İyi	NK aktivasyon cerrahi öncesi(pg/ml)	4	94.8562	146.5357	205.7936	0,068
	NK aktivasyon 3. hafta (pg/ml)	4	484.1867	1065.1315	1849.3608	
Orta	NK aktivasyon cerrahi öncesi(pg/ml)	14	119.6375	315.6103	1295.7234	0,683
	NK aktivasyon 3. hafta (pg/ml)	14	145.8775	533.3934	1387.2165	
Az	NK aktivasyon cerrahi öncesi(pg/ml)	22	164.1476	312.6927	898.5120	0,570
	NK aktivasyon 3. hafta (pg/ml)	22	148.4214	430.9240	975.8444	



Şekil 4.4. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişiminin CD56 immün reaktivite skorlaması ile karşılaştırılması

Tablo 4.7. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişimi ile CD56 immün reaktivite skorlamasının Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi ile karşılaştırılması

CD56 TOTAL		N	Persentil Değeri			P
			25th	50th (Medyan)	75th	
0	NK aktivasyon cerrahi öncesi (pg/ml)	3	94.3047	128.0343	1556.7002	1,000
	NK aktivasyon 3. hafta (pg/ml)	3	617.1124	681.6539	805.8981	
1+	NK aktivasyon cerrahi öncesi (pg/ml)	16	110.5469	273.4128	859.9970	0,352
	NK aktivasyon 3. hafta (pg/ml)	16	123.0709	285.2964	1549.5665	
2+	NK aktivasyon cerrahi öncesi (pg/ml)	16	169.0932	272.2031	909.1147	0,301
	NK aktivasyon 3. hafta (pg/ml)	16	348.8950	706.2394	1296.9153	
3+	NK aktivasyon cerrahi öncesi (pg/ml)	5	141.3766	287.0042	1003.0094	0,500
	NK aktivasyon 3. hafta (pg/ml)	5	112.9485	208.2308	574.7726	



Şekil 4.5. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişiminin CD16 immün reaktivite skorlaması ile karşılaştırılması

Tablo 4.8. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişimi ile CD16 immün reaktivite skorlamasının Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi ile karşılaştırılması

CD16 TOTAL		N	Persentil			P
			25th	50th (Medyan)	75th	
1+	NK aktivasyon cerrahi öncesi(pg/ml)	14	117.1291	187.5946	478.4050	0,084
	NK aktivasyon 3. hafta (pg/ml)	14	290.5800	556.7337	976.9117	
2+	NK aktivasyon cerrahi öncesi(pg/ml)	18	116.9512	254.9825	933.5223	0,528
	NK aktivasyon 3. hafta (pg/ml)	18	101.5274	303.1218	1253.5437	
3+	NK aktivasyon cerrahi öncesi(pg/ml)	8	298.3541	830.0923	2114.2514	0,889
	NK aktivasyon 3. hafta (pg/ml)	8	281.4182	913.8468	1900.2041	

Tablo 4.9. Diğer ölçümlerle NK aktivasyonu arasındaki ilişkinin Spearman Rank Korelasyon Testi ile değerlendirilmesi

		NK Aktivasyonu Cerrahi Öncesi (pg/ml)	NK Aktivasyonu Cerrahi Sonrası 1.hafta (pg/ml)	NK Aktivasyonu Cerrahi Sonrası 3.hafta (pg/ml)
CD56 TOTAL	r	0,093	0,127	-0,069
	P	0,567	0,433	0,670
CD56 TÜMÖR	r	0,081	-0,072	-0,187
	P	0,619	0,661	0,249
CD 56 STROMA	r	0,017	0,122	-0,109
	P	0,915	0,453	0,501
CD16 TOTAL	r	0,332*	-0,037	0,065
	P	0,036	0,822	0,691
CD16 TÜMÖR	r	0,263	-0,031	0,031
	P	0,101	0,851	0,851
CD16 STROMA	r	0,226	0,075	0,123
	P	0,161	0,647	0,450
N1 SUV	r	0,300	0,030	0,172
	P	0,060	0,853	0,288
N2 SUV	r	0,047	0,314*	0,079
	P	0,775	0,048	0,627
TÜMÖR ÇAPI	r	0,036	-0,274	-0,358*
	P	0,824	0,087	0,023
KİTLE SUV	r	0,048	-0,032	-0,159
	P	0,767	0,846	0,327

* Spearman Rank Korelasyon Testi $p < 0,05$ anlamlı

CD16 total skoru ile cerrahi öncesi NK aktivasyonu arasında pozitif yönde zayıf anlamlı korelasyon gözlenmiştir (Tablo 4.9) ($r=0,322$, $P=0,036$).

Tablo 4.10. Diğer ölçümlerle NK aktivasyonu arasındaki korelasyonun Mann Whitney U Testi ile değerlendirilmesi

	Artış (n=25)	Azalış (n=15)	
	Medyan[%25- %75]	Medyan[%25- %75]	P
CD56 TOTAL	2 [1 -2]	2 [1 -2]	0,679
CD56 TÜMÖR	1 [0 -1]	1 [0 -2]	0,140
CD 56 STROMA	1 [1 -2]	1 [1 -3]	0,847
CD16 TOTAL	2 [1 -2]	2 [2 -3]	0,173
CD16 TÜMÖR	2 [1 -2]	2 [1 -2]	0,319
CD16 STROMA	2 [1 -3]	2 [2 -3]	0,562
N1SUV	0 [0-0]	0 [0-0]	0,890
N2SUV	1.70 [0-2.60]	1.79 [0-3]	0,890

5. TARTIŞMA

Çalışmaya katılan KHDAK tanılı 40 hastanın 35'i (%87,5) erkek, 5'i (%12,5) kadın olup, her iki cinsiyet birlikte değerlendirildiğinde yaş ortalaması $64,25 \pm 7,95$ yıldır. Erkek cinsiyet hakimiyeti ve yaş ortalaması literatür ile uyumludur (1).

