

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**AKCİĞER KANSERLERİNDE , HETEROJENİTE,  
NÖROENDOKRİN AYRIMLAŞMA ,P53  
PROTEİNİ VE PCNA OLUMLULUĞUNUN  
TÜMÖR EVRESİ İLE İLİŞKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI.**

T 49914

( 60 OLGU )

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Özgül Sağol

İZMİR - 1996

## İÇİNDEKİLER

Önsöz.....	III
Giriş.....	1
Gereç ve Yöntem.....	12
Bulgular.....	14
Tartışma.....	24
Sonuçlar.....	32
Özet.....	34
Kaynaklar.....	36

## ÖNSÖZ

Akciğer kanseri gelişmiş ülkelerde kansere bağlı ölümlerin başında gelmektedir. Akciğer kanserli olgularda yaşam oranları yıllar içinde tanı ve tedavideki yeniliklere karşın önemli değişiklik göstermemiştir . Bu nedenle , bu tümörlerin prognozunu belirleyen özellikleri ve karsinogenezisleri üzerinde yapılan çalışmalar güncelliğini korumaktadır.

Bu çalışmada amaç , 60 bronş karsinomu olgusunda , akciğer kanserlerinin biyolojik davranışında etkileri tartışmalı olan heterojenite , nöroendokrin ayrılaşma , p53 proteini ve PCNA olumluluğunun birbirleri ve tümör evreleri ile ilişkilerini araştırmaktır. Bu amaçla 60 olguya nöroendokrin ayrılaşmayı belirlemek için nöron spesifik enolaz , kromogranin A , kalsitonin ve serotonin belirleyicileri ayrıca mutant p53 proteini ve tümör çoğalma aktivitesini belirlemek amacı ile p53 ve PCNA antikoları immunhistokimyasal yöntem ile uygulanmıştır.Sonuçlar istatistiksel yöntemler ile değerlendirilmiştir.

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na araştırma görevlisi olarak başladığımdan bu güne dek yetişmemde emeği geçen , değerli hocalarım ; Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Emek Özen' e ve Prof. Dr.M Şerefettin Canda , Prof. Dr. Tülay Canda , Prof. Dr. A.Ali Küpeliöğlü , Prof. Dr. H.Uğur Pabuçcuoğlu , Doç. Dr. H. Aydanur Kargı , Doç. Dr. Kutsal Yörükoğlu , Yrd. Doç. Dr. Meral Koyuncuoğlu , Yrd. Doç. Dr. Sülen Sarıoğlu , Uzm. Dr. Oya Göre , Uzm. Dr. Erdener Özer ve Uzm. Dr. Nagihan Yalçın 'a teşekkür eder , şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmamın her aşamasında yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm tez danışmanım Doç. Dr. H. Aydanur Kargı 'ya ayrıca teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmamdaki olguları sağlamamda yardımcı olan , Tepecik Göğüs Hast. Hastanesi patoloji uzmanı Dr. Sülün Ermete ve tüm patoloji bölümü çalışanlarına , ayrıca tez çalışmamın laboratuvar aşamasında katkıda bulunan bölümümüz teknisyenlerine , tez sonuçlarımın istatistiksel olarak değerlendirilmesine olanak sağlayan Ege Üniversitesi Bilgisayar Mühendisliği Fakültesi İstatistik Bölümüne teşekkürlerimi sunarım.

## GİRİŞ

Akciğer kanseri , gelişmiş ülkelerde kansere bağlı ölümlerin başında gelmektedir ( 1,2 ). Adler' in 20. yüzyılın başında akciğer kanserinin ender görüldüğünü öne sürmesinden sonra yalnız 1930 ve 1980 yılları arasında bu kanser türünde erkeklerde 15 , kadınlarda ise 9 kat artış saptanmıştır ( 2,3 ). Prevalans hızlarının bu şekilde devam etmesi durumunda , 2000 yılında ABD ' de 300.000 olası yeni akciğer kanserli olgunun ortaya çıkacağı ve akciğer kanserinin 2 milyon insanın ölümüne yol açacağı tahmin edilmektedir ( 3 ). Hiç kuşkusuz , akciğer kanseri epidemisi yalnız ABD gibi ülkelere sınırlı değildir. Sigara kullanımı ve satışı, özellikle gelişen ülkelerde , bu denli artarken önümüzdeki 5 - 30 yıl içinde epideminin dünya çapında yaygınlaşacağı beklenmektedir ( 3 ). Yapılan çalışmalar son dekadlarda , akciğer kanserindeki artışa , her iki cinste görülen akciğer kanseri histolojik türlerinde ve görülme sıklıklarındaki değişikliklerin eşlik ettiğini göstermektedir. Önceleri skuamöz hücreli karsinomun en sık ve adenokarsinomun kadınlarda daha sık görülen histolojik türler olduğu belirtilirken , son yıllarda adenokarsinomun her iki cinste sıklık olarak baskın duruma geldiği bildirilmektedir ( 1,4,5 ).

Akciğer kanserine yol açan en güçlü karsinojenler tütün dumanındaki kimyasal maddelerdir ve akciğer kanseri etiyolojisinde %80' in üzerinde rolleri vardır ( 3,6 ). Ayrıca asbestos , akrilonitril , klorometil metil eter , berilyum , kadmium , krom , nikel , radon , vinil klorid gibi maddeler akciğer kanseri riskini artırır. Bunun yanısıra , retinolun hücrel ayrışmayı artırıcı etkisi , selsiyumun , C ve E vitaminlerinin ise antioksidan özellikleri nedeni ile koruyucu oldukları bilinmektedir ( 6,3 ). Pulmoner interstisyel fibrosis , kronik obstrüktif akciğer hastalığı , amfizem ve kronik bronşit gibi hastalıkları olan kişilerde akciğer kanseri sıklığının arttığı belirtilmektedir ( 3 ). Ayrıca son zamanlarda tümör biyolojisi üzerinde yapılan çalışmalarda akciğer kanser hücrelerinde büyüme faktörlerinin artmış ve hatalı yapımı , sitogenetik anormallikler , tümör supresör gen ve protoonkogenlerde değişiklikler bulunmuştur ( 3 ).

Akciğer kanserlerinin histopatolojik sınıflaması pek çok yayına konu olmuştur. Bunlardan ilki Liebow tarafından 1952' de yayınlanmış , daha sonra Caeter ve Eggleston tarafından 1979' da yeniden düzenlenmiştir. Dünya Sağlık Örgütünün ( DSÖ ) ilk sınıflaması ise Kreyberg ve ark. tarafından 1958' de hazırlanmış ve 1967' de yayınlanmıştır. Kasım 1977 ' de Geneva' da yapılan DSÖ toplantısında 1967' de yayınlanan bu sınıflama yeniden görüşülmüş ve yeni şekli ile 1982 ' de yayınlanmıştır ( 2,3,7 ).

Geçmişte akciğer kanseri için farklı sınıflamalar kullanılmasına bağlı olarak etioloji , tanı , sağaltım ve prognoz ile ilgili çelişen fikirler ortaya çıkmıştır. Standart kriterlere gereksinim duyulması , patologların DSÖ sınıflamasını benimsemesine sebep olmuştur ( 7 ).

DSÖ sınıflaması tümörün ışık mikroskopisi düzeyinde morfolojik olarak ayırt edilebilen hücre türü ve gelişim biçimine dayanır. Elektron mikroskopisi ve immünohistokimya ile saptanabilen ayrılaşma özelliklerini dikkate almaz ( 7 ). Rutin hematoksilen eozin (H+E) ve müsin boyaları , tiplere için yeterlidir. Bu sınıflamaya göre , malign bronkojenik tümörler çoğunluğu , bir ya da birkaç alt tür içeren 7 histolojik türe ayrılır (Tablo1 ).

Skuamöz hücreli karsinomlar (SHK) , düzenli çok katlı dizilim, belirgin hücreler arası iplikli bağlantılar ve inci benzeri yapılar oluşturabilen , keratinizasyon içeren tümörlerdir. Az miktarda hücre içi müsin bulunması tümörleri bu türden dışlamaz . SHK' lar skuamöz ayrılaşmayı belirleyen bu özelliklerin bulunma derecesine göre iyi , orta ve az olmak üzere 3 ayrılaşma derecesine ayrılır. İyi ayrılaşmış tümörlerde bu özellikler çoğu alanda kolaylıkla ayırt edilir , az ayrılaşmış tümörlerde ise ancak birkaç alanda güçlükle bulunabilirler . Orta derecede ayrılaşmış tümörler iyi ve az ayrılaşmış tümörler arasında kalır.

SHK' lar genellikle santral büyük bronşlardan gelişen , yaygın nekroz ve kavitasyona eğilimli , belirgin lenfositik reaksiyona yol açan tümörlerdir. Bir alt tür olan içi hücreli karsinomlar ise , SHK ve sarkom benzeri gelişim özelliği gösteren içi hücreli komponent içeren bifazik tümörlerdir ( 7 ).

**TABLO : 1. AKCİĞER TÜMÖRLERİNİN HİSTOPATOLOJİK SINIFLAMASI (DSÖ 1982 ) (7).**

<b>1. EPİTELİYAL TÜMÖRLER</b>	<b>2.YUMUŞAK DOKU TÜMÖRLERİ</b>
<b>A. BENİGN</b>	<b>3. MEZOTELİYAL TÜMÖRLER</b>
1.Papillomlar	A. BENİGN MEZOTELYOMA
a.Skuamöz hücreli papillomlar	B. MALİGN MEZOTELYOMA
b.Transisyonel papillom	1.Epiteliyal
2.Adenomlar	2.Fibröz (iğsi - hücre)
a.Pleomorfik adenom ("mikst" tümör)	3.Bifazik
b.Monomorfik adenom	<b>4. SEYREK TÜMÖRLER</b>
c.Diğerleri	A. BENİGN
<b>B. DİSPLAZİ</b>	B. MALİGN
<b>KARSİNOMA İN SİTU</b>	1.Karsinosarkom
<b>C. MALİGN</b>	2.Pulmoner blastom
1.Skuamöz hücreli karsinom (epidermoid karsinom)	3.Malign melanom
Varyantları	4.Malign lenfoma
a.İğsi hücreli (skuamöz) karsinom	5.Diğerleri
2.Küçük hücreli karsinom	<b>5.SEKONDER TÜMÖRLER</b>
a.Yulaf (oat) hücreli karsinom	<b>6.SINIFLANDIRILAMAYAN TÜMÖRLER</b>
b.İntermediyer hücre türü	<b>7.TÜMÖR BENZERİ LEZYONLAR</b>
c.Birleşik yulaf hücreli karsinom	A. HAMARTOM
3.Adenokarsinom	B. LENFOPROLİFERATİF LEZYON
a.Asiner adenokarsinom	C. TÜMÖRLET
b.Papiller adenokarsinom	D. EOZİNOFİLİK GRANÜLOM
c.Bronşiol-alveoler karsinom	E. " SKLEROZAN HEMANJİOM "
d Mukus oluşturan solid karsinom	F. ENFLAMATUAR PSEUDO TÜMÖR
4.Büyük hücreli karsinom	G. DİĞERLERİ
Varyantları	
a.Dev hücreli karsinom	
b. Berrak hücreli karsinom	
5.Adenoskuamöz karsinom	
6.Karsinoid tümör	
7.Bronşiyal gland karsinomları	
a.Adenoid kistik karsinom	
b.Mukoepidermoid karsinom	
c. Diğerleri	
8.Diğerleri	

Küçük hücreli karsinomlar (KHK) yulaf (oat) hücreli , intermedier hücreli ve birleşik yulaf (oat) hücreli karsinom olmak üzere üç alt türe ayrılır. Yulaf (oat) hücreli karsinom hücreleri lenfositlerden biraz büyük , tekdüze , ince kromatin yapılı ve belirsiz nukleoluslu , yuvarlak , oval nukleusa ve dar sitoplazmaya sahiptir . İntermedier tür , nükleer kromatin özelliği yulaf hücreli karsinom hücreleri ile uyumlu , poligonal ya da içsi , fakat daha geniş sitoplazmalı hücrelerden oluşur. Birleşik türde ise KHK ile adenokarsinom ya da SHK bir arada bulunur. Her üç alt türe ait tümör hücreleri , sitoplazmalarında elektron mikroskobu ile seçilebilen yoğun granüller ve hücreler arasında az gelişmiş ipliğimsi bağlantılar içerir. Tümör hücrelerinin kohezyon gücü ve tümör stroması azdır. Daha adeziv olan hücreler damarlar çevresinde yalancı rozet ya da şeritler oluşturur. Bu tümörlerde lenfosit infiltrasyonu yoktur. Arada bulunabilen daha büyük hücreler , az miktardaki müsin benzeri maddeler tür ayrımını değiştirmez. KHK , pek çok peptid hormon ve biyojenik amin salgılayabilirler ( 7 ).

DSÖ sınıflamasının ardından yapılan çalışmalarda bu tümörlerin alt türlere ayrılmasının prognostik öneminin olmadığı ortaya çıkmış ve 1988' deki , Akciğer Kanseri Uluslararası Çalışma Grubu' nun önerisi ile yulaf hücreli ve intermedier hücreli alt türleri , KHK olarak tek isim altında toplanmıştır ( 8 ). Bazı KHK' ların kümeler biçiminde büyük hücreler içermesi ve bu tümörlerin prognozunun diğerlerinden daha kötü olduğunun gösterilmesi sonucu , bu tümörler karışık büyük hücreli ve küçük hücreli karsinomlar olarak adlandırılmışlardır ( 8 ).

Adenokarsinomlar tübüler , asiner ve papiller gelişim yapıları gösteren ve müsin salgılayan hücrelerden oluşurlar ve yapısal özelliklerine göre alt türlere ayrılırlar. Asiner türde asini ve tübüller baskındır , ayrıca az miktarda papiller ve solid alanlar eşlik edebilir. Papiller türde ise papiller yapılar baskındır. Bronkioloalveolar karsinomda alveol duvarlarını döşeyen silindirik tümör hücreleri bulunur. Müsin salgılayan solid karsinom , asini , tübül ya da papiller yapı içermeyen solid gelişim gösteren hücrelerden oluşur. Bu hücrelerin sitoplazmaları müsin içerir. Nükleusları büyük ve pleomorfik , kromatin yapısı kaba , düzensiz ve nükleolleri belirgindir. Büyük hücreli karsinomdan müsin içerikleri ile ayrılırlar. Papiller ve bronkioloalveoler türler her ikisinin periferik olması ve skarlar ile birlikte bulunabilmesi nedeniyle tek bir grup olarak değerlendirilmiştir ( 7 ).

Büyük hücreli karsinom ( BHK ) solid alanlar oluşturan , skuamöz ya da adenokarsinom özelliği göstermeyen , nükleolu belirgin , büyük nukleuslu ve geniş sitoplazmalı hücrelerden oluşur. Bu tümörün dev hücreli alt türü ileri derecede pleomorfik multinuklee dev hücreleri içerir.

Berrak hücreli alt tür de ise berrak ya da köpüklü sitoplazmalı , müsin içermeyen , glikojen içerebilen hücrelerden oluşur ve sık görülmez. Dev hücreleri ve berrak hücreleri içerebilen adenokarsinom ya da SHK' lar bu türlerin dışında bırakılmıştır ( 7 ).

Adenoskuamöz karsinomlar ışık mikroskobu düzeyinde belirgin skuamöz ve adenoid alanları bir arada içeren tümörlerdir ( 7,9 ).

Daha önce bronş adenomları olarak adlandırılmasına karşın 1982 DSÖ sınıflamasında bronş karsinomları arasına katılan karsinoid tümörler , bronş epitelinde bulunan nöroendokrin ( NE ) hücrelerden gelişirler . Bu tümörler genellikle santral yerleşimlidir ve 3 cm ' den küçüktür. Histolojik olarak mozaik ve trabeküler dizilimli , düzgün , nükleol belirginliği gösteren , oval nükleuslu , granüler eozinofilik ya da berrak sitoplazmalı hücrelerden oluşur. Mitoz çok seyrek. Hücreler Fontana , Masson gibi arjentaffin boya teknikleri ile olumsuz olabilir , fakat çoğu Grimellus boyası ile arjirofilik içerir. Arjirofilik granüller elektron mikroskobik olarak nörosekretuar yoğun granüllere eşdeğerdir. Birden fazla da olabilen bu tümör içinde asiner yapılar , müsin , içsi hücre yapısı tümör hücrelerinde çit şeklinde dizilim , ya da amiloid bulunabilir. Pulmoner karsinoid tümörler düşük dereceli malign tümörler olarak kabul edilirler. Çok seyrek olarak toraks dışı metastaz yapabilirler. Genellikle karsinoid sendroma yol açmazlar ( 7 ).

