

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

PRİMER VE SEKONDER AKCIĞER ADENO KANSER
VAKALARINDA; ALKALEN FOSFATAZ, SİTOKERATİN 7, SİTOKERATİN 8
İMMÜNOSİTOKİMYASAL BULGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZLEM TEMELLİ

TEMMUZ-2006

ÖZET

PRİMER VE SEKONDER AKCİĞER ADENO KANSER VAKALARINDA; ALKALEN FOSFATAZ, SİTOKERATİN 7, SİTOKERATİN 8 İMMÜNOSİTOKİMYASAL BULGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

TEMELLİ, Özlem

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Yard. Doç. Dr. Serpil Oğuztüzün

Temmuz 2006, 68 sayfa

Primer ve sekonder akciğer adeno kanserini teşhisinde, sitokeratin 7, sitokeratin 8 ve alkalen fosfatazın immünohistokimyasal bulguları değerlendirildi. Sitolojik olarak akciğer adeno kanseri teşhisi konulmuş 231 vakada alkalen fosfataz pozitif boyanma; primer adeno kanserde % 75.48, sekonder adeno kanserde % 74.19, sitokeratin 7 pozitif boyanma; primer adeno kanserde % 71.52, sekonder adeno kanserde % 70.58, sitokeratin 8 pozitif boyanma; primer adeno kanserde % 75.00, sekonder adeno kanserde % 72.91 tespit edildi. Bu sonuçlar alkalen fosfataz, sitokeratin 7 ve sitokeratin 8'in, primer ve sekonder akciğer adeno kanserinin teşhisinde etkili olduğunu gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Alkalen fosfataz, sitokeratin 7, sitokeratin 8, akciğer adeno kanser, immünohistokimya

ABSTRACT

IMMUNOCYTOCHEMICAL EVALUATION OF CYTOKERATIN 7, CYTOKERATIN 8 AND ALKALINE PHOSPHATASE IN THE PRIMARY AND SECONDARY LUNG ADENOCARCINOMAS CYTOLOGIC SPECIMENS

TEMELLİ, Özlem

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M.Sc. Thesis

Supervisor: Asist. Prof. Dr. Serpil Oğuztüzün

July 2006, 68 pages

The immunocytochemical staining results of cytokeratin 7 and cytokeratin 8 and alkaline phosphatase were evaluated in the diagnosis of the primary and secondary lung adenocarcinomas. In 231 lung adenocarcinoma patients, it was found that alkaline phosphatase positive staining was 75.48% in primary adenocarcinomas and 74.19% in secondary adenocarcinomas; cytokeratin7 positive staining was 71.52% in primary adenocarcinomas and 70.58% in secondary adenocarcinomas; cytokeratin 8 positive staining was 75% in primary adenocarcinomas and 72.94% in secondary adenocarcinomas. The results showed that alkaline phosphatase, cytokeratin7, cytokeratin 8 were useful in the diagnosis of primary and secondary lung adenocarcinoma.

Key Words: alkaline phosphatase, cytokeratin 7, cytokeratin 8, lung adenocarcinomas, immunocytochemistry

TEŞEKKÜR

Tez alıŐma konusunu belirleyerek, gerçekleŐtirilmesinde yardımlarını ve desteğini daima sürdüren tez yöneticim, Yrd.Doç.Dr. Sayın Serpil OğUZTÜZÜN'e, çalıŐmamda kullanılan numuneleri sağlayan ve laboratuvar çalıŐmalarımın gerçekleŐmesinde büyük katkısı olan, akciğer sitolojik numunelerimizin teŐhislerini yapan Hannover Sitoloji Enstitüsü baŐkanı Prof. Dr. Ziya ATAY'a ve tez çalıŐmalarım boyunca yardımını esirgemeyen eŐim Murat TEMELLİ'ye teŐekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Akciğer Kanseri.....	4
1.1.1. Akciğerlerin Yapısı.....	4
1.1.2. Akciğer Kanseri Etyolojisi.....	6
1.1.3. Akciğer Karsinomlarının Evrelendirilmesi.....	10
1.1.4. Akciğer Kanseri Genetiği.....	11
1.1.5. Akciğer Kanseri Sitolojisi.....	13
1.2. Akciğer Karsinomlarının Sınıflandırılması.....	16
1.2.1. Yassı Epitel Hücreli (Epidermoid) Karsinom.....	17
1.2.2. Küçük Hücreli Karsinom.....	18
1.2.3. Büyük Hücreli Karsinom.....	19
1.2.4. Adenokarsinom.....	19
1.3. Tümör Belirleyiciler.....	21
1.3.1. Keratinler	21
1.3.1.1 Sitokeratin 7.....	22