Çalışmaya dahil edilen 40 hastanın 8'inde (%20) tümör sağ üst lobta iken, 2'sinde (%5) sağ orta lob, 8'inde (%20) sağ alt lob, 1'inde (%2,5) sağ hiler bölge, 6'sında (%15) sol üst lob, 3'ünde (%7,5) lingula, 8'inde (%20) sol alt lob, 4'ünde (%10) sol hiler bölge yerleşimindedir. Cerrahi öncesi yapılan bronkoskopi işleminde hastaların 15'inde (%37,5) endobronşial lezyon saptanmış olup, 25'inde (%62,5) endobronşial lezyona rastlanmamıştır. Tümör çapı ortalama $50,22 \pm 23,03$ bulunmuştur. Anatomik olarak tüm vakalarda uygun R0 rezeksiyon yapılmış olup mediastinel lenf nodları sistematik olarak diseke edilmiştir.

Çalışmada mediastinel lenf nodları için SUVmax sınır değeri 2,5 kabul edilmiş olup, bu değerin altındaki tutulumlar değerlendirmeye alınmamıştır (136). Çalışmaya dahil edilen 40 hastanın PET raporları incelendiğinde 5 hastada (%12,5) N1 lenf nodu tutulumu görülürken, 35 hastada (%87,5) tutulum görülmemiştir. PET'de N2 lenf nodu tutulumu 11 hastada (%27,5) görülürken; 29 hastada (%72,5) görülmemiştir.

Çalışmaya dahil edilen 40 hastanın 23'ü (%57,5) skuamöz hücreli karsinom, 15'i (%37,5) adenokarsinom, 2'si (%5) adenoskuamöz karsinom tanısı almıştır. Patolojik alt gruplardaki hasta sayısının dağılımı bu alt grupları kendi içerisinde değerlendirmemize olanak sağlamamaktadır. Adenoskuamöz karsinom tanısı alan tüm hastalarda NK aktivasyon artışı anlamlı bulunmuş olup, hasta sayısının yetersiz olması nedeniyle sonucun genellenmesi mümkün olmamaktadır. Diferansiasyon dereceleri incelendiğinde; 22 hasta (%55) az diferansiye, 14 hasta (%35) orta diferansiye, 4 hasta (%10) iyi diferansiye olarak raporlanmıştır.

Hastaların patolojik evrelemesi incelendiğinde 40 hastanın 1'i (%2,5) Evre IA2, 5'i (%12,5) Evre IA3, 5'i (%12,5) Evre IB, 2'si (%5) Evre IIA, 8'i (%20) Evre IIB, 17'si (%42,5) Evre IIIA, 2'si (%5) Evre IIIB'dir. Çalışmaya katılan tüm hastalarda uzak organ metastazı izlenmemiştir (M0). Çalışmanın amacına yönelik olarak tümör

dokusunun tamamen vücuttan uzaklaştırılması planlanmış olup, hasta seçimi yapılırken erken evrede saptanan rezeksiyona uygun hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Bu nedenle çalışmadaki evre dağılımı KHDAK tanısı alan hastalardaki genel evre dağılımını yansıtmamaktadır. Fakat bu durumun çalışmanın sonuçlarına etkisi yoktur.

Çalışmada, cerrahi öncesi ve R0 rezeksiyon yapıp tümör ve mikro çevresi cerrahi olarak uzaklaştırıldıktan sonraki 1. ve 3. haftalarda alınan periferik kandan NK hücre aktivitesine bakılmıştır. NK hücre aktivasyonuna ELİSA yöntemiyle salınan IFN- γ konsantrasyonu ölçülerek bakılmış ve buna göre değerlendirme yapılmıştır. Cerrahi sonrası 1. haftada alınan kanlardan ölçülen plazma IFN- γ konsantrasyonu, cerrahi öncesi alınan örneklerle karşılaştırıldığında IFN- γ seviyelerinde anlamlı düşüş görülmüştür ($P=0.001$). Literatürde cerrahi operasyonlardan sonra NK hücre disfonksiyonu geliştiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (137,138). Cerrahi sonrası 1. haftada ölçülen düşük IFN- γ düzeyleri bu anlamda literatür ile uyumludur. Cerrahi sonrası 3. haftada ölçülen IFN- γ düzeyleri ile cerrahi sonrası 1.haftada ölçülen IFN- γ düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı artış görülmüştür ($p=0,001$). Bu artışın nedeni cerrahi operasyonun etkisinin azalması ve tümör mikro çevresinin ortadan kalkması olabilir. Çalışmanın asıl amacına yönelik olarak cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftada ölçülen IFN- γ düzeyleri karşılaştırıldığında artış görülmüş fakat anlamlı bulunmamıştır ($p=0.118$). Bu iki değer arasındaki artışın anlamlı bulunmaması birkaç sebebe bağlı olabilir. Bunlardan ilk düşünülen, cerrahi sonrası 3. haftada kandan alınan numunelerin NK aktivasyon artışı tamamlanmadan alınmış olmasıdır. Çalışma planlanırken hastaların patoloji sonuçlarına göre KT ve RT tedavilerine başlama tarihleri hesaplanmış, çalışma sonuçlarının KRT tedavilerinden etkilenmemesi için cerrahi sonrası 3. haftada örnek alınması uygun bulunmuştur. Bir başka sebep; cerrahi esnasında veya sonrasında endikasyon durumundaki hastalarda kullanılan kan transfüzyon ürünlerinin ve ilaçların çalışma sonuçlarını etkilemiş olma olasılığıdır. Bir diğer sebep olarak makroskopik R0 rezeksiyona rağmen, mikroskopik tümör ve saptanamayan mikrometastazların varlığı çalışma sonuçlarını etkilemiş olabilir. Bunların dışında çalışmanın verileri tüm değişkenler için ayrı ayrı değerlendirilmesine

rağmen bazı alt gruplarda yeterli hasta popülasyonu olmaması nedeniyle bir grubun bir başka alt grubu etkilemiş olma olasılığı olabilir.

Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişiminin histopatolojik alt tiplerle Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi ile karşılaştırılmasında adenokarsinom alt tipinde cerrahi öncesine göre NK aktivasyonunda anlamlı yükselme görülmüştür ($p= 0,023$). Bu veri adenokarsinom alt tipinde TMC'nin NK aktivasyonunu daha fazla baskılandığı yönünde veri sunmaktadır.

Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişiminin histopatolojik diferansiasyonlarla Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi ile karşılaştırılmasında iyi diferansiye alt tipinde tüm hastalarda NK aktivasyonunda artış görülürken, hasta sayısının az olması nedeniyle anlamlı artış görülmemiştir ($p= 0,068$). Bu hasta alt grubunda hasta sayısının artırılarak çalışmanın tekrarlanması durumunda anlamlı sonuçlara ulaşılabilir.

Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişiminin total CD56 ve CD16 immün reaktivite skorlamasıyla Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi ile karşılaştırılmasında değişkenler arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır. Bu durumun birkaç nedeni olabilir. İlk olarak immünohistokimyasal boyama için seçilen histopatolojik preparatın TMC'ni değerlendirmede yetersiz kalmasıdır. Bir başka sebep olarak yapılan immün reaktivite skorlaması nedeniyle TMC'nin yetersiz değerlendirilmesi olabilir. Bir diğer neden olarak immünohistokimyasal antikor boyama kısıtlılığı gösterilebilir.

Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası NK aktivasyonu ile diğer değişkenlerin arasındaki korelasyona Spearman Rank Korelasyon Testi ile bakılmış olup; CD16 total skoru ile cerrahi öncesi NK aktivasyonu arasında pozitif yönde zayıf anlamlı korelasyon gözlenmiştir ($r=0,322$, $P=0,036$). Diğer değişkenler ile NK aktivasyonu arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır. Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası NK aktivasyonu ile diğer değişkenlerin arasındaki korelasyona Mann Whitney U Testi ile bakılmış ve anlamlı korelasyon gözlenmemiştir.

Bu çalışma; olgulardaki alt grup çeşitliliği, immün reaktivite skorlaması, immünohistokimyasal boyama kısıtlılığı ve süre kısıtlaması gibi etkenlerden

etkilenme olasılığı göz önünde bulundurulduğunda daha kapsamlı ileri çalışmalar için veri sunmaktadır.



6. SONUÇLAR

Çalışmaya katılan KHDAK nedeniyle rezeksiyon yapılan 40 hastanın venöz kandan ve patoloji materyalinden elde edilen verilere göre; cerrahi sonrası 1. haftada alınan kanlardan ölçülen plazma IFN- γ konsantrasyonu, cerrahi öncesi alınan örneklerle karşılaştırıldığında IFN- γ seviyelerinde anlamlı düşüş görülmüştür ($P=0.001$), cerrahi sonrası 3.haftada ölçülen IFN- γ düzeyleri ile cerrahi sonrası 1. haftada ölçülen IFN- γ düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı artış görülmüştür ($p=0,001$), cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftada ölçülen IFN- γ düzeyleri karşılaştırıldığında artış görülmüş fakat anlamlı bulunmamıştır ($p=0.118$).

Çalışmaya katılan 40 hastanın cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişiminin total CD56 ve CD16 immün reaktivite skorlamasıyla karşılaştırılmasında arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır. Yapılan bir başka karşılaştırmada CD16 total skoru ile cerrahi öncesi NK aktivasyonu arasında pozitif yönde zayıf anlamlı korelasyon gözlenmiştir ($r=0,322$, $P=0,036$).

Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişiminin adenokarsinom alt tipinde cerrahi öncesine göre pozitif yönde anlamlı olduğu görülmüştür ($p= 0,023$). Bu istatistik adenokarsinom alt tipinde TMC'nin NK aktivasyonunu daha fazla baskılandığı yönünde veri sunmaktadır. Ayrıca cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 3. haftadaki NK aktivasyon değişiminin iyi diferansiye alt tipinde tüm hastalarda NK aktivasyonunda artış görülürken, hasta sayısının az olması nedeniyle anlamlı artış görülmemiştir ($p= 0,068$). Bu hasta alt grubunda hasta sayısının arttırılarak çalışmanın tekrarlanması durumunda anlamlı sonuçlara ulaşılabilir.

Bu çalışma; olgulardaki alt grup çeşitliliği, immün reaktivite skorlaması, immünohistokimyasal boyama kısıtlılığı ve süre kısıtlaması gibi etkenlerden etkilenme olasılığı göz önünde bulundurulduğunda daha kapsamlı ileri çalışmalar için veri sunmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Christopher P. Wild E and S. World Cancer Report. 2020. s. 1-596.
2. Sağlık İstatistikleri Yıllığı. (2017). Erişim Adresi <http://ohsad.org/wpcontent/uploads/2018/12/28310saglik-istatistikleri-yilligi-2017pdf>
3. Graham G. Giles B. Smoking and lung cancer . Tobacco: Science, policy and public health. 2. bs 2010. s. 477-92.
4. Boffetta P, Pershagen G, Jöckel KH, Forastiere F, Gaborieau V, Heinrich J, et al. Cigar and Pipe Smoking and Lung Cancer Risk: a Multi-center Study Erişim adresi: <https://academic.oup.com/jnci/article/91/8/697/2519397>
5. Bade BC, Dela Cruz CS. Lung Cancer 2020: Epidemiology, Etiology, and Prevention. C. 41, Clinics in Chest Medicine. W.B. Saunders; 2020. s. 1-24.
6. Deo SVS, Sharma J, Kumar S. GLOBOCAN 2020 Report on Global Cancer Burden: Challenges and Opportunities for Surgical Oncologists. Ann Surg Oncol. 2022;29(11):6497-500.
7. Di Girolamo C, Walters S, Benitez Majano S, Rachet B, Coleman MP, Njagi EN, et al. Characteristics of patients with missing information on stage: A population-based study of patients diagnosed with colon, lung or breast cancer in England in 2013. BMC Cancer. 2018;18(1).
8. Nasser A, Xiaofei W, David K, Colleen W, Rodney L, Dennis W, Jeffrey P, et al. Lobar or Sublobar Resection for Peripheral Stage IA Non–Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2023;338(9):489-98.
9. Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, Giroux DJ, Groome PA, Rami-Porta R, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Seventh) Edition of the TNM Classification of Malignant Tumours. 2007.
10. Rijavec E, Coco S, Genova C, Rossi G, Longo L, Grossi F. Liquid biopsy in non-small cell lung cancer: Highlights and challenges. Cancers. MDPI AG; 2020;12:1-17.