Atipik karsinoid terimi , anaplastik özelliği ve kötü prognozu olan tümörler için kullanılır ( 7 ) . Günümüzde , tipik karsinoid ve küçük hücreli karsinomun akciğerin nöroendokrin tümörleri spektrumunun iki ucunda bulunduğu , atipik karsinoid tümörün ise bu iki uç arasında yer aldığı görüşü geçerlidir ( 8,10 ).

DSÖ sınıflamasında yer alan bronşial bez karsinomları , diğer tümörler , yumuşak doku tümörleri , mezotelial tümörler , seyrek , sekonder ve sınıflanamayan tümörler bu çalışma dışında tutulmuştur .

DSÖ sınıflamasından bugüne kullanıma giren pekçok yeni yöntem , tümör histogenezi , ayrışması ve çoğalma yeteneği ile ilgili geniş bilgiler sağlamış ve bu bilgiler tümör histolojik tür ayrımında kullanılmıştır ( 11 ) . Akciğer tümörlerinin opere edilebilirliği ve sağaltım programlarının yeterliliğini karşılaştırmak için ortaya atılan TNM evrelendirme sisteminin akciğer kanserleri için en iyi prognostik belirleyici olduğu belirtilmektedir ( 2,3,12,13 ) . TNM evrelendirme sistemi Tablo: 2 ' de gösterilmiştir ( 3 ) .



**TABLO : 2 Akciğer kanserlerinde uluslararası TNM evrelendirme sistemi ( 3 ).**

<b>Primer Tümör ( T )</b>	
<b>T 1</b>	T < 3 cm , akciğer dokusu ya da viseral plevra ile çevrili ve proksimaldeki lobar bronşa invazyon göstermeyen tümör.
<b>T 2</b>	T > 3 cm , viseral plevra invazyonu gösteren tümör ya da lobar bronşa karinanın en az 2 cm distaline yayılan her boyuttaki tümör.
<b>T 3</b>	Göğüs duvarına , diyaframa , mediastinal plevraya ve perikardiuma yayılan her boyuttaki tümör ( Kalb , büyük damarlar , trakea , özefagus ve vertebra korunmuş ) ya da ana bronşta lokalize , karinaya 2 cm uzaklık içinde bulunan her boyuttaki tümör .
<b>T 4</b>	Mediasten tutulumu olan veya kalb , büyük damarlar , trakea , karina , özefagus ,vertebra korpusu invazyonu bulunan tümörler ya da malign pleural sıvı varlığı .
<b>Lenf Düğümü Tutulumu ( N )</b>	
<b>N 0</b>	Bölgesel lenf düğümü tutulumu yok.
<b>N 1</b>	Peribronşiyal ve / ya da aynı taraf hiler lenf düğümlerine metastaz veya direkt yayılım.
<b>N 2</b>	Aynı taraf mediastinal ve / ya da karina altı lenf düğümü metastazı.
<b>N 3</b>	Karşı taraf mediastinal ve / ya da karşı taraf hiler ve / ya da aynı taraf veya karşı taraf skalen ya da supraklaviküler lenf düğümleri metastazı.
<b>Uzak Metastazlar ( M )</b>	
<b>M 0</b>	Uzak metastaz yok.
<b>M 1</b>	Uzak metastazlar var.

<b>EVRE 1</b>	T1N0M0 , T2N0M0
<b>EVRE 2</b>	T1N0M0 , T2N1M0
<b>EVRE 3A</b>	T3N0M0 , T3N1 , T1-T3N2
<b>EVRE 3B</b>	T4 ve / ya da N3
<b>EVRE 4</b>	M1

DSÖ ' nün histolojik sınıflamasına karşın klinisyenler , biyolojik davranış ve sağaltımdaki farklılık yüzünden bronş karsinomlarını adenokarsinom ,adenoskuamöz karsinom, BHK ve SHK 'dan oluşan küçük hücreli olmayan karsinomlar (KHOK) ve KHK' lar olarak iki gruba ayırma eğilimindedirler ( 14,15,16 ). KHK , tüm akciğer kanseri olgularının %20-25 ' ni oluşturmaktadır ( 17 ). Bu tümörler , akciğere sınırlı olmaları durumunda bile mikro metastazlara yol açabilecekleri için cerrahi olarak sağaltım yapılamamaktadır. Buna karşın ilaç sağaltımına duyarlıdırlar ( 18,19,20 ). Bu yüzden bir tümöre KHK tanısının konması sağaltımın planlaması için kritik önem taşır. KHOK grubunda , metastatik hastalık yok ise sağaltım cerrahidir ( 20 ). Bu hastaların %30 'u tanı anında sınırlı hastalık ile gelmekte , tümörün evresi kriter olarak alınarak evre 1 ve 2 deki hastalara cerrahi rezeksiyon uygulanmaktadır. Evre 3A tümörlerden N2 tutulum olan seçilmiş olgular opere edilebilmekte buna karşın evre 3B tümörler opere edilemeyen olgular olarak kabul edilmektedirler. KHOK ' lu olguların % 30-50 sinin kemoterapiye yanıt verebildikleri belirtilmektedir ( 20,21 ). Akciğer tümürlü olguların cerrahi rezeksiyon sonrasında , evre 1 hastalarda bile beş yıllık yaşam oranları % 40-60 ' ı aşamamaktadır. Bu oranlar evre 3 hastalarda % 15 civarındadır ( 21 ). Aynı evredeki hastalar arasındaki yaşam oranlarında farklılığın nedeni bilinmemektedir . Bu yüzden günümüzde , tümörün erken tanı ve sağaltımını sağlayacak ve prognozu saptayacak hücresel ve moleküler biyolojik prognostik belirleyiciler üzerinde çalışmalar sürmektedir .

Görüldüğü gibi akciğer tümörlerinde histolojik türün belirlenmesi önemlidir . Çünkü değişik türler , ayrı prognoz göstermekte ve farklı sağaltım yöntemini gerektirmektedir. Akciğer tümörlerinin morfolojisinde aynı tümörün değişik alanlarında , tümörün köken aldığı epitele benzerlik göstermeyen alanlar bulunabilir . Gerçekte akciğer tümörlerinde çok sayıda kesit incelendiğinde ışık mikroskobu düzeyinde %13-63 arasında değişen oranlarda heterojenite bildirilmektedir ( 14,22,23, ). Bazı durumlarda tümörlerin heterojenitesi , elektron mikroskobu ya da immunhistokimya gibi yöntemlerle gösterilebilmektedir. Işık mikroskobu ile karsinoid ya da KHK histolojisi göstermeyen bazı tümörlerde , elektron mikroskobu ile yoğun granüllerin bulunabilmesi buna bir örnektir ( 23 ). Radice ve ark. büyük hücreli indiferansiye bronş karsinom hücrelerine benzer hücreler içeren KHK' ların , homojen olanlara göre sağaltıma daha az oranda yanıt verdiklerini , bu hastaların yaşam sürelerinin daha kısa olduğunu belirtmektedirler ( 24 ). Bu bulgular , Hirsch ve ark. tarafından doğrulanmakla birlikte , Faire ve ark. çalışmalarında , heterojen tümörlerde prognozun daha kötü olduğu istatistiksel olarak kanıtlanamamıştır.

Aynı çalışmada , tümörlerde görülen bu heterojenitenin , gün geçtikçe küçülen biyopsi örneklerinin tanısını güçleştirdiği belirtilmektedir ( 22,24 ). Bu çalışmalar , heterojenitenin klinik öneminin henüz açıklık kazanmadığını göstermektedir. Bizim çalışmamıza alınan 60 olgu , tümör heterojenitesi yönünden incelenmiş ve tümör evresi ile ilişkisi araştırılmıştır.

Son yıllarda immunhistokimya , elektron mikroskopisi gibi yöntemlerin kullanıma girmesi ile tümör histogenezi ile ilgili bilgiler artmış , DSÖ sınıflamasında sözü geçmeyen , bazı alt türler öne sürülmüş ve bir kısmı uygulanabilir değişiklikler ortaya çıkmıştır ( 8 ).

Akciğerin NE neoplazileri olarak bilinen karsinoid tümör , atipik karsinoid ve KHK' ların , immunohistokimyasal ve elektron mikroskopi çalışmalarında hemen hemen tüm organlarda ve akciğerlerde bulunan APUD ya da NE hücrelerden köken aldığı öne sürülmüştür( 25 ). Bu hücreler tüm vücuttaki organlarda tek tek olabildikleri gibi , bir organ oluşturabilecek düzeylerde de bulunabilirler. Yuvarlak , ovoid ya da basık şekillerdedirler ve kısa sitoplazmik çıkıntılar içerirler . Tüm APUD hücrelerinde membrana bağlı salgı granüllerinin bulunduğu ve bunların biyojenik amin ve düzenleyici peptid ürünlerini içerdikleri öne sürülmüştür . Ayrıca , bu hücrelerde kolin esteraz , nonspesifik esteraz , alfa gliseril fosfat dehidrogenaz ve endojen aminlerin bulunduğu gösterilmiştir . Pearse , amin depolama ve kolin esteraz bulundurma özelliğinin bulunuşundan dolayı bu hücrelerin nöral kökenli olduğunu ileri sürmüştür. Nöronlar ve APUD hücreleri arasındaki bu benzerlikten dolayı nöroendokrin terimi kullanılmaya başlanmıştır. Oysa son iki on yılda toplanan embriyolojik veriler , bu hücrelerin " endodermal kökenli " olduğunu kanıtlamıştır. Son zamanlarda kabul gören düşünceye göre , nöroendokrin terimi nöral kristadan gelişimi değil , bir çok gen tarafından kodlanan nöronal ve endokrin özelliklerin ortak fenotipini tanımlamaktadır ( 25,26 ). Bu hücrelerden gelişen tümörler , immunohistokimyasal olarak saptanabilen pekçok peptid hormon ve özgün ürün salgırlar ( Tablo 3 ) ( 25 ).

**TABLO : 3 Nöroendokrin hücreler ve tümörler için belirleyiciler (25).**

<b>Genel Nöroendokrin Belirleyiciler</b>
Kromogranin A
Leu 7
Nöronspesifik Enolaz
Sinaptofizin
L- Dopa Dekarboksilaz
<b>Özgün Ürünler</b>
ACTH
Alfa Amilaz
Alfa MSH
Kalsitonin
Kortikotropin Salgılatıcı Hormon
Serotonin
Somatostatin
Vazoaktif İntestinal Peptit
Taşikininler(Sustance P,Nörokinin A)
Pankreatik Polipeptid.
HCG Alfa
Opioid Peptidler (Leu enkefalin,Alfa endorfin)
Gastrin
Büyüme Hormonu Salgılatıcı Faktör
Bombesin / Gastrin Salgılatıcı Peptid

DSÖ sınıflamasında tanımlanan histolojik özelliklerine göre tanınabilen KHK , karsinoid ve atipik karsinoidler dışında , son yıllarda ışık mikroskobu ile H+E kesitlerde NE ayırılma ile uyumlu özellikler gösteren tümörler tanımlanmıştır. Bu özellikler , tümör hücrelerinin organoid , trabeküler ya da çit şeklinde dizilim göstermesi ya da rozet yapıları oluşturması şeklinde tanımlanmıştır . Bu tümörler büyük hücreli nöroendokrin karsinomlar adını da alır ( 27 ). Yine yayınlarda , ışık mikroskobisi düzeyinde hiçbir nöroendokrin özellik taşımayan akciğer tümörlerinde immünohistokimyasal yöntemler ile % 3' den % 50' ye varan oranlarda NE belirleyiciler ile olumlu (+) boyanma bildirilmektedir ( 15,16,28,29 ). Bunların bir kısmında boyanma özelliği NE tümörlerden ayırt edilememektedir ( 29 ). Bu özelliğin az diferansiye adenokarsinomlar ile BHK' larda , SHK' lara göre daha fazla oranda bulunduğu belirtilmektedir ( 15,20,29,30 ). Bu çalışmalar , akciğer kanserlerinde endokrin

özelliklerin bir spektrum oluşturduğunu göstermekte ve NE (+) olan ve olmayan kanserlerin ortak bir stem hücreden geliştiği görüşünü desteklemektedir ( 20 ).

Işık mikroskobu ve H+E incelemede NE olmayan tümörlerde immunohistokimya ya da elektron mikroskobu ile gösterilen NE ayrımlaşmanın prognozu nasıl etkilediği kesinlik kazanmamıştır . NE ayrımlaşma gösteren , KHOK 'ler üzerinde yapılan bazı çalışmalarda , bu tümörlerin daha kötü prognozlu olmalarına karşın kemoterapiye daha iyi yanıt verdikleri belirtilmektedir ( 15,20 ) . Oysa Sunderresan ve ark. ve Graziano ' nun serilerinde ise evre 1 ve 3A olgularda NE ayrımlaşma ile yaşam süresi arasında ilişki saptanmamıştır ( 20 ) . Ayrıca adenokarsinomlarda NSE ' nin prognoz ile ilişkisini araştıran bir çalışmada , NSE pozitif tümörlerin kemoterapiye diğer hastalardan daha iyi yanıt verdiği bildirilmiştir ( 20 ) . Çalışmamıza aldığımız 60 bronş karsinomu olgumuz NE özellikler açısından H+E ve immunhistokimyasal olarak incelenmiş , NE özellikler gösteren KHOK olgularının tümör evresi yönünden farklılık gösterip göstermediği araştırılmıştır.

Son yıllarda , akciğer tümörlerinin biyolojisi üzerinde yapılan araştırmalar , kanser hücrelerindeki moleküler ve hücreyel olayların anlaşılması ile anlam kazanmıştır ( 3 ) . Kanser moleküler düzeyde araştırılması ile karsinogenezisin çok basamaklı bir olay olduğu ve tümör hücrelerinde dominant onkogenler ve tümör supresör genleri düzeyinde çok sayıda genetik anormallikler olduğu dikkati çekmiştir ( 31 ) .

Hücre gelişimi ve çoğalmasını olumsuz yönde etkileyen resesif genlere " tümör supresör " genleri adı verilmektedir ( 31 ) . Diğer kanser türlerinde olduğu gibi akciğer kanserinde de en sık görülen genetik anormallik bir tümör supresör geni olan p53 genindeki değişikliklerdir ( 31-38 ) .

P53 geni , 17. kromozomun 13p bandında yer alır ve 53 kD luk nükleer fosfoproteini kodlar ( 39,40 ) . Bu proteinin DNA' ya bağlandığı , transkripsiyonu aktive ettiği ve G1 S fazı geçişinin olumsuz regülasyonunda rol oynadığı düşünülmektedir ( 31,32,40 ) . Bu şekilde p53 proteininin normal hücre çoğalmasını kontrol ettiği ve neoplastik dönüşümü önlediği belirtilmektedir ( 41 ) . Ayrıca bu genin DNA onarımı ve hücre ayrımlaşmasında da rol aldığı düşünülmektedir ( 42 ) . P53 geninde ortaya çıkan en sık anormallik "missens" mutasyonlardır . Bunun dışında delesyon ve heterozigotluk yitimi yer alır ( 31,32 ) . P53 geninde iki tür mutasyon olabilir . Bunlardan biri , bir pürin bazının başka bir pürin ile ve pirimidin bazının ise başka bir pirimidin bazı ile yer değiştirdiği "transition" türü mutasyonlar , diğeri ise pürin bazı ile pirimidinin yer değiştirdiği

"transversiyon" türü mutasyonlardır ( 31 ). Akciğer kanserlerinde en sık görülen guanin - timin transversiyonlarının , sigara içimi ile ortaya çıkan benzopiren tarafından meydana getirildiği düşünülmektedir ( 31,32,40,43,44 ). Kolon ve meme karsinomlarında ise daha çok guanin - adenin değişiminin görülmesi , kanser türleri arasında değişik mutajenik etkenlerin ayrı mutasyonlar oluşturarak etki ettiğini göstermektedir ( 43,45 ). Normalde p53 proteininin yarı ömrü 15 - 20 dakika gibi kısa bir süre olup , miktarı immunohistokimya ile saptanamayacak ölçüde azdır. P53 genindeki mutasyonlar , p53 proteininin stabilizasyonuna , yarı ömrünün uzamasına ve nükleusta birikerek kolayca tespit edilebilecek düzeye ulaşmasına neden olur ( 41,42 ,46,47 ) .