1.3.1.2. Sitokeratin 8.....	23
1.3.2. Alkalen Fosfataz.....	23
2. MATERYAL VE YÖNTEM	28
2.1. Materyal	28
2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	29
2.1.1.1. Solüsyonların Hazırlanışı.....	30
2.1.2. Kullanılan Cihazlar.....	30
2.2. Yöntem.....	31
2.2.1. Materyal Kazanımı.....	31
2.2.2. Materyal Hazırlanışı.....	31
2.2.2.1. PAP Boyası Prosedürü.....	32
2.2.2.2. Gimza Boyası Prosedürü	33
2.2.3. Alkalen Fosfataz Boyama Prosedürü	33
2.2.4. Sitokeratin 7 ve Sitokeratin 8 Boyama Prosedürü	34
2.2.5. Mikroskopik İnceleme	35
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	36
3.1. Normal Akciğer Sitolojisi.....	36
3.2. Akciğer Adeno Kanser Sitolojisi.....	43
3.2.1. Primer Akciğer Adeno Kanser Sitolojisi	44
3.2.2. Sekonder(metastaz) Akciğer Adeno Kanser Sitolojisi....	48
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	55
KAYNAKLAR.....	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

3.1. Normal Akciğer Epitel Hücreleri (Balgam, x600- PAP).....	36
a.b. Silli Silindirik Hücreler c.d. Atipik Silli Silindirik Hücreler	
3.2. Normal Akciğer Epitel Hücreleri (Bronş, x600- PAP)	37
a.b. Bazal Hücreler c. Kübik Epitel Hücreleri d. İntermedier EpitelHücreler	
3.3. Normal Akciğer Epitel Hücreleri (Bronş, x600- PAP)	38
a.b.c.d. Klara Hücreleri	
3.4. Normal Akciğer Epitel Hücreleri (Bronş, x600-Gimza)	39
a.b.c.d. Pnömosit Tip II Alveol Epitel Hücreler	
3.5. Normal Akciğer Epitel Hücreleri (Bronş, x600- PAP)	40
a.b.c.d. Alveolermakrofaj Hücreleri	
3.6. Normal Akciğer Epitel Hücreleri (Bronş, x600-CK 8).....	41
3.7. Normal Akciğer Epitel Hücreleri (Bronş, x600- CK 7)	42
3.8. Normal Akciğer Epitel Hücreleri (Bronş, x600- ALP)	43
3.9. Primer Akciğer Adeno Kanser Hücreleri (Bronş, x600-Gimza).....	44
3.10. Bronşialalveoler Kanser Hücreleri (Bronş, x600- PAP)	45
3.11. Primer Akciğer Adeno Kanser Hücreleri (Bronş, x600-ALP).....	46
3.12. Primer Akciğer Adeno Kanser Hücreleri (Bronş, x600-CK 7).....	46
3.13. Primer Akciğer Adeno Kanser Hücreleri (Bronş, x600-CK 8).....	47
3.14. Sekonder Adeno Kanser Hücreleri (Plevra, x600-ALP).....	49
3.15. Sekonder Adeno Kanser Hücreleri (Plevra, x600-CK 7)	50
3.16. Sekonder Adeno Kanser Hücreleri (Plevra, x600-CK 8)	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE

2.1. Akciğer adeno kanserli hastaların yaşa göre dağılımı.....	28
2.2. Akciğer adeno kanserli hastaların cinsiyete göre dağılımı.....	29
3.1. Akciğer adeno kanser hücrelerinin alkalen fosfataz ile boyama sonuçları.....	52
3.2. Akciğer adeno kanser hücrelerinin sitokeratin 7 ile boyama sonuçları ..	53
3.3. Akciğer adeno kanser hücrelerinin sitokeratin 8 ile boyama sonuçları..	54

1.GİRİŞ

Kanser, günümüzde en önemli sağlık sorunlarından birisi olmakla beraber; sık görölmesi ve ölüm oranının yüksek olması nedeniyle de bir insanlık sorunudur. Kanser, canlılığın ortaya çıkışından günümüze kadar içimizde taşınan bir düşman olarak tanımlanabilir. Çok eskiden beri hücre büyümesini denetleyen mekanizmalardaki bozukluktan kaynaklandığı bilinmesine karşın, moleküler nedenleri son yıllarda yapılan çalışmalarla ortaya çıkarılabilmektedir. Özellikle gen düzeyindeki teknolojik gelişmeler, kanser oluşumunun altında yatan sınırların çözülmesini sağlamıştır.