11. Wood DE, Kazerooni EA, Baum SL, Eapen GA, Ettinger DS, Hou L, et al. Lung cancer screening, JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network. 2018; 16: 412-441.
12. Choi HK, Mazzone PJ. Lung Cancer Screening. Medical Clinics of North America. W.B. Saunders; 2022; 106: 1041-1053.
13. Henschke C, McCauley D, Yankelevitz D, Naidich D, McGuinness G. et al. Early Lung Cancer Action Project: overall design and findings from baseline screening. Lancet. 1999; 354: 99-105.
14. Callister MEJ, Baldwin DR, Akram AR, Barnard S, Cane P, Draffan J, et al. British thoracic society guidelines for the investigation and management of pulmonary nodules. Thorax. 2015; 70: 1-54.
15. MacMahon H, Naidich DP, Goo JM, Lee KS, Leung ANC, Mayo JR, et al. Guidelines for management of incidental pulmonary nodules detected on CT images: From the Fleischner Society. Radiology. Radiological Society of North America Inc. 2017; 284: 228-243.
16. Horeweg N, van Rosmalen J, Heuvelmans MA, van der Aalst CM, Vliegenthart R, Scholten ET, et al. Lung cancer probability in patients with CT-detected pulmonary nodules: A prespecified analysis of data from the NELSON trial of low-dose CT screening. Lancet Oncol. 2014;15(12):1332-41.
17. Rijavec E, Coco S, Genova C, Rossi G, Longo L, Grossi F. Liquid biopsy in non-small cell lung cancer: Highlights and challenges. Cancers. 2020;12:1-17
18. Reck M, Popat S, Reinmuth N, De Ruyscher D, Kerr KM, Peters S. Metastatic non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Annals of Oncology. 2014;25:27-39.
19. Pezzuto F, Fortarezza F, Lunardi F, Calabrese F. Are there any theranostic biomarkers in small cell lung carcinoma, Journal of Thoracic Disease. Publishing Company; 2019; 11: 102-112.
20. Cagle PT, Allen TC, Dacic S, Mary B, Beasley B, Borczuk AC, et al. Revolution in Lung Cancer New Challenges for the Surgical Pathologist. Arch Pathol Lab Med. 2011; 135:110-116

21. Melosky B, Juergens R, McLeod D, Leighl N, Brade A, Card PB, et al. Immune checkpoint-inhibitors and chemoradiation in stage III unresectable non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2019; 134: 259-267.
22. Alsaab HO, Sau S, Alzhrani R, Tatiparti K, Bhise K, Kashaw SK, et al. PD-1 and PD-L1 checkpoint signaling inhibition for cancer immunotherapy: mechanism, combinations, and clinical outcome. *Frontiers in Pharmacology*. 2017;8; 561.
23. Grossenbacher SK, Aguilar EG, Murphy WJ. Leveraging natural killer cells for cancer immunotherapy. *Immunotherapy*. 2017; 6; 487-497.
24. Gyurova IE, Ali A, Waggoner SN. Natural Killer Cell Regulation of B Cell Responses in the Context of Viral Infection. *Viral Immunol*. 2020;33(4):334-41.
25. Ross A, Miller PTC. Lung Cancer Epidemiology and Demographics. *Precision Molecular Pathology of Lung Cancer*. 2017;13(2):15-8.
26. Zamarrón E, Prats E, Tejero E, Pardo P, Galera R, Casitas R, et al. Static lung hyperinflation is an independent risk factor for lung cancer in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Lung Cancer*. 2019;128:40-6.
27. Cao M, Chen W. Epidemiology of lung cancer in China. *Thoracic Cancer*. John Wiley and Sons Inc. 2019;10:3-7.
28. Allen TC. Precision Molecular Pathology of Lung Cancer. 2. In: Philip T, Cagle editör. 2018. p.19-44.
29. Akhtar N, Bansal JG. Risk factors of Lung Cancer in nonsmoker. *Current Problems in Cancer*. Mosby Inc. 2017;41:328-339.
30. Pauls S, Buck A, Hohl K, Halter G, Hetzel M, Blumtein N, Mottaghy F, et al. Improved non-invasive T-Staging in non-small cell lung cancer by integrated 18F-FDG PET/CT. *Nuklearmedizin*. 2007;46(1):9-14.
31. Toloza E, Harpole L, McCrory D. Noninvasive Staging of Non-small Cell Lung Cancer: A Review of the Current Evidence. *Chest*. 2003;123(1):137-46.
32. Maheswaran S, Sequist L V., Nagrath S, Ulkus L, Brannigan B, Collura C V., et al. Detection of Mutations in EGFR in Circulating Lung-Cancer Cells . *New England Journal of Medicine*. 2008;359(4):366-77.