P53 mutasyonları akciğer kanserlerinin tüm türlerinde % 37- 80 oranlarda görülür ( 48-52,54,55 ). Bu oranlar , bazı yayınlarda KHK ' lar için % 70-90 ' lara varabilmekte , ayrıca SHK' larda p53 mutasyon oranlarının diğer KHOK' lere göre daha yüksek olduğu belirtilmektedir ( 32,50,55 ). P53 mutasyonlarının kansere öncül lezyonlarda da bulunduğu belirtilmekte , bu yüzden karsinogenezisin erken evrelerinde ortaya çıktığı kabul edilmektedir ( 32,34,56,57 ). Yapılan çalışmalarda , mutant p53 ' ün bulunmasının kötü prognozu belirlediği bildirilmesine karşın ( 43,51,55,58,59,60 ) , diğer çalışmalarda bu ilişkinin olmadığı belirtilmektedir ( 40,41,46,49,61,62 ). Bunun yanı sıra bazı çalışmalarda , hastalığın evresi ile p53 olumluluğu arasındaki ilişkide birbiri ile çelişen sonuçlar vardır ( 41,49,50 ) .Bizim olgularımız da mutant p53 proteini varlığı yönünden araştırılmıştır.

Akciğer kanserlerinde histolojik derecelendirme hem subjektif hem de tümör davranışını belirlemede yetersizdir . Akciğer karsinomlarında hücre kinetik çalışmaları , tümör biyolojisini anlamaya ışık tutmuştur ( 63 ). Bu çalışmalarda immunohistokimyasal olarak hücre siklusu belirleyicileri kullanılmaktadır . Bunlardan biri formalinde fikse parafine gömülü dokularda kullanılabilen anti-PCNA ( proliferating nuclear cell antigene ) antikorudur .

Cyclin adı ile de bilinen PCNA , DNA replikasyonu ve hücre proliferasyonunda yer alan DNA polimeraz deltaya , kofaktör olarak görev yapan 36kD ' luk , 261 aminoasid içeren nükleer bir proteindir ( 64,65 ). PCNA , G1 fazı sonunda artar , S fazında en yüksek düzeyine ulaşır ve G2 fazında düşmeye başlar . Mitoz fazında ise bulunmaz ( 63,66-70 ). Yapılan çalışmalar akciğer kanserlerinde PCNA olumluluğunun genel olarak yüksek olduğunu gösterirken , PCNA ile prognoz arasındaki ilişki bu konudaki çalışmalarda çelişkilidir . Theunissen ve ark. akciğer tümörlerinde PCNA ' nın ve indeksinin SHK başta olmak üzere yüksek olduğunu öne sürmektedirler ( 63 ). Ishida ve ark. ise PCNA olumlu (+) olgularda tümör

evresinin de yüksek olduğu ve bu tümörlerin kötü prognozlu olduğunu belirtmektedirler ( 69 ). Ogawa ve ark. da PCNA olumluluğu ile nüks ve kötü prognoz arasında olumlu ilişki saptamışlardır ( 71 ). Buna karşın Ebina ve ark. da PCNA indeksi ile prognoz arasında ilişkinin olmadığı , ayrıca p53 ifadesi ile PCNA indeksinin paralellik gösterdiğini belirtmektedirler ( 68 ).

Çalışmamızın amacı , 60 bronş karsinomu olgusunda , akciğer tümörlerinin biyolojik davranışlarında etkileri tartışmalı olan heterojenite , ışık mikroskobu ile NE özellik seçilemeyen tümörlerde immünohistokimyasal yöntemlerle gösterilebilen NE ayrışma , mutant p53 protein ve PCNA aktivitelerinin birbirleri ve tümör evreleri ile olan ilişkilerinin araştırılmasıdır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya , 1991-1995 yılları arasında DEÜTF Patoloji Anabilim Dalı (44 olgu) ve İzmir Göğüs Hastalıkları Hastanesinde (16 olgu ) akciğer kanseri tanısı almış toplam 60 olgunun materyeli alınmıştır. Materyelin 24'ü endoskopik biyopsi, 35'i lobektomi, 1' pnömonektomidir. Olguların tümü TNM sistemine göre evrelendirilmiştir.

Lobektomi ve pnömonektomi uygulanan olguların tümörlerinden en az 3 (arşiv materyelinden elde edilen olgulardan) olmak üzere olguların çoğundan (çalışmanın planlanmasından sonra elde edilen olgular) 10' ar blok örnekleme yapılmıştır. Formalinde fikse , parafine gömülü endoskopik biyopsi , lobektomi ve pnömonektomi materyellerinden elde edilen kesitlerin H+E ile boyanmış preparatları DSÖ sınıflamasına göre histolojik türlere ayrılmıştır . Ayrıca , tüm lamalar tümör heterojenitesi ve ışık mikroskobu düzeyinde NE ayrışma yönünden incelenmiştir. Lobektomi ve pnömonektomi materyellerinin seçilen birer bloklarından ve tüm endoskopik biyopsi bloklarından , immunhistokimyasal boyamalar için poly-l- lysin ile kaplı lamlara yaklaşık 5' er mikron kalınlığında kesitler hazırlanmıştır.

Hazırlanan kesitlere NE ayrışmayı göstermek amacı ile streptavidin biyotin immun peroksidaz yöntemi ile , nöron spesifik enolaz (Dako NSE , H14) , kromogranin A (Dako kromogranin A - Dak - A3 ) , kalsitonin ( Dako ) , serotonin ( Dako-5HT-H209 ) antikoları , ayrıca tümörlerin çoğalma aktivitesi ve mutant p53 proteini ifadesini araştırmak amacı ile PCNA (Dako) ve P53 (Dako , DO7 ) antikoları uygulanmıştır . NSE , kromogranin , kalsitonin , PCNA ve p53 için önceden olumlu (+)

olduğu bilinen akciğer tümörleri , serotonin için ise önceden fokal boyanma gösteren tiroid tümörü , olumlu (+) kontrol bloğu olarak kullanılmıştır.

İmmunhistokimyasal boyama işlemine geçmeden önce poly-l-lysin ile kaplı lamlara alınan ve oda sıcaklığında bekletilen kesitler , ksilolde 20 dakika bekletilerek deparafinize edilmiştir. Daha sonra %96' lık alkolden %70' lik alkole dek alkol dizilerinden geçirilerek , rehidrasyon sağlanmıştır. Bu aşamadan sonra p53 ve PCNA antikoru uygulanacak deparafinize kesitler immunohistokimyasal boyama öncesinde 10mM' lık citrate buffer içinde özel kaplara yerleştirilerek , mikrodalga fırında iki kez beşer dakika süre ile kaynatılmışlardır. Kesitler bundan sonra 15-20 dakika oda ısısında soğumaya bırakılmıştır . Daha sonra bu kesitlere , NSE , kromogranin A , kalsitonin ve serotonin uygulanacak diğer kesitler ile birlikte primer antikolar dışında ortak yöntem ile immunhistokimyasal boyama uygulanmıştır.

İmmunohistokimyasal boyama işleminde;

1. Lamlar PBS içinde 5 dakika yıkandı.
2. Dokuların evresi kağıt havlu ile kurularak işaretlendi , %3' lk hidrojen peroksit damlatılarak 5 dakika bekletildi.
3. Kesitler 5 dakika PBS ile yıkandı.
4. Kesitler zerine protein blokaj solüsyonu damlatıldı ve 5 dakika bekletildikten sonra yıkama yapılmaksızın primer antikor aşamasına geçildi.
5. NSE , kromogranin A ve PCNA antikoları için 1/100 dilusyonda , serotonin için 1/10 dilusyonda , kalsitonin için 1/200 dilusyonda , p53 için ise 1/50 dilusyonda PBS içinde hazırlanan primer antikolar , kesitleri kaplayacak miktarlarda ayrı ayrı damlatılarak 10 dakika bekletildi.
6. PBS ile 5 dakika yıkandı.
7. Kesitlere bağlayıcı biotinize sekonder antikor damlatıldı ve 10 dakika bekletildi.
8. Kesitler PBS ile yıkandı.
9. Streptavidin peroksidaz (4 cc "streptavidin buffer diluent" ve 1 damla "streptavidin konsantre" ) kesitler üzerine damlatıldı ve 10 dakika bekletildi.
10. Kesitler PBS ile yıkandı.
11. Kromojen solüsyonu (10 cc PBS + 0.05 mg Diaminobenzidin + 3 damla hidrojen peroksit ) kesitler üzerine damlatıldı ve süre renklenmeye göre ayarlandı.
12. Sresi tamamlanan kesitler , eşme suyu ile yıkandı.



13. Tüm kesitlere zıt boyanma uygulandı.

a- Kesitler üzerine Mayer Hematoksilen damlatıldı , 1-2 dakika bekletildi.

b- Kesitler çeşme suyu ile yıkandı.

c- %70' likten , % 96' lık alkole kadar alkol dizilerinden ve ksilollerden geçirilerek entellan ile kapatıldı.

Daha sonra pozitif (+) kontrol bloklarında olumlu boyanma izlenen tüm lamlar ışık mikroskopunda incelenmiştir. NSE , kromogranin A , serotonin ve kalsitonin için sitoplazmik , PCNA ve p53 için ise nükleer boyanmalar olumlu (+) olarak kabul edilmiştir. Tüm NE belirleyiciler için ; boyanma göstermeyen tümörler : ( 0 ) , tek tek hücrelerin boyanma gösterdiği tümörler : ( 1+ ) , hücre gruplarının boyandığı , fokal boyanma gösteren tümörler : ( 2+ ) , yaygın boyanma özelliği gösteren tümörler : ( 3+ ) şeklinde , boyanma yaygınlığına göre derecelendirilmişlerdir. P53 ile boyanmada hiç boyanma göstermeyen tümörler olumsuz ( 0 ) olarak kabul edilmiş , %30 hücreye kadar olan boyanma ( 1+ ) , %30-70 arası ( 2+ ) ve %70'in üzerindeki boyanma ( 3+ ) olarak derecelendirilmiştir. PCNA için ise her olguda 1000 hücre sayılarak boyanma indeksi hesaplanmış , buna göre %40 hücreye kadar boyanma : ( 1+ ) , %40-75 arası hücre boyanması : ( 2+ ) , %75'in üzerinde boyanma ise : ( 3+ ) olarak derecelendirilmiştir.

Çalışmada elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak Rank korrelasyonu , Kruskal Wallis , Kolmogorov Smirnov ve Chi-square yöntemleri ile değerlendirilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan , yaşları 34 ile 77 ( ortalama 55.5 ) arasında değişen ve 6' sı kadın , 54' ü erkek olan toplam 60 olgunun TNM evrelendirme sistemine göre ; 20' sinin klinik evresi evre1 , 6' sının evre 2 , 8' inin evre 3A , 10' unun evre 3B ve 16' sının evre 4 olarak belirlenmiştir..

H+E ile boyalı kesitlerin , DSÖ sınıflamasına göre değerlendirilmesi sonucu olguların 57' sinin KHOK ( 38 olgu SHK , 14 olgu adenokarsinom , 2 olgu adenoskuamöz karsinom , 3 olgu BHK ) , 3' ünün ise NE karsinomdan ( 2 olgu atipik karsinoid , 1 olgu KHK ) oluştuğu görülmüştür ( Tablo : 4 ) ( Resim : 1 ).

**TABLO : 4 Olguların DSÖ ' ne göre histolojik türlere dağılımı.**

Tanı (DSÖ)		Olgu sayısı
<b>Skvamöz Hücreli Karsinom</b>	İyi diferansiye	22
	Orta diferansiye	4
	Az diferansiye	12
<b>Adenokarsinom</b>	İyi diferansiye	10
	Orta diferansiye	2
	Az diferansiye	2
<b>Adenoskvamöz Karsinom</b>		2
<b>Büyük Hücreli Karsinom</b>		3
<b>Atipik Karsinoid</b>		2
<b>Küçük Hücreli Karsinom</b>		1
<b>Toplam</b>		<b>60</b>

Heterojenite yönünden değerlendirilen 57 KHOK olgusunun 7'sinde (%12.28) baskın histolojik tür dışında değişik oranlarda histolojik farklılık gösteren alanlar izlenmiştir. Bu olguların 2' si adenoskvamöz karsinom , 5' i SHK' dur.SHK'larda fokal alanlarda malign bez yapıları gözlenmiştir. 3 NE tümörden 1 atipik karsinoid tümörde yine fokal atipik bez yapıları izlenmiştir. Heterojen alanlar izlenen tümörlerin tümü çok sayıda kesiti incelenen lobektomi materyelleri olup , endoskopik biyopsilerde heterojenite izlenmemiştir. Lobektomi materyelleri içinde heterojenite oranı % 19.4' dür. Ayrıca 57 KHOK olgusundan 4 SHK' da hematoksilen eozin düzeyinde NE görünümde alanlar izlenmiştir ( Resim : 2, Resim : 3 , Resim : 4 ).

Olguların NSE , kromogranin A , kalsitonin , serotonin , p53 ve PCNA immunohistokimyasal boyanma sonuçları ve evrelere göre dağılımları Tablo : 5' tedir.

Elde edilen bulgulara göre 57 KHOK olgusunun 30' u (% 52.63 ) hiçbir NE belirleyici ile boyanmamıştır. 24' ü (% 42.11 ) bir NE belirleyici ( 2' si sadece kalsitonin , 22' si sadece NSE ) ile boyanma göstermiştir. 3 olguda (% 5.26 ) ise ( 2 SHK ve 1 adenoskvamöz karsinom) NSE ve kalsitoninin her ikisi ile de olumlu boyanma görülmüştür. NSE ile boyanan 25 KHOK olgusundan 7' sinin (% 28 ) 1+ , 14' ünün (%56 ) 2+ ve 4' ünün (% 16 ) 3+ şiddette boyanma gösterdiği saptanmıştır. Olumlu olgular lobektomi olgularımızın % 39.39' unu ( 13 olgu), transbronşiyal biyopsilerin ise % 50' sini ( 12 olgu ) oluşturmaktadır.

**TABLO : 5 Tüm Olguların , Tanı , Evre , Hematoksilen Eosin ve İmmunohistokimyasal İnceleme Bulguları.**

OLGU	Materyel	Tanı (DSÖ)	H+E,NE görünüm	Heterojenite	NSE	Kr.A	Kal.	Ser.	p53	PCNA	Evre
1	L	AK	+	-	+++	+++	-	-	0	3	1
2	L	ASK	-	+	++	-	+++	-	1	2	3A
3	P	SHK(ID)	-	+	-	-	-	-	0	2	1
4	L	SHK(ID)	-	-	+	-	-	-	0	3	3B
5	L	SHK(AD)	+	-	-	-	-	-	2	3	2
6	L	SHK(AD)	+	+	-	-	-	-	1	3	2
7	L	A(ID)	-	-	++	-	-	-	0	3	1
8	L	SHK(ID)	-	-	-	-	-	-	3	3	3A
9	L	A(ID)	-	-	++	-	-	-	3	1	2
10	L	AK	+	+	+++	++	-	-	2	2	2
11	L	SHK(ID)	-	-	-	-	-	-	2	3	1
12	L	SHK(OD)	-	-	-	-	-	-	1	2	1
13	L	BHK	-	-	+	-	-	-	3	2	1
14	L	SHK(ID)	-	-	-	-	-	-	3	3	1
15	L	SHK(ID)	-	-	++	-	-	-	3	3	1
16	L	SHK(AD)	-	-	-	-	+	-	0	1	3A
17	L	SHK(ID)	-	+	++	-	-	-	3	2	1
18	L	SHK(OD)	-	-	++	-	-	-	2	1	3B
19	L	SHK(ID)	-	-	-	-	-	-	0	3	3A
20	L	SHK(ID)	-	-	-	-	-	-	2	1	1
21	L	BHK	-	-	-	-	-	-	0	2	1
22	L	ASK	-	+	++	-	-	-	3	3	3B
23	L	A(ID)	-	-	-	-	-	-	2	1	3A
24	L	A(OD)	-	-	-	-	-	-	3	1	1
25	L	SHK(AD)	-	-	++	-	-	-	0	2	3A
26	L	A(ID)	-	-	-	-	-	-	0	3	3A
27	L	A(ID)	-	-	-	-	-	-	3	2	2
28	L	A(AD)	-	+	++	-	-	-	0	1	1
29	L	SHK(ID)	-	-	+++	-	-	-	3	1	1
30	L	SHK(ID)	-	-	-	-	-	-	0	1	1

L: Lobektomi, P: Pnömonektomi, E: Endoskopik biyopsi, AK: Atipik karsinoid, ASK: Adenokarcinom, SHK: Skuanöz hücreli karsinom, A: Adeno karsinom  
 ID: İyi diferansiyel, OD: Orta derecede diferansiyel, AD: Az diferansiyel, BHK: Büyük hücreli karsinom, KHK: Küçük hücreli karsinom  
 H+E,NE : Hematoksilen eosin nöroendokrin görünüm. NSE: Nöron spesifik enolaz. Kr.A: Kromogranin A. Kal: Kalsitonin. Ser: Serotonin. PCNA: Proliferating cell nuclear antijene. Y: Yetersiz.