Sağlık kuruluşlarından yararlanma olanaklarının gelişmesi ve tanı yöntemlerinin artması ile her yıl daha çok kanser teşhis edilmektedir. Ayrıca enfeksiyon hastalıklarının kontrol altına alınması, diğer hastalıklara karşı etkin tedavi yöntemlerinin kullanıma girmesi, yaşam standartlarının yükselmesi ile ortalama yaşam süresinin uzaması, buna bağlı olarak yaşlı nüfusun artması, toplumun bilgi seviyesinin yükselmesi ve kanser tedavisindeki gelişmeler sebebi ile daha çok hastanın hastaneye gitmesi, gelişen teknoloji ile çevresel karsinojenlere maruziyetin artışı kanser sıklığının etkenleridir.

Kansere bağlı ölümlerin önemli bir bölümü akciğer kanserlerine bağlı olarak meydana gelmektedir. Akciğer kanseri, son yıllarda tüm dünyada en sık tanısı konan ve hem kadınlarda hem erkeklerde en sık mortaliteye sebep olan kanser tipidir⁽¹⁾. Tüm dünyada her yıl bir milyon kişi akciğer kanseri nedeniyle ölmektedir⁽²⁾. Dünyada insidans (dünya toplamının %12.5'i) ve

mortalite (dünya toplamının 17.8'i) açısından ilk sırada gelen akciğer kanserinin insidansı erkeklerde (yüz binde 11.1) daha yüksektir⁽³⁾. 1990'da erkek vakaların %86'sının, kadın vakaların ise %49'unun sigaraya bağlı olduğu tahmin edilmiştir. Uzun süre sigara içme geçmişi olan ülke ve bölgelerde erkek hastalardaki akciğer kanserinin %90'ının sigara ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Hücrelerarası bağlantıların zayıflaması malignite kriteri olarak kabul edilmektedir. Bu durum diskohezyon olarak adlandırılır. Benign hücreler arasındaki bağlantılar, malign hücreler arasındaki bağlantılardan çok daha güçlüdür. Diskoheziv hücreler aspirasyon yaymalarında gevşek tabakalanmalar ve izole hücreler şeklinde kendilerini gösterirler. Hücresel diskohezyon akciğer malignitelerinin tanısında sekonder bir tanısal değer taşır. Diğer malignite kriterleri ile kombine edildiğinde malignite tanısında yararlıdır⁽⁴⁾.

Kanser hücrelerinde kromatinin yapısal düzeninde belirgin bozukluklar vardır. Bu bozukluklar sitolojide kromatin topaklaşması şeklinde gözlenebilir. Ayrıca genellikle rastlanan koyu hematoksilenofilik boyanma, yani hiperkromazi DNA ilişkili proteinin dolayısı ile DNA miktarının artmış olduğunu gösterir⁽⁵⁾.

Kanser hücrelerinde çekirdek genellikle büyük, düzensiz şekilli ve köşelidir. Çekirdek irileşmesi ve düzensiz şekil, hücrenin protein üretiminin arttığı durumlarda da karşılaşılan bir bulgudur. Ancak çekirdek sınırlarının köşeli ve keskin açılı olması malignite lehine en önemli bulgudur⁽⁵⁾.

Kanser hücrelerinin nükleer membranlarında ise belirgin şekil düzensizliklerine rastlanır. Işık mikroskopunda nükleer membranın kendisi gözlemlenemediğinden, izlenen şekil düzensizlikleri aslında kromatin ağının dış yüzeyindeki düzensizliklerdir⁽⁵⁾.

İlerlemiş kanserler çok değişken bir sitolojik görüntü sergileyebilirler. Kanser hücreleri genellikle büyüklük ve şekil olarak normal hücrelerden farklıdır. Çekirdek-sitoplazma oranı genellikle artmıştır. Anormal boyda sıklıkla dev şekilde ve sayıda çekirdek içeren hücreler bir arada bulunabilirler. Mitozdaki hücre sayısı fazladır ve çeşitli mitoz anomalileri gözlenir^(6,7).

Sitolojik incelemelerde hücresel değişiklikleri 4 ana grupta toplamak mümkündür^(8,9).