33. Pailler E, Adam J, Barthélémy A, Oulhen M, Auger N, Valent A, et al. Detection of circulating tumor cells harboring a unique ALK rearrangement in ALK-positive non-small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2013;31(18):2273-81.
34. Andreas S, Nikolaus F, Cornelius K, Heinz W, Barbara K, Joachim H. Comparison of the Sensitivity of Sputum and Brush Cytology in the Diagnosis of Lung Carcinomas. *Acta Cytol*. 1997;41(2):399-408.
35. Detterbeck F, Jantz M, Wallace M, Vansteenkiste J, Silvestri G. Invasive Mediastinal Staging of Lung Cancer: ACCP Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *İçinde: Chest*. 2. bs 2007. p. 202-220.
36. De leyn P, Doms C, Kuzdzal J, Lardinois D, Passlick B, Rami-Porta R, et al. Revised ests guidelines for preoperative mediastinal lymph node staging for non-small-cell lung cancer. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*. 2014;45(5):787-98.
37. Rivera M, Mehta A, Wahidi M. Establishing the Diagnosis of Lung Cancer: Diagnosis and Management of Lung Cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. 3. bs. 2013. 142-165 s.
38. Rusch V.W, Asamura H, Watanabe H, Giroux DJ, Rami-Porta R, Goldstraw P. The IASLC Lung Cancer Staging Project A Proposal for a New International Lymph Node Map in the Forthcoming Seventh Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. 2009;4:568-577.
39. Fritscher-Ravens A, Soehendra N, Schirrow L, Sriram J, Meyer A, Hauber HP, et al. Role of transesophageal endosonography-guided fine-needle aspiration in the diagnosis of lung cancer. *Chest*. 2000;117(2):339-45.
40. Lee J, Suh Y, Chung P, Kim H, Kwon J, Han J, et al. Combined endobronchial and transesophageal approach of an ultrasound bronchoscope for mediastinal staging of lung cancer. *PLoS One*. 2014;9(3):1-5.
41. Mentzer J, Swanson J, DeCamp M, Bueno R, Sugarbaker J. Mediastinoscopy, Thoracoscopy, and VideoAssisted Thoracic Surgery in the Diagnosis and Staging of Lung Cancer. *Chest* 1997; 112; 239-241.

42. Swiderek J, Morcos S, Donthireddy V, Surapaneni R, Jackson-Thompson V, Schultz L, et al. Prospective study to determine the volume of pleural fluid required to diagnose malignancy. *Chest*. 2010;137(1):68-73.
43. Cetinkaya E, Turna A, Yildiz P, Dodurgali R, Bedirhan A, Gürses A, et al. Comparison of clinical and surgical-pathologic staging of the patients with non-small cell lung carcinoma. Erişim adresi: www.elsevier.com/locate/ejcts
44. Macia I, Moya J, Escobar I, Ramos R, Masuet C, Gamez C, et al. Quality study of a lung cancer committee: study of agreement between preoperative and pathological staging. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*. 2010;37(3):540-545.
45. Travis D, Travis B, Devesa S. Lung cancer. *Cancer*. 1995;75(1):191-202.
46. Turna A, Ak G, Kömürcüoğlu BE, Yurt S, Yılmaz Ü. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde sekizinci evreleme ve uygulamadaki etkileri. *Turkish Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2017;25:484-98.
47. Travis D, Asamura H, Bankier AA, Beasley B, Detterbeck F, Flieder B, et al. The IASLC lung cancer staging project: Proposals for coding T categories for subsolid nodules and assessment of tumor size in part-solid tumors in the forthcoming eighth edition of the TNM classification of lung cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 2016;11:1204-1223.
48. Little G, DeMeester R, MacMahon H. The staging of lung cancer. *Semin Oncol*. 1983;10(1):56-70.
49. Brunelli A, Cassivi D, Fibla J, Halgren A, Wigle A, Allen S, et al. External validation of the recalibrated thoracic revised cardiac risk index for predicting the risk of major cardiac complications after lung resection. *Annals of Thoracic Surgery*. 2011;92(2):445-8.
50. Alessandro B, Kim A, Berger K, Harris D. Physiologic Evaluation of the Patient With Lung Cancer Being Considered for Resectional Surgery: Diagnosis and Management of Lung Cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*. 2013;143(5):166-90.
51. Brunelli A, Charloux A, Bolliger T, Rocco G, Sculier P, Varela G, et al. ERS/ESTS clinical guidelines on fitness for radical therapy in lung cancer

- patients (surgery and chemo-radiotherapy). *European Respiratory Journal*. 2009;34(1):17-41.
52. Korpanty G, Leighl B. Stage II and III non-small-cell lung cancer. 2014;4:204.
 53. National Comprehensive Cancer Network guidelines http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp (Accessed on, 2018).
 54. Ginsberg J, Rubinstein L. Randomized trial of lobectomy versus limited resection for T1 NO non-small cell lung cancer. Lung Cancer Study Group. *Ann. Thorac Surg*. 1995;60:615-622.
 55. Travis D, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson G, Geisinger KR, Yatabe Y, et al. State Of The Art: Concise Review International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Classification of Lung Adenocarcinoma. 2011. Erişim adresi: <http://links.lww.com/JTO/A59>.
 56. Veluswamy RR, Ezer N, Mhango G, Goodman E, Bonomi M, Neugut AI, et al. Limited resection versus lobectomy for older patients with early-stage lung cancer: Impact of histology. *Journal of Clinical Oncology*. 2015;33(30):3447-3453.
 57. Koike T, Kitahara A, Sato S, Hashimoto T, Aoki T, Koike T, et al. Lobectomy Versus Segmentectomy in Radiologically Pure Solid Small-Sized Non-Small Cell Lung Cancer Presented at the Ninety-fifth Annual Meeting of the American Association for Thoracic Surgery, Seattle, WA, April 25-29, 2015. *Annals of Thoracic Surgery*. 2016;101(4):1354-60.
 58. Nakamura K, Saji H, Nakajima R, Okada M, Asamura H, Shibata T, et al. A Phase III randomized trial of lobectomy versus limited resection for small-sized peripheral non-small cell lung cancer. *Jpn J Clin Oncol*. 2009;40(3):271-4.
 59. Manser R, Wright G, Hart D, Byrnes G, Campbell D, Wainer Z, et al. Surgery for local and locally advanced non-small cell lung cancer. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. John Wiley and Sons Ltd; 2005.
 60. Darling GE, Allen MS, Decker PA, Ballman K, Malthaner RA, Inculet RI, et al. Randomized trial of mediastinal lymph node sampling versus complete lymphadenectomy during pulmonary resection in the patient with N0 or N1