**TABLO : 5 (Devam ) Tüm Olguların , Tanı , Evre , Hematoksilen Eosin ve İmmünohistokimyasal İnceleme Bulguları.**

OLGU	Materyel	Tanı (DSÖ)	H+E,NE görüldüm	Heterojenite	NSE	Kr.A	Kal.	Ser.	p53	PCNA	Evre
31	L	SHK(ID)	+	+	-	-	+	-	3	3	1
32	L	A(OD)	-	-	-	-	-	-	3	3	1
33	L	KHK	+	-	-	-	-	-	3	3	1
34	L	A(AD)	-	-	+	-	-	-	3	3	2
35	L	SHK(ID)	+	-	-	-	-	-	0	2	1
36	L	A(ID)	-	-	-	-	-	-	0	3	1
37	E	A(ID)	-	-	-	-	-	-	3	2	4
38	E	SHK(AD)	-	-	++	-	-	-	0	3	4
39	E	SHK(AD)	-	-	++	-	-	-	2	2	4
40	E	SHK(AD)	-	-	-	-	-	-	3	2	4
41	E	SHK(AD)	-	-	-	-	-	-	3	3	3B
42	E	SHK(ID)	-	-	-	-	-	-	1	3	3B
43	E	SHK(OD)	-	-	++	-	-	-	1	1	3B
44	E	SHK(AD)	-	-	++	-	+	-	3	3	4
45	E	BHK	-	-	+++	-	-	-	3	1	4
46	E	SHK(ID)	-	-	-	-	-	-	3	3	3A
47	E	SHK(AD)	-	-	-	-	-	-	1	3	4
48	E	SHK(ID)	-	-	+	-	-	-	3	2	3B
49	E	A(ID)	-	-	+	-	-	-	Y	Y	4
50	E	SHK(ID)	-	-	-	-	-	-	2	2	3B
51	E	SHK(ID)	-	-	-	-	-	-	2	2	4
52	E	SHK(ID)	-	-	++	-	++	-	0	1	3B
53	E	A(ID)	-	-	++	-	-	-	0	3	4
54	E	A(ID)	-	-	+	-	-	-	Y	Y	4
55	E	SHK(ID)	-	-	-	-	-	-	2	1	4
56	E	SHK(AD)	-	-	+++	-	-	-	2	3	4
57	E	SHK(OD)	-	-	-	-	-	-	3	3	4
58	E	SHK(ID)	-	-	++	-	-	-	3	2	3B
59	E	SHK(AD)	-	-	-	-	-	-	0	1	4
60	E	SHK(ID)	-	-	+	-	-	-	1	3	4

L: Lobektomi, P: Pnömonektomi, E: Endoskopik biyopsi, AK: Atipik karsinoid, ASK: Adenoskuamöz karsinom, SHK: Skuamöz hücreli karsinom, A: Adeno karsinom  
ID: İyi diferansiyel, OD: Orta derecede diferansiyel, AD: Az diferansiyel, BHK: Büyük hücreli karsinom, KHK: Küçük hücreli karsinom  
H+E,NE : Hematoksilen eosin nöroendokrin görünüm. NSE: Nöron spesifik enolaz. Kr.A: Kromogranin A. Kal: Kalsitonin. Ser: Serotonin. PCNA: Proliferating cell nuclear antijene. Y: Yetersiz

Kalsitonin ile boyanan KHOK olgularımızın 3' ü 1+ , 1'i 2+ ve 1'i 3+ şiddette boyanma göstermiştir ( Resim : 5 , Resim : 6 ).

NE tümörlerden 2 atipik karsinoid tümörde NSE ve kromogranin A ile yaygın boyanma saptanırken , 1 KHOK olgusunda hiçbir NE belirleyici ile boyanma izlenmemiştir ( Resim : 7 , Resim : 8 ).

Olgularımızda ( KHOK ve NE tümörler ) serotonin ile olumlu boyanma saptanmamıştır.

3 nöroendokrin tümör ve değerlendirmeye uygun bulunmayan 2 endoskopik biyopsi dışta tutulduğunda , 55 KHOK olgusunun 39' u ( %70.91 ) p53 ile değişik derecelerde boyanma göstermiştir ( Resim : 9 ). Bu olguların p53 ile boyanma dağılımları Tablo : 5' de gösterilmiştir .

55 KHOK olgusunun tümü PCNA ile olumlu boyanma göstermiştir ( Resim : 10 ). PCNA indeksleri Tablo : 6' daki gibidir.

**TABLO : 6 KHOK 'lar için PCNA boyanma indeksleri.**

Değişken ( Olgu sayısı : 55 )	PCNA Boyanma indeksi % ( Olumlu boyanan nukleusların yüzdesi )
Minumum	3.2
Maksimum	99.2
Ortalama	61.65
Median değer	64.00
Standart sapma	23.84

3 NE tümörün p53 ile 2' si ( 2+ ve 3+ şiddetlerde ) , PCNA ile ise tümü ( 1'i 2+ , 2'si 3+ şiddette ) olumlu boyanma göstermiştir.

Sonuç olarak KHOK' larında , ışık mikroskopik olarak heterojen olan ve olmayan tümörler arasında evre , proliferatif aktivite ve p53 olumluluğu açısından anlamlı istatistiksel fark saptanmamıştır ( Tablo : 7 ).

**TABLO : 7 Heterojen olan ve olmayan olguların evre , p53 ve PCNA skorlarına göre dağılımları.**

		EVRE					PCNA **			P53 ***			
		1	2	3a	3b	4	1	2	3	0	1	2	3
HETEROJEN OLAN OLGULAR (N: 7)	N*	4	1	1	1	0	1	3	3	2	2	0	3
HETEROJEN OLMAYAN OLGULAR (N: 50)	N	14	4	7	9	16	13	13	22	14	5	10	19

\* Olgu sayıları.

\*\* PCNA boyanmasında 2 olgu niteliksizdir.

\*\*\* P53 boyanmasında 2 olgu niteliksizdir.

Hiçbir NE belirleyici ile olumlu boyanmayan tümörler ile , bir ya da iki belirleyici ile olumlu boyananlar arasında evre , p53 olumluluğu ve tümör çoğalma aktivitesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( Tablo : 8 ). Ayrıca bir ve iki NE belirleyici ile boyanan tümörler arasında da aynı parametreler yönünden ilişki saptanmamıştır. NSE boyanması gösteren olgular ile göstermeyen olgular arasında , ayrıca 1+ şiddette boyananlar ile 2+ ve 3+ şiddette boyananlar arasında tümör evresi , p53 ifadesi ve PCNA skor ve indeksleri açısından da istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır.

**TABLO : 8 Olguların boyandığı NE belirleyici sayısının evre , p53 ve PCNA skorlarına göre dağılımları.**

NE Belirleyici sayısı (N:57)		EVRE					P53 **				PCNA ***		
		1	2	3a	3b	4	0	1	2	3	1	2	3
0 (N:30)	N*	11	3	5	4	7	8	5	7	10	7	9	14
1 (N:24)	N	7	2	2	5	8	7	1	3	11	6	6	10
2 (N:3)	N	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1

\* Olgu sayısı

\*\* P53 boyanmasında 2 olgu niteliksizdir.

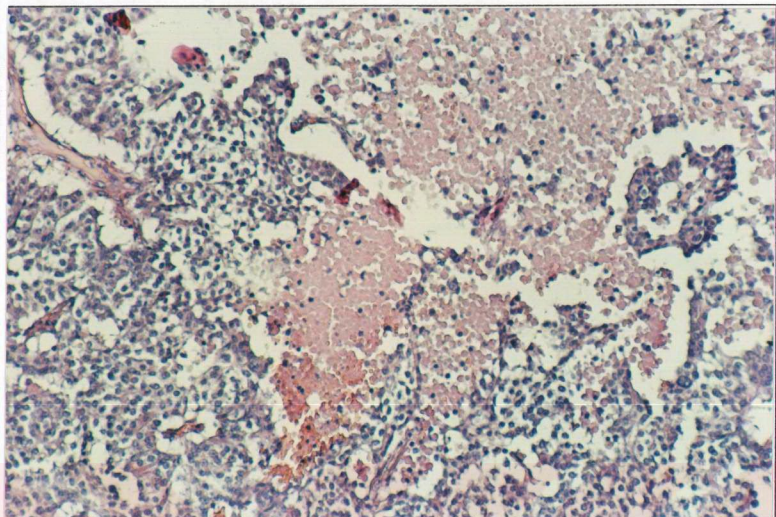
\*\*\* PCNA boyanmasında 2 olgu niteliksizdir

P53 olumlu boyanan tümörler ile olumsuz boyanan grup arasında evre açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır. P53 boyanma dereceleri ile evreler arasında ilişki bulunmamıştır. P53 ile , 3+ olumlu boyanan tümörler ile , 1+ ve 2+ boyanan tümörler arasında evre açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir. P53 boyanma dereceleri ile PCNA indeksleri arasında istatistiksel ilişki saptanmamıştır ( Tablo : 9 ).

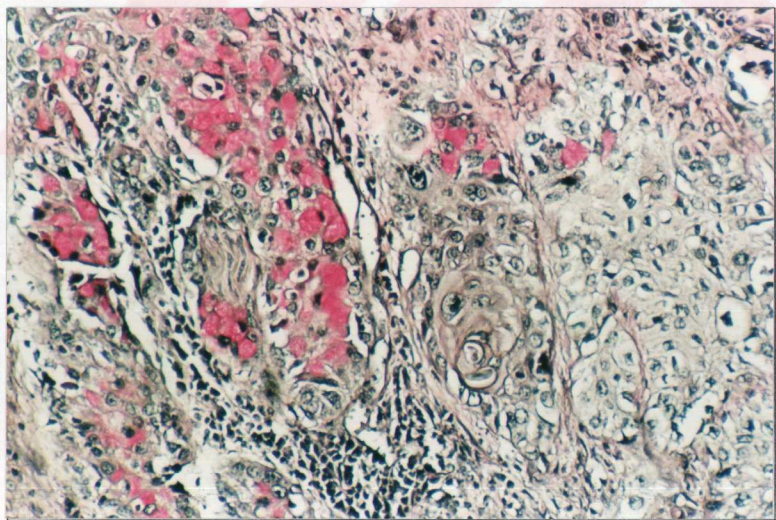
**TABLO : 9** Olguların p53 skorlarının , evre ve PCNA skorlarına göre dağılımı.

P53 (N:55)		EVRE					PCNA		
		1	2	3A	3B	4	1	2	3
0 (N:16)	N	7	0	4	2	3	5	4	7
1 (N:7)	N	1	1	1	2	2	1	3	3
2 (N:10)	N	2	1	1	2	4	4	2	4
3 (N:22)	N	8	3	2	4	5	4	7	11

Düşük PCNA skoru gösteren (+,++) olgular ile yüksek PCNA skoru gösteren tümörler arasında p53 olumluluğu yönünden istatistiksel anlamlı fark yoktur. Ayrıca PCNA boyanma indeksleri ile tümör evresi ve histolojik türü arasında ilişki saptanmamıştır.

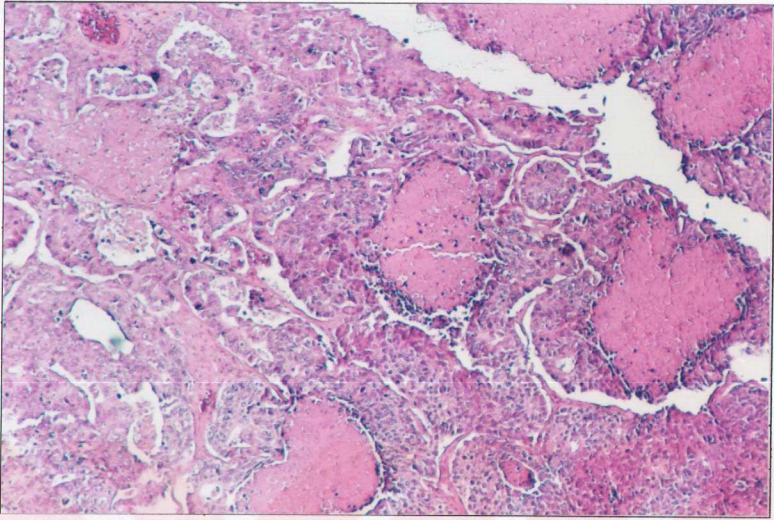


Resim : 1 Atipik karsinoid ( 10X , H+E ). ( Olgu No: 10 , DEÜTF , Pat.No: 5781-93 ).

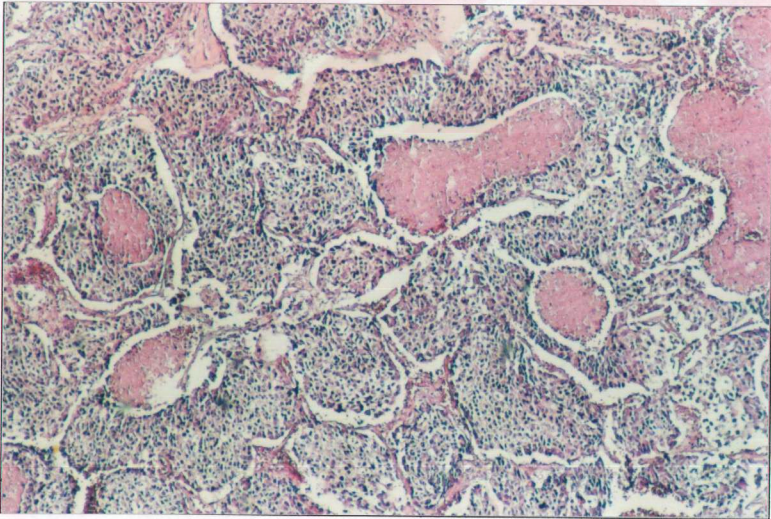


Resim : 2 Adenoskuamöz karsinom ( 10X , musikarmen ). ( Olgu No: 22 , DEÜTF , Pat.No : 9374-93 ).