1. Kanser lehine hiçbir değişikliğin bulunmadığı hücresel değişiklikler.
2. Diskaryotik hücreler: Aralarında hafif ve orta derecede şekil ve büyüklük farkı vardır. Önemli çekirdek değişiklikleri bulunur. Çekirdek-sitoplazma oranı büyümüştür. Çekirdek zarı boyunca kromatin partikülleri kitleler halinde birikmiştir.
3. Atipik hücre değişiklikleri: Hücreler arasındaki büyüklük ve şekil farkı daha belirgindir. Kromatin dağılımı daha yoğundur ve çekirdek zarı çevresinde toplanmıştır. Çekirdek-sitoplazma oranı daha da büyür. Çekirdek normalden ya büyüktür; ya da çok küçüktür. Çok çekirdekli hücrelere ve fagositoza rastlanılabilir. Dökülen hücre sayısı daha da artmıştır.
4. Kanserinin kesin olduğu tipinin tayin edilebildiği hücresel değişiklikler: Hücreler plemorfil ve atipik karakterdedir. Tümörün tipine göre tek tek

veya gevşek topluluklar halinde yer alırlar. Kromatin dağılımı yanı sıra çekirdekleri bulunabilir. Bunlar büyük ve eozinofilik oldukları gibi birden fazla olabilirler. Çekirdek - sitoplazma oranı çok ileri derecede artmıştır^(8,10-11).

1.1. Akciğer Kanseri

Akciğer kanseri, akciğer dokusunda gelişen, insanlarda en sık görülen ve en çok ölüme neden olan primer kanserdir. Son 30-40 yıl içerisinde kaydettiği hızlı artıştan dolayı primer akciğer kanseri günümüzde çok önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Bir asır evvel son derece nadir görülen bu hastalık bu süre içinde 10-15 misli artış göstermektedir. Bu artışın nedenleri arasında kanser tanısı koymak için geliştirilen araçların mükemmelleşmesi ve ortalama ömrün artması düşünülebilir. İlk kez 1800'lerin ortalarında tanımlanmıştır.1879 yılına kadar Almanya ve Çekoslovakya'daki maden işçilerinde görülen kronik öksürüğün, balgamın, nefes darlığı ve göğüs ağrısının sebebi bulunamıyordu. Bu tarihte hastalığın malign bir tümör olduğunu tanımlanmıştır.

1.1.1. Akciğerin Yapısı

Akciğer kanatları şekil olarak konik bir yapıya sahiptir. Bu kanatlar en önemli nefes kası olan diyaframın üst kubbesine temas eder. Yukarı uçları köprücük kemiği hizasının biraz üzerindedir. Akciğer kanatları akciğer loplarına ayrılır. Her bir lop bir bronşiyal dal aracılığıyla beslenir. Sağ kanat

üst, orta ve alt lop olarak üçe ayrılır. Akciğerin sol kanadı ise, kalbin solda bulunması sebebiyle daha küçük olup iki lopa ayrılır. Akciğer loplarının her biri on adet akciğer segmanı denilen küçük birimlere ayrılır. Bunların her biri bir bronşiyal dal ve damarlar aracılığıyla beslenir. Bronşiyallerin duvarında kıkırdak ve bez bulunmaz. Epitel tek katlı prizmatik titretilmiş tüylüdür. Bronşiyaller dallanıp incelmeyi sürdürürler. Solunum sisteminin gaz değişimi yapmaksızın sadece iletme yarayan, en küçük çaplı son dallarına terminal bronşiyaller denir. Terminal bronşiyallerden itibaren epitel tek katlı yassı veya kübik olmaya başlar. Epitelin apikal yüzünde titretilmiş tüyler görülebilir. Fakat yer yer silsileli epitel hücrelerine rastlanır⁽¹²⁾.

Her terminal bronş kısa ve ince duvarlı bir, iki veya daha çok sayıda dallarla devam eder. Bu dallar respirator bronşiyaller adını alır. Tek katlı kübik epitel ile döşelidir. Epitel silsileli, yassı, kübik hücrelerden oluşur. Silsileli hücreler salgı hücresi görünümündedir. Bunlara Klara hücreleri denir⁽¹²⁾.

Akciğerlerin dış yüzeyi plevra denilen, ince nemli bir zar ile kaplıdır. Akciğer üst yüzeyi ile plevra ile kaplı göğüs duvarı arasında, içi biraz sıvı ile dolu plevra aralığı denilen ince bir yarık bulunur. Bu oluşum aracılığıyla nefes alma esnasında akciğer ve göğüs duvarı birbirlerini itekleyebilir. Plevra aralığındaki sıvı, herhangi bir iltihap halinde veya plevrada tümör oluşması halinde artabilir.