- (less than hilar) non-small cell carcinoma: Results of the American College of Surgery Oncology Group Z0030 Trial. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2011;141(3):662-670.
61. Louie A, Palma A, Dahele M, Rodrigues GB, Senan S. Management of early-stage non-small cell lung cancer using stereotactic ablative radiotherapy: Controversies, insights, and changing horizons. *Radiotherapy and Oncology*. 2015;114:138-147.
 62. Vansteenkiste J, De Ruyscher D, Eberhardt WEE, Lim E, Senan S, Felip E, et al. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2013;24:89-98.
 63. Heineman J, Daniels M, Schreurs H. Clinical staging of NSCLC: Current evidence and implications for adjuvant chemotherapy. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*. 2017;9:599-607.
 64. Pignon P, Tribodet H, Scagliotti V, Douillard Y, Shepherd A, Stephens RJ, et al. Lung adjuvant cisplatin evaluation: A pooled analysis by the LACE collaborative group. *Journal of Clinical Oncology*. 2008;26(21):3552-3559.
 65. Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, Giroux J, Groome A, Rami-Porta R, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Seventh) Edition of the TNM Classification of Malignant Tumours. 2007;8:706-714
 66. Nithya R, Dilling T, Harris L, Kim A, Michaud G, Balekian A, Diekemper R, Detterbeck F, Arenberg D. Treatment of Stage III Non-small Cell Lung Cancer: Diagnosis and Management of Lung Cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*. 2013;143(5):314-340.
 67. Pless M, Stupp R, Ris B, Stahel A, Weder W, Thierstein S, et al. Induction chemoradiation in stage IIIA/N2 non-small-cell lung cancer: A phase 3 randomised trial. *The Lancet*. 2015;386(9998):1049-56.
 68. Huang Q, Li J, Sun Y, Wang R, Cheng X, Chen H. Efficacy of EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors in the Adjuvant Treatment for Operable Non-small Cell Lung Cancer by a Meta-Analysis. *Chest*. 2016;149(6):1384-1392.

69. Hanna N, Johnson D, Temin S, et al. Systemic Therapy for Stage IV Non-Small-Cell Lung Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol* 2017;35:3484-3515.
70. Uçar Z, Aksel N, Çakan A, Özsöz A. İleri Evre Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Sisplatin-Etoposid Tedavisinin Etkinliği. *İzmir Göğüs Hastanesi Der.* 2002;16:1-15.
71. Detterbeck C, Franklin A, Nicholson G, Girard N, Arenberg A, Travis D, et al. The IASLC lung cancer staging project: Background data and proposed criteria to distinguish separate primary lung cancers from metastatic foci in patients with two lung tumors in the forthcoming eighth edition of the TNM classification for lung cancer. *Journal of Thoracic Oncology.* 2016;11(5):651-65.
72. Benjamin D Kozower, James M Larner, James M Larner, Frank C Detterbeck, David R Jones. *Special Treatment Issues in Non-small Cell Lung Cancer Diagnosis and Management of Lung Cancer*, 3rd ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest.* 2013;143(5):369-99.
73. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2014, based on November 2016 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2017. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 2017.
74. Naran K, Nundalall T, Chetty S, Barth S. Principles of Immunotherapy: Implications for Treatment Strategies in Cancer and Infectious Diseases. *Frontiers in Microbiology. Frontiers Media S.A.;* 2018;91-23.
75. Sánchez de Cos Escuín J. New Immunotherapy And Lung Cancer. *Arch Bronconeumol.* 2017;53:682-687.
76. Barnet B, Cooper A, Boyer J, Kao S. Immunotherapy in non-small cell lung cancer: Shifting prognostic paradigms. *C. 7, Journal of Clinical Medicine. MDPI;* 2018.
77. Abdel-Rahman O, Morris D. Immune checkpoint inhibitors and non-small-cell lung cancer management: 2018 update. *C. 11, Immunotherapy. Future Medic.;* 2019;14: 149-153.