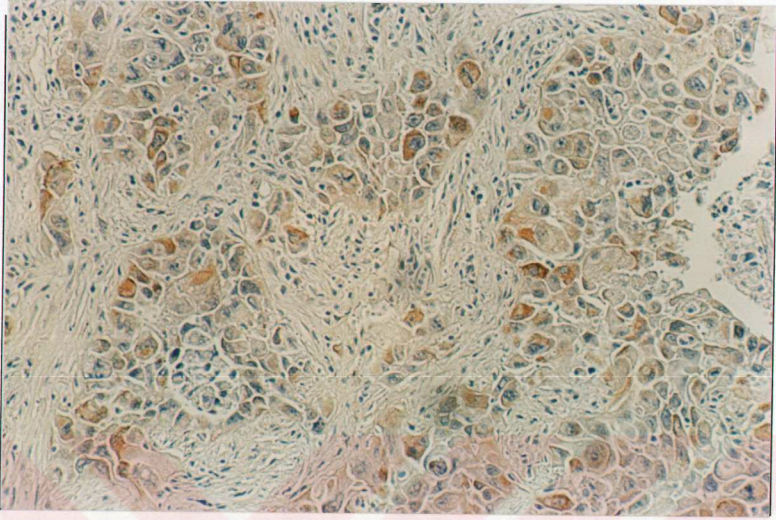




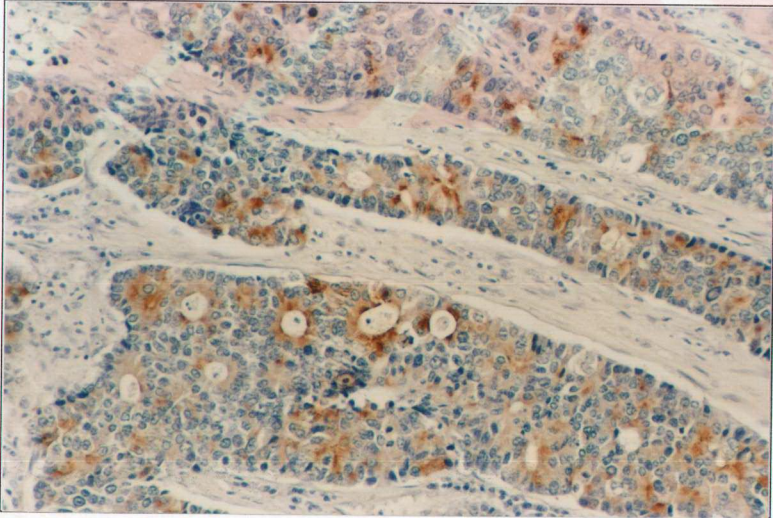
Resim : 3 SHK olgusunda fokal adenoid yapılar ( 4X , H+E ). ( Olgu No:31 , DEÜTF , Pat.No: 5482-95 ).



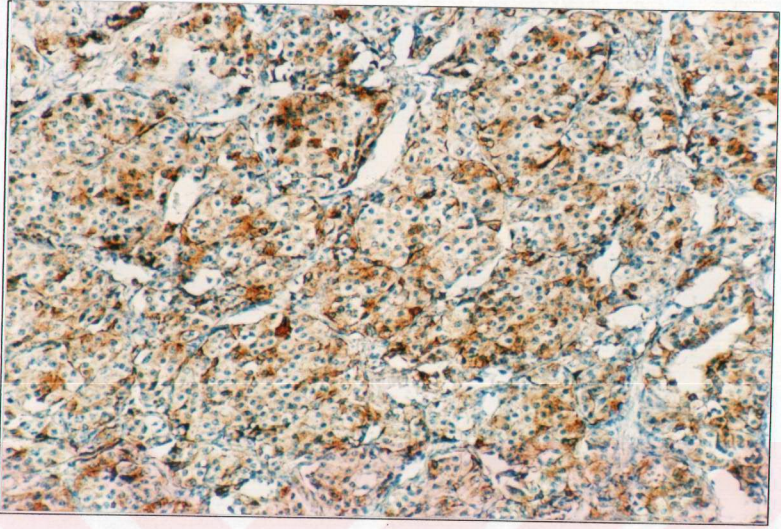
Resim : 4 SHK olgusunda H+E' de NE görünüm ( organoid yapı ) ( 4X , H+E ). ( Olgu No: 31 , DEÜTF , Pat.No: 5482-95 ).



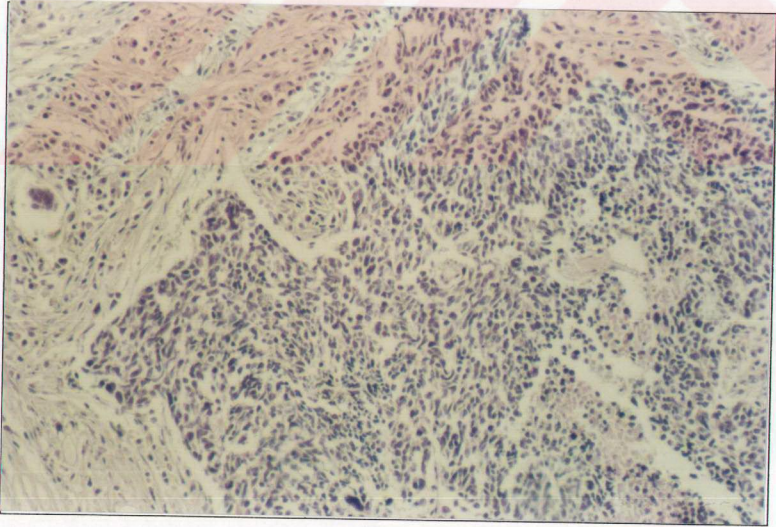
Resim : 5 SHK olgusunda NSE olumluluğu ( 10X , NSE ).  
( Olgu No: 29 , DEÜTF , Pat.No: 952-95 ).



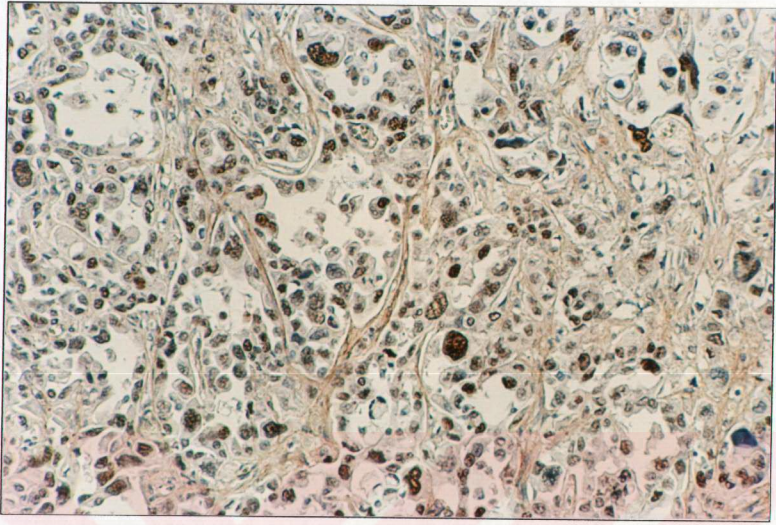
Resim : 6 ASK olgusunda kalsitonin ile olumlu boyanma  
( 10X , kalsitonin ). ( Olgu No: 2 , İzmir Göğüs Hastalıkları Hastanesi ).



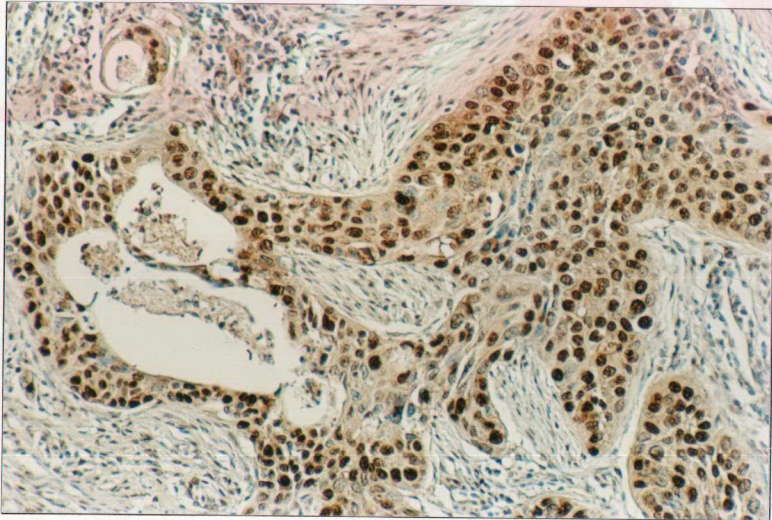
Resim : 7 AK olgusunda kromogranin A olumluluğu ( 10X , kromogranin A ) . ( Olgu No: 10 ; DEÜTF , Pat.No: 5781-93 ) .



Resim : 8 İmmunhistokimyasal olarak NE belirleyiciler ile olumsuz boyanan KHK olgusu ( 4X , H+E ) . ( Olgu No: 33 , DEÜTF , Pat.No: 1337-95 ) .



Resim : 9 Adenokarsinom olgusunda nükleer p53 olumluluğu ( 10X , p53 ) . ( Olgu No: 24 , DEÜTF , Pat.No: 8409-84 ) .



Resim : 10 SHK olgusunda nükleer PCNA boyanması (10X , PCNA ) . ( Olgu No: 4 , DEÜTF , Pat.No: 5500-93 ) .

## TARTIŞMA

Tüm akciğer tümörlerinin % 90' ını oluşturan bronş karsinomlarında gerek ışık mikroskopisi ile çok sayıda H+E kesitlerin incelenmesi , gerekse immunohistokimya ve elektron mikroskopisi gibi ileri incelemeler sonucu ortaya çıkan , birden fazla histolojik türün birlikteliği olarak tanımlanan heterojenite , bazı yayınlarda % 63' e kadar varan oranlarda bildirilmektedir ( 22 ). Bronş karsinomlarında oldukça sık karşılaşılan histolojik heterojenite tümör histogenezi ve prognozu ile ilgili çalışmalarda ilgi odağı olmaktadır. Çalışmamıza alınan olguların yaşam süreleri ile ilgili bilgiler yetersizdir. Bu nedenle çalışmada araştırılan tüm parametrelerin prognostik değeri , ancak akciğer karsinomlarında en önemli prognostik belirleyici olduğu bilinen TNM evreleri ile ilişkileri araştırılarak dolaylı olarak saptanmaya çalışılmıştır . Çalışmamızda H+E düzeyinde , tümörlerin kaynaklandığı epitelden farklılık gösteren alanların gözlenmesi ve NE hücrelerden kaynaklanmayan tümörlerde immunohistokimyasal olarak NE özellik gösteren hücrelerin bulunması , akciğer tümörlerinin ortak bir stem hücreden geliştiği kuramını desteklemektedir. Olgularımızdan 7 KHOK ( %12.28 ) ve 1 atipik karsinoid olgusunda H+E seviyesinde heterojen görünüm saptanmıştır. Çalışmamızda H+E' de heterojen görünüm saptanan tüm tümörler lobektomi materyellerinden oluşmaktadır. Endoskopik biyopsilerde ise bu özellik saptanamamıştır. Bu da heterojenitenin değerlendirilmesi için çok sayıda kesitin alınabileceği yeterli dokuya gereksinimi göstermektedir. KHOK olgularımızda , H+E düzeyinde heterojen olanlar ve heterojen olmayan tümörler arasında tümör evresi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamamıştır. NE hücreler içeren ve içermeyen KHOK' lar arasında da evre yönünden farklılık yoktur. Bu bulgular , tümör davranışını , baskın histolojik özelliğin belirlediğini düşündürmektedir.

Tüm akciğer tümörlerinin %5' ini oluşturan karsinoid , %1- 2'sini oluşturan atipik karsinoid ve bronş karsinomlarının %20- 25' ini oluşturan KHK , klasik olarak akciğerin NE neoplazileri olarak bilinmektedirler ( 7,29). Karsinoid ve KHK' ların histolojik özellikleri DSÖ sınıflamasında belirlenmiştir. Atipik karsinoidler ise Arrigoni ve ark. tarafından tanımlanmış ve bunları belirleyen histolojik tanı özellikleri yaygın kullanım kazanmıştır ( 10 ). NE tümörlerin ışık mikroskopunda tanımlanmasında nükleus özellikleri ve tümör hücrelerinin organoid ve trabeküler dizilimi , çit ve rozet oluşturabilmeleri gibi yapısal özellikler temel alınmaktadır ( 8 ) . Atipik karsinoid tümörler fokal nekroz gösteren , nükleolu belirgin ve orta derecede hiperkromatik nükleuslu hücrelerden oluşan , karsinoide göre daha

selüler ve daha düzensiz yapıda ve daha fazla mitoz içeren , metastaz yapma özelliğine sahip tümörlerdir ( 8 ). Son yıllarda akciğer NE neoplaziler grubuna ışık mikroskopisi ve H+E ile NE görünüm oluşturan büyük hücreli nöroendokrin karsinomların katılması önerilmiştir ( 27 ). Ayrıca H+E kesitlerde KHOK histolojik özelliğine sahip tümörlerde de immunohistokimya ya da elektron mikroskobu ile gösterilebilen NE ayrılaşma değişen oranlarda bildirilmektedir ( 8,15,16,20,26,28,29,30,72 ).

Linnolia ve ark. KHOK' da %50 ' ye yaklaşan oranlarda NE belirleyiciler ile olumlu boyanan hücre toplulukları bulunduğunu belirtmektedirler ( 29 ). Guinee ve ark. bu oranı %10-20 olarak bildirmişlerdir ( 73 ). Diğer çalışmalarda ise bu oran %3 ile %50 arasında değişmektedir ( 28,15 ). Bazı çalışmalara göre ileri incelemeler ile NE ayrılaşma gösteren KHOK' ların klinik özelliğinin NE ayrılaşma görülmeyen karsinomlardan farklılık gösterdiği , ilaca duyarlılığının daha fazla olması yanısıra bu tümörlerin prognozunun daha kötü olduğu belirtilmektedir ( 16,29,73,74 ). Bazı çalışmalarda ise 2 ya da daha fazla NE belirleyici ile boyanan tümörlerin evre , tümör nüksü ve yaşam süresi açısından hiçbir belirleyici ile boyanmayanlardan farklı olmadığı belirtilmektedir ( 20 ). Görülüyor ki bu tümörlerin biyolojik davranışı henüz kesinlik kazanmamıştır ve akciğer tümörleri arasında ayrı bir tür oluşturup oluşturmayacağını belirlenmesi için geniş serili çok sayıda çalışmaya gereksinim vardır.

NE tümörlerin , 20 yıl önce Pearse tarafından farkedilen , peptid hormon ve biyojenik aminleri sentezleme , depolama ve salgılama yeteneğindeki hücrelerden geliştiği bilinmektedir ( 26 ). Bu hücrelerin ürünleri elektron mikroskobunda yoğun görünen sitoplazmik granüllerde depolanırlar ( 26 ). NE hücrelerden salgılanan 30 ' un üzerinde peptid hormon ve biyojenik amin ürün bilinmekte ve bu ürünler immunhistokimyasal yöntemler ile saptanabilmektedir ( 14,26 ).

Immunohistokimyasal yöntemlerle , NE belirleyiciler ile nöroendokrin ayrılaşmanın saptanmasında çelişkili sonuçlar vardır . Bu amaçla en sık kullanılan NE belirleyiciler NSE , kromogranin A , serotonin , kalsitonin , sinaptofizin ve Leu 7' dir ( 20,29 ). Bu çalışmada kullanılan genel NE belirleyicilerden Nöron Spesifik Enolaz (NSE) , glikolitik bir enzim olan enolazın bir izoenzimidir. Enolaz , glikolitik yolda 2 fosfogliseratın fosfoenol piruvata dönüşmesinde yardımcı bir enzimdir. Tüm vücutta bulunan enolaz enzimleri immunolojik olarak farklı 3 alt ünitenin ( alfa , beta , gamma ) dimerleridir. Alfa alfa homodimeri çoğu dokuda bulunurken , beta alt ünitesi kas dokusunda , gamma alt ünitesi ise nöral ve nöroendokrin tümör ve dokularda gamma gamma ve alfa gamma dimerleri şeklinde bulunur. Gamma alt birimi , alfa gamma dimeri şeklinde düz kas , bronş düz kası ,

tip II pnömosit ve endokrin olmayan neoplazilerde de bulunmaktadır. İmmunhistokimyasal yöntemlerle anti gamma enolaz antikoru kullanılarak farklı dimerler ayırd edilemez. Bu yüzden bu antikor nöral doku için özgün değildir. Ancak gamma gamma izoenzimi kullanıldığında spesifik olarak NE ayırılma saptanabilir ( 15 ). Çalışmamızda , insan beyninden elde edilen gamma gamma enolaz immunojen olarak kullanılmıştır. Bu antikorun NSE'nin alfa ve beta alt grupları ile çapraz reaksiyon vermediği belirtilmekle birlikte ( 75 ), bazı yayınlarda gamma gamma enolazın bazı endokrin olmayan tümörlerde de bulunabileceği belirtilmektedir ( 76 ). Bu, bir çalışmada , bu tümörlerde neoplastik dönüşüm sırasında gamma türünde olmayan izoenzimlerin gamma formuna dönüşebileceği şeklinde açıklanmıştır ( 23 ). Linnolia ve ark. 77 KHOK olgusunda %52 oranında NSE olumluluğu saptamışlardır ( 29 ). Bizim 57 KHOK olgumuzda ise bu oran %43.9 ( 25 olgu ) dur. Olumlu olgular , lobektomi materyellerimizin %39.39' unu ( 13 olgu ) , transbronşial biyopsilerimizin ise %50' sini ( 12olgu ) oluşturmaktadır. Guinee ve ark. 60 NE tümörde yaptığı çalışmada , NSE ile boyanma oranları , açık akciğer biyopsilerinde %60 , transbronşial biyopsilerle ise %33 ' dür ve bu farklılığın nedeni olarak da heterojen boyanma gösterebilen bu tümörlerde transbronşial biyopsilerin NE fenotipi belirlemedeki yetersizliği şeklinde yorumlanmıştır (73) .Bizim çalışmamızda , transbronşial biyopsilerde daha yüksek oranda NSE olumluluğunun saptanmış olması bu düşünceyi desteklemektedir.