Akciğerlerde sinir ve kan damarlarının yanı sıra lenf damarları da bulunmaktadır. Bunlar dokuların sıvısını ve her türlü artık maddeyi içlerine alabilirler. Dışarı atan lenf damarları akciğerin girişinden nefes borusu etrafında yükselir ve nihayet kan damarları sistemiyle birleşir. Kansere

hastalıklarında lenf sıvısıyla kanser hücreleri de taşınabilir. Bunlar çoğu hallerde arada mevcut lenf düğümlerinde toplanır. Lenf düğümleri akciğer girişi ile akciğer kanatları arasındaki mediastinum alanında yer alır. Normal olarak lenf düğümleri bir bezelye büyüklüğünde olup tümör hastalıklarında, herhangi bir iltihap halinde de büyüyebilirler.

1.1.2. Akciğer Kanseri Etyolojisi

Akciğer kanseri bu yüzyılın başlarına kadar hala nadir olarak görülen bir kanser türü olarak kabul edilmekteydi. Oysa bugün Amerika Birleşik Devletleri'nde kansere bağlı ölümler içinde hem erkeklerde hem de kadınlarda birinci sırayı almaktadır⁽¹³⁾. Ülkemizde ise akciğer kanserinin erkeklerde birinci, kadınlarda ise meme ve ürogenital sistem kanserlerinden sonra üçüncü sıradaki en sık malign tümör olduğu rapor edilmiştir⁽¹⁴⁾. Akciğer kanseri özellikle 50 yaşın üzerinde görülür. Önceleri erkeklerde daha sık görülmekteyken, sigara kullanımının yaygınlaştığı toplumlarda kadınlarda görülme oranı da yükselmiştir.

Akciğerler; dış ortama açık ve hava ile devamlı irtibatlı olduklarından çok sayıda kimyasal, bakteriyolojik ve fiziksel ajanlarla karşı karşıya kalmaktadırlar. Bu nedenle primer akciğer kanseri etyolojisinde en önemli sırayı (%96) sigara içimi ve (%17) pasif içicilik almıştır. Sigara dışında kalan nedenler arasında hava kirliliği, mesleki karşılaşmalar, radyasyon, geçirilmiş akciğer hastalıkları, diyet faktörleri, viral enfeksiyonlar, genetik faktörler, immünolojik faktörler sayılabilir^(15,16).

Dünyanın her yerinde yapılan çok çeşitli çalışmalar, sigara içimi ile akciğer kanseri arasında bir bağlantı olduğunu göstermiştir^(13,17-21). Akciğer kanserlerinin %85-90'ı sigaraya bağlıdır. Sigara alışkanlığı ve çevresel faktörlerin değişmesi akciğer kanseri olma riskini belirgin ölçüde desteklemiştir. Akciğer kanserlerinin %30-40'ı adenokanser, %30'u yassı epitel kanseri, %20-25'i küçük hücreli kanser ve %10-20'sini büyük hücreli kanser oluşturur⁽²²⁾. Tanı konulduktan sonra akciğer kanser tiplerini teşhis etmek çok zor değildir^(23,24).

Sigaranın kansere yol açabileceği, ilk kez 1761 yılında John Hill adlı araştırmacı tarafından saptanmıştır. Hill, enfiye olarak buruna çekilen tütün tozunun burunda polip oluşturduğunu bulmuştur⁽²⁵⁾. Bu konuda günümüze kadar yapılan birçok araştırma, sigara içiminin, akciğer kanseri riskini sigara içmeyenlere göre 15-20 kat arttırdığını göstermektedir. Sigarayı bıraktıktan 15 yıl sonra bile eski sigara içicisinin akciğer kanseri geliştirme riski, hiç sigara içmemiş bir bireye göre 1.5-4 kat fazla olarak kalmaktadır. Akciğer kanserinin değişik histolojik tipleri, sigara içimiyle değişik derecede ilintili görünmektedir. Küçük hücreli akciğer kanseri ve skuamöz hücreli akciğer kanseri hastalarının %95'ten fazlası aktif yada eski sigara içicileri iken, adenokarsinomlu hastalarda bu oran %80'dir. Adenokarsinom, sigara içmeyenlerde en sık rastlanan akciğer kanseridir^(13,20).