78. Lim SW, Ahn MJ. Current status of immune checkpoint inhibitors in treatment of non-small cell lung cancer. *Korean Journal of Internal Medicine*. 2019;34(1):50-9.
79. Shafique M, Tanvetyanon T. Immunotherapy alone or chemo-immunotherapy as front-line treatment for advanced non-small cell lung cancer. *Expert Opin Biol Ther*. 2019;19:225-32
80. Martinez P, Peters S, Stammers T, Soria JC. Immunotherapy for the first-line treatment of patients with metastatic nonsmall cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2019;25:2691-2698.
81. Ghysen K, Vansteenkiste J. Immunotherapy in patients with early stage resectable nonsmall cell lung cancer. *Curr Opin Oncol* 2019;31:13-7.
82. OpenStax. Hematopoiesis. <https://openstax.org/books/anatomy-and-physiology-2e/pages/3-6-cellular-differentiation>.
83. Holtmeier W, Kabelitz D. T Cells Link Innate and Adaptive Immune Responses Focus on Human V9/V2 and V1 T Cells. *Chem Immunol Allergy*. Basel, Karger. 2005;86:151-183.
84. Vesely MD, Kershaw MH, Schreiber RD, Smyth MJ. Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annu Rev Immunol*. 2011;29:235-71.
85. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immuno-surveillance to tumor escape [Internet]. 2002. Erişim adresi: <http://www.nature.com/natureimmunology>
86. Zitvogel L, Tesniere A, Kroemer G. Cancer Despite Immunosurveillance: Immunoselection and Immunosubversion. *C. 6, Nature Reviews Immunology*. 2006;10:715-727.
87. Balkwill FR, Capasso M, Hagemann T. The Tumor Microenvironment at a glance. *J Cell Sci*. 2012;125(23):5591-6.
88. Roma-Rodrigues C, Mendes R, Baptista P, Fernandes A: Targeting tumor microenvironment for cancer therapy. *Int J Mol Sci*. 2019;20(4):840.
89. Hirata E, Sahai E. Tumor microenvironment and differential responses to therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2017;7(7):1-14.
90. Correia AL, Bissell MJ. The tumor microenvironment is a dominant force in multidrug resistance. *Drug Resistance Updates*. 2012;15(1-2):39-49.

91. Wang M, Zhao J, Zhang L, Wei F, Lian Y, Wu Y, et al.. Role of tumor microenvironment in tumorigenesis. *Journal of Cancer*. 2017;8:761-773.
92. Xu X, Farach-Carson C, Jia X. Three-dimensional in vitro tumor models for cancer research and drug evaluation. *Biotechno*. 2014;32:1256-1268.
93. Ribeiro Franco I, Rodrigues P, Menezes B, Pacheco M. Tumor microenvironment components: Allies of cancer progression. *Pathology Research and Practice*. 2020;216:1-9..
94. El-Daly M, Bayraktar R, Anfossi S, Calin A. The interplay between micrornas and the components of the tumor microenvironment in b-cell malignancies. *Inter. J. of Mol. Sci*. 2020;21:3387.
95. Patel H, Nilendu P, Jahagirdar D, Pal JK, Sharma NK. Modulating secreted components of tumor microenvironment: A masterstroke in tumor therapeutics. *Cancer Biol Ther*. 2018;19(1):3-12.
96. Azevedo Martins JM, Rabelo-Santos SH, Do Amaral Westin MC, Zeferino LC. Tumoral and stromal expression of MMP-2, MMP-9, MMP-14, TIMP-1, TIMP-2, and VEGF-A in cervical cancer patient survival: A competing risk analysis. *BMC Cancer*. 2020;20(1):660.
97. Tsai MJ, Chang WA, Huang MS, Kuo PL. Tumor Microenvironment: A New Treatment Target for Cancer. *Biochem*. 2014;2014:1-8.
98. Pastushenko I, Blanpain C. EMT Transition States during Tumor Progression and Metastasis. *Tren. in Cell Biology*. 2019;29:212-226.
99. Josefowicz SZ, Lu LF, Rudensky AY. Regulatory T cells: Mechanisms of differentiation and function. *Annual Rev. of Immun*. 2012;30:531-564.
100. Sarvaria A, Madrigal A, Saudemont A. B cell regulation in cancer and anti-tumor immunity. *C. 14, Cellular and Molecular Immunology. Chin. Soc. Immun.*; 2017;14 662-674.
101. Alaluf E, Vokaer B, Detavernier A, Azouz A, Splittgerber M, Carrette A, et al. Heme oxygenase-1 orchestrates the immunosuppressive program of tumor-associated macrophages. *JCI Insight*. 2020;5(11):1-16.
102. Giannone G, Ghisoni E, Genta S, Scotto G, Tuninetti V, Turinetti M, et al. Immuno-metabolism and microenvironment in cancer: Key players for immunotherapy. *Int. J. Mol. Sci*. 2020;21:1-22.

103. Liu Q, Yang C, Wang S, Shi D, Wei C, Song J, et al. Wnt5a-induced M2 polarization of tumor-associated macrophages via IL-10 promotes colorectal cancer progression. *Cell Communication and Signaling*. 2020;18(1):1-19.
104. Mantovani A, Marchesi F, Malesci A, Laghi L, Allavena P. Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology. *C. 14, Nat. Rev. Clin. Onc.* 2017;14;399-416.
105. Pathria P, Louis L, Varner A. Targeting Tumor-Associated Macrophages in Cancer. *Trends in Immun.* 2019;40:310-327.
106. Huelsken J, Hanahan D. A Subset of Cancer-Associated Fibroblasts Determines Therapy Resistance. *Cell*. 2018;172:643-644.
107. Kogure A, Naito Y, Yamamoto Y, Yashiro M, Kiyono T, Yanagihara K, et al. Cancer cells with high-metastatic potential promote a glycolytic shift in activated fibroblasts. *PLoS One*. 2020;15:1-11.
108. Jin S, Yang Z, Hao X, Tang W, Ma W, Zong H. Roles of HMGB1 in regulating myeloid-derived suppressor cells in the tumor microenvironment. *Biomark. Res.* 2020;8:1-8
109. Safarzadeh E, Orangi M, Mohammadi H, Babaie F, Baradaran B. Myeloid-derived suppressor cells: Important contributors to tumor progression and metastasis. *Journal of Cellular Physiology*. Wiley-Liss Inc. 2018;233:3024-3036.
110. Ma Y, Shurin G, Peiyuan Z, Shurin MR. Dendritic cells in the cancer microenvironment. *C. 4, J. of Can.* 2013;4:36-44.
111. Sun R, Xiong Y, Liu H, Gao C, Su L, Weng J, et al. Tumor-associated neutrophils suppress antitumor immunity of NK cells through the PD-L1/PD-1 axis. *Transl Oncol.* 2020;13(10):1-9.
112. Ribeiro L, Okamoto K. Combined effects of pericytes in the tumor microenvironment. *C. 2015, Stem Cells Int.* 2015;2015:1-8.
113. Wu Q, Li B, Li Z, Li J, Sun S, Sun S. Cancer-associated adipocytes: Key players in breast cancer progression. *J Hematol Oncol.* 2019;12:1-15.
114. Wu Q, Li B, Sun S, Sun S. Unraveling Adipocytes and Cancer Links: Is There a Role for Senescence. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:1-7.