Kromogranin A ve B , ilk olarak adrenal kromaffin granüllerinden izole edilmiştir. Granüller içinde yer alan çözünebilir , asidik proteinlerin yarısından fazlasını oluşturur ( 77,78 ). Bronş NE hücrelerinde bulunduğu bilinen kromogranin A nın gerçek fonksiyonu bilinmemekle birlikte , sekretuar granüllerin matürasyonunda etkili olduğu , sekretuar granüllerin içindeki enzim aktivitesini düzenlediği ve peptid hormon öncüsü olduğu gibi görüşler öne sürülmektedir ( 25 ). Linnolia ve ark. serilerinde , kromogranin A' yı KHK' da % 56 oranında saptamışlardır . Aynı çalışmada KHOK için bu oran % 8 ' dir ( 29 ). Guinee' nin çalışmasında , NE tümörlerde kromogranin A ile boyanma oranı açık akciğer biyopsilerinde %60 , transbronşial biyopsilerde % 47 ' dir ( 73 ). Bizim çalışmamızda NE olmayan akciğer tümörlerinde kromogranin ile olumluluk saptanmamış , 3 NE tümörün 2' sinde şiddetli olumlu boyanma görülmüştür.

Kalsitonin ve serotonin , akciğer NE hücrelerinden ve tümör hücrelerinden salgılanan özgül ötopik ürünlerdir (.29.). Linnolia ve ark. çalışmalarındaki 4 karsinoid tümör , 32 KHK ve 77 KHOK olgusunda kalsitoninin , karsinoid tümörlerin % 50' sinde ve KHK' ların % 6 ' sında KHOK' lerin ise % 1 ' inde olumluluk gösterdiğini , serotonin olumluluğunun

ise bu tümörlerde sırası ile , % 75 , % 13 ve % 1 oranında olduğunu bildirilmektedirler ( 29 ).KHOK tanılı 57 olgumuzda , serotonin ile olumlu boyanma saptanmamış olup , kalsitonin ile boyanma % 8.7 olguda izlenmiştir. Çalışmamızdaki NE tümörlerde ne serotonin ne de kalsitonin ile boyanma izlenmemiştir .

Birçok çalışmada ışık mikroskopisi ile NE ayrışmanın seçilemediği olgularda immunohistokimya ile gösterilen NE belirleyici olumluluğunun gerçekte NE ayrışmayı temsil edip etmediği sorgulanmış ve bu amaçla NE belirleyici olumluluğu nicelik ve nitelik yönünden irdelenmiştir. Linnolia ve ark. 77 KHOK olgusuna 9 NE belirleyici uygulamışlar , 7 olguda ( %9 ) bu belirleyicilerin 4 ya da daha fazlası ile olumluluk saptamışlardır. Bu araştırmacılar immunhistokimyasal olarak NE tümörlerden , boyadıkları belirleyici sayısı açısından ayırd edilemeyecek boyanma özelliği gösteren KHOK' ları NE ayrışma gösteren tümörler olarak tanımlamışlardır ( 29 ) . Brambilla ve ark. ise , çalışmalarına aldıkları NE tümörlerin % 96 ' sında en az 3 belirleyici ile olumlu boyanma saptamışlar , bu yüzden 3 ya da daha fazla NE belirleyici ile olumlu boyanan KHOK' ları NE diferansiasyon gösteren tümörler olarak kabul etmişlerdir ( 15 ). Buna karşın 2 ya da daha fazla genel NE belirleyici olumluluğunu NE ayrışma ölçütü olarak kabul eden bazı yayınlar da vardır ( 16,20 ) .Pek çok çalışmada KHOK' larda % 67 ' ye varan oranlarda gösterilen NSE olumluluğunun en duyarlı , fakat en az özgül bulgu olduğu belirtilmektedir ( 15,29,73,79 ) .Immunohistokimya uygulanan olguların elektron mikroskopisi ile karşılaştırıldığı Wilson ve ark.' nın çalışmasında , EM ile yoğun granüller saptanan tüm tümörlerde NSE olumluluğunun saptandığı , granül içermeyenlerde ise NSE' nin olumsuz olduğu belirtilmektedir. Bu çalışmada NSE ' nin hem özgül hem de duyarlı bir belirleyici olabileceği bu yüzden NSE olumluluğu saptanan olguların EM ile sitoplazmik granüller açısından araştırılması gerekliliği savunulmuştur. Aynı çalışmada , serotoninin de granüller için spesifik ancak NSE den daha az duyarlı bir belirleyici olduğu öne sürülmektedir ( 28 ). Skov ve ark. NSE' nin adenokarsinomlardaki prognostik önemini araştırmış , istatistiksel anlamı olmamakla birlikte NSE olumlu olguların kemoterapiye daha iyi yanıt verdiğini bildirmişlerdir ( 20 ) . Bu bulgu , "Eastern Cooperative Oncology Group" un çalışmalarında desteklenmiştir ( 20 ) . Bu veriler , NSE' in KHOK' ler için klinik öneminin olabileceğini akla getirmekte ve geniş serilerde EM ile karşılaştırılan çalışmaların gereğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte çalışmamızda NSE olumlu olgular ile NSE olumsuz olgular arasında , akciğer tümörleri için önemli bir prognostik faktör olan tümör evresi açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır .



Bizim çalışmamızdaki 3 NE tümörden iki atipik karsinoid tümör , NSE ve kromogranin A ile şiddetli olumlu boyanma göstermiştir. 57 KHOK olgumuzun 24 'ünde yalnız bir belirleyici ( NSE ya da kalsitonin ) , 3 'ünde ise ( %5.26 ) 2 NE belirleyici ( NSE ve kalsitonin ) ile olumlu boyanma saptanmıştır . NSE'nin özgül olmadığını ve en az iki belirleyici ile olumluluğu yeterli NE ayırılma ölçütü olarak kabul edersek bu 3 olguyu NE ayırılma gösteren KHOK olarak değerlendirebiliriz . Kaynaklarda NE ayırılmanın BHK ve az differansiye adenokarsinomlarda SHK'lara göre daha sıklıkla bulunduğu bildirilmektedir ( 15,20,29,30 ) . 2 NE belirleyici ile boyanan 3 olgumuzun 2'si SHK , 1'i ise adenoskuamöz karsinomdur.

NE tümörlerde yapılan çalışmalarda , karsinoid tümörden KHK'a doğru gidildikçe NE belirleyiciler ile boyanma oranlarının düştüğü , ayrıca H+E düzeyinde KHK tanısı almış tümörlerin % 20 - 24 'ünde hiçbir NE belirleyici ile boyanmanın olmadığı belirtilmektedir ( 29,73 ) . Bu bulgu , hücre ayırılmasının azalışı ile açıklanmaktadır ( 77 ) . Bizim çalışmamızdaki 3 NE tümörden iki atipik karsinoid tümör , NSE ve kromogranin A ile şiddetli olumluluk göstermekle birlikte H+E seviyesinde KHK tanısı alan 1 olgunun hiçbir NE belirleyici ile boyanmamış olması yukarıda belirtilen mekanizma ile açıklanabilir . Bu bulgu , KHK tanısının immunohistokimyasal teknikle dışlanamayacağını göstermektedir.

Serimizdeki 57 adet küçük hücreli olmayan fakat 1 ya da 2 NE belirleyici ile değişen derecelerde boyanma gösteren karsinomlar içinde yalnız kalsitonin olumluluğu gösteren 1 olguda H+E 'de fokal olarak NE tümörlere benzer görünüm saptanmıştır. H+E düzeyinde fokal NE görünüme sahip diğer iki KHOK ile , 1 KHK olgusunda ise hiçbir NE belirleyici ile olumluluk saptanmamıştır. Bu bulgular ve kaynaklardan elde edilen sonuçlar , immunhistokimya ile H+E kesitlerin , tümörün NE fenotipi açısından her zaman uyum göstermediğini , bu yüzden prognostik önemi olabilecek bu özelliğin açığa çıkartılması için elektron mikroskopisini de içeren ek yöntemlerin gerekli olabileceğini akla getirmektedir.

Çalışmamızda 2 belirleyici ile olumlu boyanan tümörlerimiz ile , hiçbir NE belirleyici ile olumlu olmayan ya da tek belirleyici ile boyanma gösteren tümörler arasında tümör evresi açısından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır. Çalışmamızda bir ya da iki NE belirleyici ile olumluluk gösteren 27 olgumuzun evrelere dağılımına baktığımızda , bunların 18 'inin yüksek evrelerde ( evre 3A , 3B ve 4 ) oldukları , 9' unun ise erken evrelerde ( evre 1 ve 2 ) oldukları dikkati çekmektedir. Buna karşın NE belirleyiciler ile olumsuz boyanan 30 olgumuzun evreleri ile , olumlu boyanan olgularımızın evreleri arasında istatistiksel anlamlı farklılık

saptanmamıştır. Bu sonuçlarımız , Graziano ve ark.' nin çalışmalarındaki sonuçlar ile uyumlu olmakla birlikte , NE ayrışma ile tümör evresi arasında anlamlı olumlu ilişki bildiren Sundaresan ve ark.' inin sonuçları ile uyumlu değildir ( 20,80 ).

Cerrahi , kemoterapi ve radyasyon ile sağaltımdaki gelişmelere karşın akciğer kanserlerinde beş yıllık yaşam oranlarının yıllar içinde önemli değişiklik göstermemesi , akciğer karsinogenezinin anlaşılması için yeni atılımlara sebep olmuştur ( 3 ). Moleküler biyolojik düzeyde yapılan kanser araştırmaları , karsinogenezin genler tarafından kontrol edilen çok basamaklı bir olay olduğunu göstermektedir ( 31 ). Akciğer kanseri ve diğer birçok neoplazide en çok mutasyona uğrayan gen bir tümör süpresör geni olan p53 genidir ( 48,59 ). P53 geninin intranükleer , 53 kD 'luk bir proteini kodladığı ve bu normal proteinin transkripsiyonu düzenlediği , WAF 1 ve GADD 45 gibi genlerin ifadesini uyardığı ve bu genler aracılığı ile hücre siklusunu G 1 fazında durdurarak DNA replikasyonunu sağladığı , ayrıca apoptosisi uyardığı bildirilmektedir ( 32,33,40,81 ). P53 geninde meydana gelebilecek mutasyonlar , p53 proteinini stabilize edecek ve nukleusta birikmesine neden olacaktır ( 41,42,46,47 ). Bu da immunohistokimyasal olarak bu proteinin saptanmasına yol açar . Kaynaklarda akciğer kanserlerinin tüm türlerinde % 37 - 80 arasında p53 mutasyonu oranları verilmekle birlikte , bazı yayınlarda KHK ' larda bu oranın % 61 - 90 arasında olduğu belirtilmektedir ( 49,51,55,82,83 ).

KHOK olgularımızda p53 ile boyanma oranı % 70.91 ' dir. NE tümörlerde ise , iki atipik karsinoidden biri ve bir adet KHK olgumuz p53 ile olumlu bulunmuştur. Bazı çalışmalarda p53 mutasyonları , akciğerde kansere öncü durumlarda da gösterilmiş ve p53 mutasyonlarının karsinogenezin erken evrelerinde ortaya çıktığı belirtilmiştir ( 34,41,56 ). Bazı çalışmalarda ise , p53 ' ün belirlenmesinin hastalığın herhangi bir evresi ile ilişkili olmadığı öne sürülmektedir ( 40,49,50 ). Çalışmamızda evreler arasında p53 boyanma skorları açısından anlamlı istatistiksel farklılık saptanmamıştır . Bu da p53 mutasyonlarının her evrede , değişen oranlardaki hücrelerde ortaya çıkabileceğini göstermektedir. P53'ün prognoz üzerine olan etkisi henüz belirsizdir , çünkü bildirilen çok sayıdaki çalışmaların sonuçları birbirleri ile uyumlu değildir (40,41,43,46,49,55,58,59,61 ) . Çalışmamızda , takip verileri olmamakla birlikte p53 + (olumlu) ve - (olumsuz) tümörler arasında hastalık evresi açısından anlamlı istatistiksel fark yoktur . Ayrıca , Barbereschi ve ark. NE akciğer tümörlerinde tipik karsinoidden KHK' a doğru NE ayrışmasının azaldığını , bununla birlikte p53 mutasyon sıklığının ve tümör çoğalma

aktivitesinin arttığını ve bu üç olayın birbiriyle bağlantılı olduğunu belirtmektedirler ( 55,84 ). Çalışmamızda bir ya da iki NE belirleyiciyle olumlu boyanmış KHOK 'lar ile , boyanmayanlar arasında ve NE tümörlerimizde p53 gen ifadesinde , Barbareschi ve ark. 'nin öne sürdüğü ilişki saptanmamıştır. Bu da her iki olayın farklı mekanizmalarla kontrol edildiğini düşündürmektedir.

Kaynaklarda p53 olumluluk oranlarındaki ve klinikopatolojik parametrelerin ilişkisindeki farklılıklar , p53 mutasyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan çok farklı skorlama sistemlerine bağlı olabilir. Çoğu çalışmada p53 immun reaktivitesi olumlu hücrelerin sayısı gözönüne alınmaksızın olumlu ya da olumsuz olarak değerlendirilmektedir. Bazı araştırmacılar herhangi bir miktardaki hücrede olumluluk saptanan tüm tümörleri olumlu kabul ederken , Davidoff ve ark. yaygın p53 boyanması olmadan o tümörü olumlu kabul etmemektedirler . Walker ve ark. ise %10 hücreden fazla boyanma olan tümörleri olumlu kabul etmektedirler. Diğer çalışmalarda ise tümör hücreleri sayılarak boyanma belirlenmektedir , fakat bu yöntem hücre sayımının güçlüğü ve sayılacak alanların belirsizliği yüzünden tercih edilmemektedir ( 46) . Çalışmamızda ise , daha önce açıklanan , yarı kantitatif bir skorlama yöntemi tercih edilmiştir.

Olgularımızda tümör çoğalma indeksleri , 1000 tümör hücresindeki PCNA antikoru ile nükleusu boyanan hücrelerin sayımı ile hesaplanmıştır. Sonuçlarımız , Theunissen ve ark.'nın da belirttiği gibi akciğer tümörlerinde çoğalma aktivitesinin yüksek olduğu yönündedir. Çalışmamızda PCNA skor ve indeksleri ile önemli prognostik parametre olan tümör evresi arasında , Ishida ve ark. ' nın bulgularının aksine istatistiksel olumlu ilişki saptanmamıştır. Bu bulgu , Lee ve ark.' nın ( 85 ) PCNA olumluluğu ve tümör evresi arasında ilişki olmadığı sonucuna varan çalışmaları ile uyumludur. Olgularımızın histolojik türleri ile PCNA skorları arasında ilişki bulunamamıştır.

Haerslev ve ark , çalışmalarında akciğer tümörlerinin %52' sinde PCNA aktivitesini yüksek ( %25' in üzeri ) bulmuşlar ,ayrıca bu yazarlar Ebina ve ark. gibi p53 ifadesi ile tümörün PCNA indeksi arasında olumlu ilişki saptamışlardır ( 46,68 ) . Korkolopoulou ve ark.' da p53 ifadesi ile PCNA ifadesi arasında olumlu ilişki saptamışlar ve normal p53 geninin seçici olarak PCNA mRNA ve proteininin baskılanmasını sağladığı , mutant p53 geninin ise PCNA geni üzerinde uyarıcı rolü olduğunu vurgulamışlardır ( 55 ). Bu çalışmaların aksine Fontanini ve ark. ise araştırmalarında p53 ifadesi ile PCNA ifadesi arasında ilişki saptamamışlardır ( 86 ) . Bizim çalışmamızda da yüksek PCNA indeksi saptanan olgular ile düşük indeksli olgular arasında p53 ifadesi açısından

anlamli fark saptanmamıştır. Ayrıca bu çalışmada NE belirleyiciler ile olumlu boyanan tümörler ile olumsuz boyananlar arasında çoğalma aktivitesi yönünden istatistiksel anlamli farklılık saptanmamıştır.

Literatürde PCNA indeksleri ile prognostik parametreler arasındaki ilişkide farklılıkların olması , bazı çalışmalarda belirtildiği gibi PCNA ifadesinin sadece hücre çoğalması sırasında değil DNA tamiri sırasında da ifade edilmesi , ayrıca PCNA' nın 20 saati bulan uzun yarı ömrünün olması sebebi ile hücre siklüsünden çıkmış hücrelerde de olumlu saptanmasına ve bunlarla ilişkili değerlendirme yanıışlarına bağılı olabilir . Ne var ki buna karşılık , diğer çalışmalarda mitotik indeks ile PCNA indeksleri arasında istatistiksel anlamli ilişkinin olması , PCNA' nın güvenilir bir çoğalma belirleyicisi olduğunu düşündürmektedir ( 65,70 ).

1982' de yayınlanan DSÖ sınıflamasından bu yana akciğer tümörlerinin karsinogenezis ve histogenezisi ve biyolojik davranışı konularında önemli gelişmelerin olduğu açıktır. Akciğer kanserlerinde heterojenite ve NE olmayan tümörlerde NE ayırılmaşmanın biyolojik ve prognostik önemi ise tartışmalıdır. Çalışmamızda heterojen tümörler ve NE belirleyiciler ile olumluluk gösteren ve göstermeyen KHOK ' ın evre hücre kinetiği ve tümör onkogenesisi yönünden farklılık göstermediği görülmüştür. Bazı çalışmacıların önerdiği gibi (13) akciğer karsinomlarında ışık mikroskobu ya da daha ileri yöntemler ile saptanan bu özelliklerin rapor edilmesi bu konudaki bilgi birikimini arttıracak ve bu özelliklerin prognoz verilerini de içeren geniş serilerde araştırılabilmesine olanak sağlayacaktır. Bu da gelecekte akciğer kanserleri ile ilgili pek çok soruya cevap olacak yeni verilerin elde edilmesi için gereklidir.

## SONUÇLAR

Çalışmamızda , 60 bronş karsinomu olgusuna ait 24 endoskopik biyopsi , 35 lobektomi ve 1 pnömonektomi materyelinin H+E kesitleri incelenerek , 1982 DSÖ sınıflamasına göre tekrar değerlendirilmiştir. Tüm olgular uluslararası TNM sistemine göre evrelendirilmiştir. Olgulara ait tüm kesitler tümör heterojenitesi ve H+E düzeyindeki NE görünümleri açısından incelenmiştir. Olguların seçilen bloklarına , immunhistokimyasal yöntem ile NE ayrılaşmayı saptamak amacı ile NSE , kromogranin A , kalsitonin ve serotonin antikoru , p53 gen mutasyonlarını göstermek amacı ile p53 antikoru , tümör çoğalma derecesinin saptanması amacı ile PCNA antikoru uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar kendi aralarında ve tümör evreleri ile istatistiksel yöntemler ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak:

1- 60 olgunun H E düzeyinde DSÖ sınıflamasına göre değerlendirilmesi sonucu , bu olguların 38'inin SHK (22'si iyi, 12'si az, 4'ü orta derecede ayrılaşmış ) 14'ünün adenokarsinom ( 10'u iyi, 2'si az , 2'si orta derecede ayrılaşmış ) , 2'sinin adenoskuamöz karsinom , 3'ünün BHK , 2'sinin atipik karsinoid ve 1'inin KHK olduğu saptanmıştır.

2- Olguların 20'si evre 1 , 6'sı evre 2 , 8'i evre 3A , 10' u evre 3B ve 16'sı evre 4 tümörlerdir.

3- H+E düzeyinde 57 KHOK olgusunun 7 'sinde ( % 12.28 ) ve 3 NE tümörden 1 atipik karsinoid tümörde baskın histolojik tür dışında heterojen alanlar izlenmiştir. KHOK olgularında heterojen görünümdeki olgular ile heterojen olmayan grup arasında evre , çoğalma aktivitesi ve p53 ifadesi açısından anlamlı istatistiksel farklılık saptanmamıştır. Bu bulgu tümör davranışının baskın histolojik görünüm ile belirlendiğini göstermektedir. Heterojen alanlar lobektomi materyellerine ait kesitlerde görülmüş , endoskopik biyopsilerde bu özelliğe rastlanmamıştır . Bu nedenle çalışmamızda tümör davranışı ile ilişkili olmadığı saptanan bu özelliğin değerlendirilmesi için tümörün değişik alanlarından alınan çok sayıda kesidin incelenmesi gerekmektedir.

4- H+E düzeyinde NE özellikler yönünden incelenen 57 KHOK olgusundan 4 SHK' da NE görünüm saptanmıştır.

5- NE belirleyiciler ile immunohistokimyasal boyamalar sonucunda , 57 KHOK olgusunun 30 ' u ( % 52.63 ) hiçbir belirleyici ile boyanmamış , 24 'ü ( % 42.11 ) 1 NE belirleyici ( 2' si sadece kalsitonin , 22' si sadece NSE ) ile boyanma göstermiştir. 3 olguda ( % 5.26 ) ise ( 2 skuamöz hücreli karsinom ve 1 adenoskuamöz karsinom ) NSE ve kalsitoninin her ikisi ile de boyanma görülmüştür. NSE ile boyanan 25

KHOK olgusundan 7' sinin ( % 28 ) 1+ , 14' ünün ( % 56 ) 2+ , 4' ünün ( % 16 ) 3+ şiddette boyanma gösterdiği saptanmıştır. NSE ile olumlu boyanan olgular lobektomi olgularımızın % 39.39' u , transbroşial biyopsilerin ise % 50' sini oluşturmaktadır. KHOK olgularımızda kalsitonin ile boyanma oranı % 8.7' dir. Serotonin ile olumlu boyanma saptanmamıştır. NE tümörlerden 2 atipik karsinoid tümörde NSE ve kromogranin ile yaygın boyanma saptanırken , 1 KHK olgusunda hiçbir NE belirleyici ile boyanma saptanmamıştır.

6- Hiçbir NE belirleyici ile olumlu boyanmayan tümörler ile iki belirleyici ile olumlu boyanma gösteren tümörler arasında evre , p53 ifadesi ve tümör çoğalma aktivitesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Sonuç olarak bulgularımız NE belirleyiciler ile olumlu boyanan tümörlerin davranışının daha agresiv olduğu fikrini desteklemektedir.

7- Hiçbir NE belirleyici ile olumlu boyanmayan tümörler ile , yalnız bir belirleyici ile boyanma gösterenler arasında ayrıca bir ve iki belirleyici ile boyanma gösterenler arasında evre , p53 ve tümör çoğalma aktivitesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

8- NSE ile 1+ , 2+ ve 3+ şiddette boyanan tümörler arasında evre , p53 ifadesi ve tümörün çoğalma aktivitesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

9- Değerlendirilebilen 55 KHOK olgusunun % 70.91' inde p53 ile değişik derecelerde boyanma gözlenmiştir. Olumlu boyanan ve olumsuz boyanan tümörler ile , ayrıca şiddetli boyanma gösterenler ( 3+ ) ile hafif boyananlar ( 1+ ve 2+ ) arasında evre açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur. P53 boyanma dereceleri ile evreler arasında ilişki yoktur. Bu bulgu p53 mutasyonunun tümörün herhangi bir evresinde ortaya çıkabileceği fikrini desteklemektedir.

10- KHOK olgularımızda p53 boyanma dereceleri ile PCNA indeksleri arasında istatistiksel anlamlı ilişki yoktur.

11- KHOK olgularımızda , PCNA ile boyanma indeksi ortalama % 61.65' dir ve tüm olgular PCNA ile olumlu boyanmıştır.

12- PCNA boyanma indeksleri ile tümör evreleri arasında KHOK olgularımızda istatistiksel anlamlı ilişki yoktur. Ayrıca p53 boyanma dereceleri ile PCNA indeksleri arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır. Bu bulgu mutant p53 geninin PCNA proteini üzerindeki ileri sürülen uyarıcı etkisini desteklemektedir.

13- 3 NE tümörümüzün ikisi p53 ile 2+ ve 3+ şiddetlerde , tümü PCNA ile 2+ ve 3+ şiddetlerde boyanma göstermiştir.

## Ö Z E T

Akciğer kanseri , gelişmiş ülkelerde kansere bağlı ölümlerin başında gelmektedir . Akciğer kanserleri 1982 'de yeni şekli ile yayınlanan Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasına göre histopatolojik olarak 7 alt türe ( Skuamöz hücreli karsinom , adenokarsinom , büyük hücreli karsinom, bronşial bez karsinomu , karsinoid tümör , küçük hücreli karsinom ve adenoskuamöz karsinom) ayrılırlar. Klinisyenler sağaltım ve prognozdeki farklılık yüzünden , bronş karsinomlarını küçük hücreli karsinomlar (KHK) ve küçük hücreli olmayan karsinomlar (KHOK) olarak iki alt türe ayırmayı tercih etmektedirler. KHK 'larda sağaltım kemoterapi iken , KHOK 'larda tümör evresine göre , seçilen olgulara cerrahi sağaltım uygulanabilmektedir. Tümörler uluslararası TNM evrelendirme sistemine göre klinik olarak evrelendirilmektedir.

Akciğer karsinomlarında ışık mikroskobu , elektron mikroskopik ya da immunhistokimyasal olarak ortaya konabilen ve çalışmalarda % 13 - 63 arasında değişen oranlarda saptanan heterojen histolojik yapının giderek sıklıkla gözlenmesi , akciğer karsinomlarının histogenezi ile ilgili görüşlerin değişmesine yol açmıştır. Akciğerin nöroendokrin (NE) tümörlerinin NE hücrelerden köken aldığı savına karşın, NE olmayan tümörlerde yapılan çalışmalarda gösterildiği gibi % 3-50 oranlarında NE özellikteki hücrelerin bulunuşu , nöroendokrin olan ve olmayan kanserlerin ortak bir stem hücreden geliştiği fikrini desteklemektedir.

Heterojen ve NE ayrılaşma gösteren tümörlerin biolojik davranışı konusunda yapılan çalışmalarda birbiri ile çelişen sonuçlar alınmıştır.

Akciğer tümürlü hastalarının yaşam oranlarının tanı ve sağaltımdaki yeniliklere rağmen yıllar içinde önemli değişiklik göstermemesi, akciğer tümörlerinin karsinogenezisinin anlaşılması için yeni atılımlara sebep olmuştur. Bu konuda moleküler biyolojik düzeyde yapılan çalışmalarda karsinogenezisin genler tarafından kontrol edildiği saptanmıştır. Bir tümör süpresör geni olan p53 genindeki mutasyonlar , akciğer kanserlerinde en sık görülen genetik anormalliklerdir. Mutant p53 geninin kodladığı anormal nükleer protein immünohistokimyasal yöntemler ile saptanabilmektedir. Literatürde akciğer kanserlerinin tüm histolojik tiplerinde % 37 - 80 arasında immünohistokimyasal yöntemler ile de saptanabilen p53 mutasyonlarının olduğu bildirilmektedir. Mutasyonun hastalığın hangi evresinde ortaya çıktığı ve prognoz ve tümör çoğalma hızını nasıl etkilediği konusu açıklık kazanmamıştır.

Akciğer tümörlerinde tümör biyolojisinin anlaşılması amacıyla hücre kinetik çalışmaları son yıllarda önem kazanmıştır. Bu amaçla immunohistokimyasal yöntem ile hücre siklusu belirleyicileri kullanılmaktadır. Bunlardan biri anti - PCNA antikordur. Akciğer kanserlerinde immunohistokimyasal yöntemler ile yüksek oranda PCNA olumluluğu saptanmaktadır. Ancak PCNA olumluluğu ile evre ve prognoz arasındaki ilişki belirli değildir.

Bu çalışmada amaç , 60 bronş karsinomu olgusunda akciğer tümörlerinin biyolojik davranışlarında etkileri tartışmalı olan heterojenite , NE ayrışma , p53 ve PCNA aktivitelerinin birbirleri ve tümör evreleri ile ilişkilerini araştırmaktır. Bu amaçla 60 olguya NE ayrışmayı belirlemek için NSE , kromogranin A , kalsitonin ve serotonin NE belirleyicileri ; p53 mutasyonlarını saptamak amacı ile p53 antikoru ; tümör çoğalma aktivitesini belirlemek için ise PCNA antikoru immunohistokimyasal yöntem ile uygulanmıştır.

Sonuçta KHOK' larda % 12.28 oranda , 3 KHK' nin ise 1'inde heterojen görüntü saptanmış , heterojen olan ve olmayan tümörler arasında evre , tümör çoğalma hızı ve p53 olumluluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir.

57 KHOK olgusunun % 5.26 'sında ( 3 olgu ) iki NE belirleyici ile % 42.11 ' inde ise ( 24 olgu ) bir NE belirleyici ile olumlu boyanma saptanmıştır. 30 olgu ise NE belirleyiciler ile olumlu boyanma göstermemiştir. Bir ya da iki NE belirleyici ile olumlu boyanan olgular ile olumsuz boyanan olgular arasında evre , tümör çoğalma hızı ve p53 olumluluğu açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Olgularımızda p53 ile olumlu boyanan KHOK ' ların oranı %70.91 'dir . P53 ifadesi ile evre ve PCNA ifadesi arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır. Değerlendirilebilen tüm KHOK olguları PCNA ile olumlu boyanmıştır. PCNA ortalama indeksi bu olgular için % 61.65 ' dir. PCNA ifadesi ile olguların tanıları ve evreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Çalışmamızda NE ayrışma ve heterojen histolojik yapı gösteren ve göstermeyen KHOK' lerin evre , hücre kinetiği ve tümör onkogenezi yönünden farklılık göstermediği görülmüş , baskın histolojik özelliğin prognozu belirlediği sonucuna ulaşılmıştır. Buna rağmen prognostik önemi tartışmalı olan bu özelliklerin bazı çalışmacıların önerdiği gibi raporda belirtilmesi , ileride prognoz verilerini de içeren geniş serilerde yapılacak çalışmalara ışık tutacaktır.