115. Christiansen A, Detmar M. Lymphangiogenesis and Cancer. *Genes and Cancer*. 2011;2:1146-58.
116. Kim S, Park I, Oh N, Cho J, Park H, Park S. ELK3 expressed in lymphatic endothelial cells promotes breast cancer progression and metastasis through exosomal miRNAs. *Sci Rep*. 2019;9(1):8418.
117. Lokshin A, Raskovalova T, Huang X, Zacharia LC, Jackson EK, Gorelik E. Adenosine-mediated inhibition of the cytotoxic activity and cytokine production by activated natural killer cells. *Cancer Res*. 2006;66(15):7758-7765.
118. Young A, Ngiow SF, Gao Y, Patch AM, Barkauskas DS, Messaoudene M, et al. A2AR adenosine signaling suppresses natural killer cell maturation in the tumor microenvironment. *Cancer Res*. 2018;78(4):1003-1116.
119. Husain Z, Huang Y, Seth P, Sukhatme VP. Tumor-Derived Lactate Modifies Antitumor Immune Response: Effect on Myeloid-Derived Suppressor Cells and NK Cells. *The Journal of Immunology*. 2013;191(3):1486-1495.
120. Brand A, Singer K, Koehl GE, Kolitzus M, Schoenhammer G, Thiel A, et al. LDHA-Associated Lactic Acid Production Blunts Tumor Immunosurveillance by T and NK Cells. *Cell Metab*. 2016;24(5):657-671.
121. Runa F, Hamalian S, Meade K, Shisgal P, Gray PC, Kelber JA. Tumor Microenvironment Heterogeneity: Challenges and Opportunities. *Curr Mol Biol Rep*. 2017;3(4):218-229.
122. Fang H, DeClerck YA. Targeting the tumor microenvironment: From understanding pathways to effective clinical trials. *Cancer Res*. 2013;73:4965-4977.
123. Belli C, Trapani D, Viale G, D'Amico P, Duso BA, Della Vigna P, et al. Targeting the microenvironment in solid tumors. *Cancer Treat Rev*. 2018;65:22-32.
124. Petrova V, Annicchiarico-Petruzzelli M, Melino G, Amelio I. The hypoxic tumour microenvironment. *Oncogenesis*. 2018;7:10
125. Lanier L, Phillips J. Ontogeny of natural killer cells. *Nature*. 1986;319:269-270
126. Caligiuri M. Human Natural Killer Cells. *Blood*. 2008;112:461–469.

127. Trinchieri G. Biology of Natural Killer Cells. *Adv. Immunol.* 1989;47(187):187–376.
128. Arina A, Murillo O, Dubrot J, Azpilikueta A, Alfaro C, Pérez-Gracia JL, et al.. Cellular liaisons of natural killer lymphocytes in immunology and immunotherapy of cancer. *Expert Opinion on Biological Therapy.* 2007;7:599–615.
129. Fu B, Tian Z, Wei H. Subsets of human natural killer cells and their regulatory effects. *Cell Mol Immunol.* 2006; 3:241–54.
130. O’Sullivan E, Sun C, Lanier L. Natural Killer Cell Memory. *Immunity.* Cell Press. 2015;43:634–45.
131. Flodström-Tullberg M, Bryceson YT, Shi FD, Höglund P, Ljunggren HG. Natural killer cells in human autoimmunity. *Curr Opin Immunol.* 2009; 21:634–640
132. Narni-Mancinelli E, Ugolini S, Vivier E. Tuning the threshold of natural killer cell responses. *Curr Opin Immunol.* 2013;25:53–58.
133. Borrego F, Kabat J, Kim DK, Lieto L, Maasho K, Peña J, et al. Structure and function of major histocompatibility complex (MHC) class I specific receptors expressed on human natural killer (NK) cells. *Mol Immunol.* 2002;38:637–660.
134. NK Vue. NK Vue® test. <https://img1.wsimg.com/blobby/go/c4c84ec9-3496-4459-aeb5-eb917c1fa3f2/NK%20Vue%20General%20Summary%202010120.pdf>.
135. Verma C, Kaewkangsadan V, Eremin JM, Cowley GP, Ilyas M, El-Sheemy MA, et al. Natural killer (NK) cell profiles in blood and tumour in women with large and locally advanced breast cancer (LLABC) and their contribution to a pathological complete response (PCR) in the tumour following neoadjuvant chemotherapy (NAC): Differential restoration of blood profiles by NAC and surgery. *J Transl Med.* 2015; 13(1):180
136. Şanlı M, Isik AF, Zincirkeser S, Elbek O, Mete A, Tuncozgun B, et al. Reliability of positron emission tomography-computed tomography in identification of mediastinal lymph node status in patients with non-small cell lung cancer. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery.* 2009;138(5):1200–1205.

137. Angka L, Khan ST, Kilgour MK, Xu R, Kennedy MA, Auer RC. Dysfunctional natural killer cells in the aftermath of cancer surgery. *Inter J. of Mol. Scie.* 2017;18:1787.
138. Market M, Baxter KE, Angka L, Kennedy MA, Auer RC. The potential for cancer immunotherapy in targeting surgery-induced natural killer cell dysfunction. *Can.* 2019;11:1-23.