## KAYNAKLAR

- 1- Travis WD, Travis LB, Devesa SS. Lung cancer. *Cancer* 1995; 75:91-202.
- 2- Silverberg SG. Principles and practice of surgical pathology. Second Edition , New York: : Churchill Livingstone , 1990 ; 713-725.
- 3- Saldana MJ, Sridhar KS, Thurer RJ. Classification , staging and etiology of lung cancer. In: Saldana MJ, ed. Pathology of pulmonary disease. Philadelphia: J B Lippincott Company, 1994:523- 530.
- 4- Noguchi M, Morikava A, Kawasaki M, Matsuno Y. Small adenocarcinoma of the lung. Histologic characteristics and prognosis. *Cancer* 1995;75: 2844-52.
- 5- Barsky SH, Cameron R, Osann KE, Tomita D et al. Rising incidence of bronchioloalveolar lung carcinoma and its unique clinicopathologic features. *Cancer* 1994;73: 1163-70.
- 6- Mulshine JL, Treston A M, Brown PH, Birrer JB et al. Initiators and promoters of lung cancer. *Chest* 1993;103(Suppl) :4S-11S.
- 7- American Society Of Clinical Pathologists. The World Health Organization histological typing of lung tumours. *Am J Clin Pathol.* 1982; 77:123-136.
- 8- Kargı HA. Akciğerin nöroendokrin tümörleri. *DEÜTF Dergisi.* 1993;7(1):70-77.
- 9- Ishida T, Kaneko S, Yokoyama H, Inoue T et al. Adenosquamous carcinoma of the lung. Clinicopathologic and immunohistochemical features. *Am J Clin Pathol* 1992; 97: 678- 685.
- 10- Mills SE, Walker AN, Cooper PH, Kron IL. Atypical carcinoid tumor of lung. *Am J Surg Pathol* 1982; 6: 643-654.
- 11- Shimasato Y .Pulmonary neoplasms in: Sternberg SS. ed. Diagnostic surgical pathology . Second edition .New York :Raven press Ltd. 1994: 1045.
- 12- Lee JS, Hong WK. Prognostic factors in lung cancer. *The New English Journal of Medicine* 1992; 327(1):47-48.
- 13- Myers JL, Askin FB, Yousem SA. Recommendations for the reporting of resected primary lung carcinomas. *Hum Pathol* 1995;26(9): 937-939.
- 14- Carter N, Nelson F, Gosney J. Ultrastructural heterogeneity in undifferentiated bronchial carcinoma. *J Pathol* 1993;171: 53-57.
- 15- Brambilla E, Veale D, Moro D, Morel F, et al. Comprasion of immunohistochemistry with biochemical determination of enolase isoenzymes. *Am J Clin Pathol* 1992; 98:88-97.
- 16- ASCP. Check Sample ; AP - 90-3 ; 2-5.

17- Fraire AE, Johnson EH, Yesner R, Zhang XB. Prognostic significance of histopathologic subtype and stage in small cell lung cancer. *Hum Pathol* 1992; 23: 520-528.

18- Adelstein DJ, Tomashefski JF, Snow NJ, Horrigan TP, et al. Mixed small cell and non small cell lung cancer. *Chest* 1986; 89.: 669-704.

19- Ladekarl M, Hansen Tb, Nielsen RH, Mouritzen C, et al. Objective malignancy grading of squamous cell carcinoma of the lung. Stereologic estimates of mean nuclear size are of prognostic value, independent of clinical stage of disease. *Cancer* 1995;76:797-802.

20- Graziano SL, Tatum AH, Newman NB, Oler A, et al. The prognostic significance of neuroendocrine markers and carcinoembryonic antigen in patients with resected stage I and II non-small cell lung cancer. *Cancer Research* 1994;54:2908-2913.

21- Fischer JR, Manegold C, Bulzebruck H, et al. Induction chemotherapy with and without recombinant human granulocyte colony-stimulating factor support in locally advanced stage IIIA/B non small cell lung cancer. *Semin Oncol* 1994; 21(3): 20-27.

22- Fraire AE. Lung cancer heterogeneity. *Cancer* 1987; 1(60):373-375.

23- Beals MD. Biopsy pathology of the bronchi. Second edition.. Philadelphia. Saunders company 1987 : 308-367.

24- Radice PA, Matthews MJ, Ihed DC, Gazdar AF, et al. The clinical behavior of " Mixed " small cell/ large cell bronchogenic carcinoma compared to " pure" small cell subtypes. *Cancer* 1982;50:2894-2902.

25- Kameya T, Yamaguchi K. The endocrine lung in: Kovacks K ed, Functional endocrine pathology Vol. 1, Second edition. Berlin: Blacwell scientific publications, 1991.; 478-491.

26- Gazdar AF, Helman LJ, Israel MA, Russel EK, et al. Expression of neuroendocrine cell markers L- dopa decarboxylase, chromogranin A and dense core granules in human tumors of endocrine and nonendocrine origin. *Cancer Research* 1988;48:4078-4082.

27- Travis WD, Linoila RI, Tsokos MG, Hitchcock CL, et al. Neuroendocrine tumors of the lung with proposed criteria for large-cell neuroendocrine carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1991;15(6):529-553.

28- Wilson TS, McDowell EM, VetMed B, Marangos PJ, et al. Histochemical studies of dense-core granulated tumors of the lung. *Arch Pathol Lab Med* 1985;109:613-620.

29- Linnoila RL, Mulshine JL, Steinberg SM, Funa K, et al. Neuroendocrine differentiation in endocrine and nonendocrine lung carcinomas. *Am J Clin Pathol* 1988;90:641-652.

30- Visscher DW, Zarbo RJ, Trojanowski JQ, Sakr W, Crissman JD. Neuroendocrine differentiation in poorly differentiated lung carcinomas: A light microscopic and immunohistologic study. *Mod Pathol* 1990;3(4):508-512.

31- Roth JA. Modulation of oncogene and tumor - suppressor gene expression : A novel strategy for cancer prevention and treatment. *Ann Surg Oncol* , 1(1); 79-86.

32- Dosaka-Akita H, Shindoh M, Fujino M, Kinoshita I, et al. Abnormal p 53 expression in human lung cancer is associated with histologic subtypes and patient smoking history. *Am J Clin Pathol* 1994;102:660-664.

33- Fujino M, Akita HD, Kato M, Kinoshita, I et all. Simultaneous use of the PCR-SSCP metod and immunohistochemistry of increasing the detection efficacy of p53 abnormalities in human lung cancer. *Am J Clin Pathol* 1995; 104: 319 -324.

34- Rusch V, Klimstra D, Linkov I, Dmitrovsky E. Aberrant expression of p53 or the epidermal growth factor receptor is frequent in early bronchial neoplasia, and coexpression preceeds squamous cell carcinoma development. *Cancer Research* 1995; 55: 1365 -1372.

35- Gazdar AF. Molecular markers for the diagnosis and prognosis of lung cancer. *Cancer* 1992;69:1592-1599.

36- Iggo R, Gatter K, Bartek J, Lane D , et al. Increased expression of mutant forms of p53 oncogene in primary lung cancer. *Lancet* 1990; 335: 675- 79.

37- Caamano J, Momiki RS, Sickler A, Zhank SY, et al. Detection of p53 in primary lung tumors and non small cell lung carcinoma cell lines. *Am J Pathol* 1991; 839-845.

38- Iggo R, Gatter K, Bartek J, Lane D, Harris AL.. Increased expression of mutant forms of p 53 oncogene in primary lung cancer. *Lancet* 1990; 335:675-679.

39- Mitsidomo T, Lam S, Shirakusa T, Gazdar AF. Detection and sequencing of p53 gene mutations in bronchial biopsy samples in patients with lung cancer. *Chest* 1993;104:362-365.

40- Mac laren R, Kuzu I, Dunnill M, Harris A, et al. The relationship of p53 immunostaining to survival in carcinoma of the lung. *Br J Cancer* 1992;66: 735- 738.

41- Brambilla E., Gazzeri S. Moro D, Fromentel C, et al. Immunohistochemical study of p53 in human lung carcinomas. *Am J Pathol* 1993;143:199-210.

42- Kitamura H, Kameda Y, Nakamura N, Nakatani Y, et al. Proliferative potential and p53 overexpression in precursor and early stage lesions of bronchioloalveolar lung carcinoma. *Am J Pathol* . 146(4); 876-887.

43- Minna J. The molecular biology of lung cancer pathogenesis . *Chest* 1993; 103 (Suppl.) :449 S-456 S

44- Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris C. P53 mutations in human cancers. *Science* 1991; 253:49-53.

45- Kandioler D, Foedinger M, Mueller MR, Eckersberger F, et al. Carcinogen-specific mutations in the p53 tumor suppressor gene in lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994;107(4):1095-1098.

46- Haerslev T, Jacobsen GK. An immunohistochemical study of p53 with correlations to histopathological parameters , c-erb-B2 , proliferating cell nuclear antigen and prognosis. *Hum Pathol* 1995;26:295-301.

47- Klein N, Vignaud M, Sadmi M, Plenat F, et al. Squamous metaplasia expression of protooncogenes and p53 in lung cancer patients. *Lab Invest* 1993;68: 26-32.

48- Takahashi T, Nau MM, Chiba I, Birrer MJ, et al. P 53 : A frequent target for genetic abnormalities in lung cancer. *Science* 1989; 246:491-494.

49- Winter SF, Minna JD, Johnson BE, Takahashi T, Gazdar AF, Carbone DP. Development of antibodies against p53 in lung cancer patients appears to be dependent on the type of p53 mutation. *Cancer Research* 1992; 52:4168-4174.

50- Kishimoto Y, Murakami Y, Shiraishi M, Hayashi K , et al. Aberrations of the p53 tumor suppressor gene in human non small cell carcinomas of the lung. *Cancer Research* 1992; 52: 4799- 4804.

51- Harpole DH, Marks JR, Richards WG, Herndon JE, Sugarbaker DJ. Localized adenocarcinoma of the lung: Oncogene expression of erbB-2 and p53 in 150 patients. *Clinical Cancer Research.* 1995; 1; 659-664.

52- Lee LN, Shew JY, Sheu JC, Lee YC, Lee WC , et al. Exon 8 mutation of p53 gene associated with nodal metastasis in non-small-cell lung cancer .*Am J Respir Crit Care Med.* 1994;150(6):1667-1671.

53- Jiang Y, He AG, Dai XC. The immunohistochemical study of p53 protein in primary lung cancer. *Chung Hua Chieh Ho Ho Hu Hsi Tsa Chic.*1994;17(1):45-46.

54- Marchetti A, Buttitta F, Merlo G, Diella F, et al. P53 alterations in non-small cell lung cancer correlate with metastatic involvement of hilar and mediastinal lymph nodes. *Cancer Res.* 1993;53(12):2846-2851.

55- Korkolopoulou P, Oates J, Crocker J, Edwards C. P 53 expression in oat and non-oat small cell lung carcinoma : correlations with proliferating cell nuclear antigen. *J Clin Pathol* 1993;46:1093-1096.

56- Boers JE, Ten Velde GPM, Thunnissen FBJ. P53 in squamous metaplasia : A marker for risk of respiratory tract carcinoma. *Am J Respir Crit Care Med* . 1996; 153:411-6.

57- Bennett WP, Colby TV, Travis WD, Borkowski A, et al. P53 protein accumulates frequently in early bronchial neoplasia. *Cancer Res.*1993;53(20):4817-4822.

58- Quinlan DC, Davidson AG, Summers CL, Warden HE, et al. Accumulation of p53 protein correlates with a poorer prognosis in human lung cancer. *Cancer Research* 1992;52: 4828-4831.

59- Horio Y, Takahashi T, Kuroishi T, Hibi K, et al. Prognostic significance of p53 mutations and 3p deletions in primary resected non small cell lung cancer. *Cancer Research* 1993;53:1-3.

60- Mitsudomi T, Oyama T, Kusano T, Osaki T, et al. Mutations of the p53 gene as a predictor of poor prognosis in patients with non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1993;(24):2018-2023.

61- Johnson B, Kelley MJ. Overview of genetic and molecular events in the pathogenesis of lung cancer. *Chest* 1993;103(Suppl.): 1S - 3S.

62- Casson AG, McCuaig S, Craig I, Ayed A, et al. Prognostic value and clinicopathologic correlation of p53 gene mutations and nuclear DNA content in human lung cancer. *J Surg Oncol.*1994;56(1):13-20.

63- Theunissen PHMH, Leers MPG, Bollen ECM. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) ekspression in formalin -fixed tissue of non small cell lung carcinoma. *Histopathology* 1992; 20: 251- 255.

64- Pendleton N, Dixon GR, Burnett E, Occleston NL, et al. Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in dysplasia of the bronchial epithelium. *J Pathol.* 1993; 170: 169-172.

65- Hall PA, Levison DA, Woods AL, Yu CV, Kellock DB, et al. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization in paraffin

sections: An index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. *J Pathol* 1990;162:285-294.

66- Fontanini G, Macchiarini P, Pepe S, Ruggiero A, Hardin M, et al. The expression of proliferating cell nuclear antigen in paraffin sections of peripheral, node negative non small cell lung cancer. *Cancer* 1992;70:1520 - 1527.

67- Garcia RL, Coltrera MD, Gown AM. Analysis of proliferative grade using anti PCNA /Cyclin monoclonal antibodies in fixed, embedded tissues. *Am J Pathol* 1989;134: 733- 739.

68- Ebina M, Steinberg S, Mulshine JL, Linnolia RI. Relationship of p53 overexpression and up regulation of proliferating cell nuclear antigen with the clinical course of non small cell lung cancer. *Cancer Research* 1994;54:2496-2503.

69- Ishida T, Kaneko S, Akazava K, Tateishi M, et al. Proliferating cell nuclear antigen ekspresion and argyrophilic nucleolar organizer regions as factors influencing prognosis of surgically treated lung cancer patients. *Cancer Research* 1993;53: 5000-5003.

70- Linden MD, Torres FX, Kubus J, Zarbo RJ. Clinical application of morphologic and immunocytochemical assessments of cell proliferation. *Am J Clin Pathol* 1992; 97 (Suppl) :S4-S13.

71- Ogawa J, Tsurumi T, Yamada S, Koide S, et al. Blood vessel invasion and expression of Sialyl Lewis and proliferating cell nuclear antigen in stage I non small cell lung cancer. *Cancer* 1994;73:1177-83.

72- Mardini G, Pai U, Chavez AM, Tomashefski JF. Endobronchial adenocarcinoma with endometrioid features and prominent neuroendocrine differentiation. *Cancer* 1994;73:1383-1389.

73- Guinee DG, Fishback NF, Koss MN, Abbondanzo SL, Travis WD. The spectrum of immunohistochemical staining of small-cell lung carcinoma in specimens from transbronchial and open-lung biopsies. *Am J Clin Pathol* 1994;102:406-414.

74- Carles J, Rosell R, Ariza A, et al. Neuroendocrine differentiation as a prognostic factor in non small cell lung cancer. *Lung Cancer* 1993; 10(3-4):209-219.

75- Soler FBS, Cras P, Gheuens J, Lowenthal A. Human gamma gamma-enolase :two-site immunoradiometric assay with a single monoclonal antibody. *J Neurochem* 1987 ; 48: 22-28.

76- Perentes E, Rubinstein LJ. Recent applications of immunoperoxidase histochemistry in human neuro-oncology . An update . *Arch Pathol Lab Med* 1987; 111: 796-812.

77- Tötsch M, Müller LC, Hittmair A, Öfner D, Gibbs AL, et al. Immunohistochemical demonstration of chromogranin A and B in neuroendocrine tumors of the lung. Hum Pathol 1992;23:312-316.

78- Helman LJ, Gazdar AF, Park J-G, Cohen PS, et al. Chromogranin A expression in normal and malignant human tissues. J Clin Invest 1988;82:686-690.

79- Dranoff G, Bigner DD. A word of caution in the use of neuron-specific enolase expression in the tumor diagnosis. Arch Pathol Lab Med 1984;108:535.

80- Sundaresan V, Reeve JG, Stennig S, Stewart S, Bleehen NM. Neuroendocrine differentiation and clinical behaviour in non-small cell lung tumors. Br J Cancer 1991; 64: 333-338.

81- Kerr JFR, Winreford CM, Harmon BV. Apoptosis. Cancer 1994; 73:2013-2026.

82- Takahashi T, Carbone D, Takahashi T, Nau MM, et al. Wild-type but not mutant p 53 supresses the growth of human lung cancer cells bearing multiple genetic lesions. Cancer Resarch 1992;52:2340-2343.

83- Lohmann D, Putz B, Reich U, Bohm J, et al. Mutational spectrum of the p53 gene in human small-cell lung cancer and relationship to clinicopathological data. 1993;142(3):907-915.

84- Barbareschi M, Girlando S, Mauri FA, Arrigoni G, et al. Tumor supressor gene products, proliferation and differentiation markers in lung neuroendocrine neoplasms. J Pathol 1992;166:343-350.

85- Lee KJ, Lee MS, Kim JO, Kim SY. A comparative study on aberations of chromosome 17 and proliferating cell fraction in lung cancer. J Korean Med Sci. 1993;8(4):271-280.

86- Fontanini G, Bigini D, Vignati S, et al. P53 expression in non small cell lung cancer clinical and biological correlations. Anticancer Res 1993;13 (3):737-42.

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**