Sigara içiminin, tümör insidensinde belirgin bir artmaya neden olması yanında, silia kaybı, epitel hiper plazisi, metaplazi ve atipi prevalansında artmaya yol açar^(11,26-27). Bu sayılan değişikliklerin karsinom prekürsört oldukları düşünülmektedir⁽²⁶⁾.

Doğada bulunan radyoaktif bir gaz olan radon da akciğer kanserinin bir başka nedeni olarak kabul edilmektedir. Yine radona maruz kalan sigara içicileri daha büyük risk altındadır^(13,20). Ayrıca supradiafragmatik radyoterapi uygulanan hastalarda ve röntgen laboratuvarı teknisyenlerinde akciğer kanseri oranı artmaktadır^(28,29).

Endüstride kullanılan doğal bir mineral grubu olan asbest de akciğer kanseri nedeni olarak görülmektedir⁽¹³⁾. Asbestoz nedeni ile oluşmuş ilk akciğer kanseri vakası 1935 yılında Lynch & Smith⁽³⁰⁾ tarafından bildirilmiştir. Seidman bir aydan daha kısa bir süre asbeste maruz kalmanın bile akciğer kanserine yakalanma insidensini 2 kat artırdığı saptanmıştır⁽³¹⁾.

Organik ve inorganik maddeler ile ilgili işlerde çalışanlarda akciğer kanserine yakalanma riski artmaktadır. Özellikle asbestin kullanıldığı; gemi yapımı, yapı malzemesi, çanak-çömlek yapımı ve badana gibi işlerde uğraşanlarda akciğer kanseri daha fazla görülür. Arsenik, nikel, krom bileşikleri, hardal gazı ve vinil klorür gibi maddelerde başlıca karsinojenlerdir.

Şehirlerde ve sanayileşmiş bölgelerde yaşayanlarda akciğer kanseri riski, kırsal kesimde yaşayanlara oranla daha fazla bulunmuştur. Trafik yoğunluğuna bağlı olarak havada egzoz gazı artması ve ısınmak için kullanılan maddelerin yanması sonucu havaya karışan gazlar bu oranı artıran etmenlerdendir^(29,32).

Geçirilmiş akciğer hastalıklarının da; akciğer kanserinin oluşmasında önemli rolü olduğu belirtilmektedir. İyileşirken akciğer ve bronşlarda sekel bırakan tüberküloz, bronşektazi, kronik apse, bronşta uzun süre kalan

yabancı cisimlerin oluşturduğu organize doku ve fibrozis olgularında kansere yakalanma riski artmaktadır^(29,32-33).

Vitamin A ve türevleri, normalde epitel dokusunda koruma görevi yapmaktadırlar. A vitamini eksikliğinde bronşiyal epitel de metaplazi ve kanser gelişme riskinde artma olmaktadır^(28,29). Deney hayvanları ve kültür hücreleri üzerinde yapılan araştırmalarda A vitamini verilerek metaplazinin düzeldiği saptanmıştır⁽²⁹⁾.

Çeşitli virüslerin akciğer kanserine neden olduğu hakkında deneysel çalışmalar yapılmaktadır. Retrovirüse bağlı koyun hastalığı ile bronkoalveoler karsinoma arasında morfolojik benzerlik saptanmıştır. Ayrıca *human papilloma* virüsünün laringo-trakeal papillomalar oluşturduğu ve bunun yassı hücreli akciğer kanserine de neden olabileceği ileri sürülmektedir⁽²⁹⁾.

Akciğer kanserli olgularda yapılan genetik çalışmalar, kanserli olguların genlerinde mutasyona bağlı değişiklikler olduğunu göstermiştir. Genetik olarak kanser oluşumunda proto onkogenler, tümör süpresör genler, DNA tamir genleri grubu rol oynamaktadır^(28,29).

Fiziksel ve kimyasal etkenlerle oluşan nokta mutasyonları, hücreleri kanser onkogenlerine dönüştürürler. Bunlar da hücre büyümesine ve farklılaşmasına neden olurlar^(28,29).

Tümör süpresör genler, protoonkogenlerin tersine tümör büyümesini ve hücre bölünmesini azaltan genlerdir. Akciğer kanserinde malign hücrelerin bölünmesini durduran ve tümörü baskılayan p-53 genidir. Bu genin defektinde çeşitli organlarda tümörler, lösemi ve akciğer kanserleri çok görülür⁽²⁹⁾.

DNA tamir genlerinde oluşan mutasyonlar, diğer genlerde mutasyon oluşmasını artırır ve bu yol ile kanser oluşumuna zemin hazırlarlar^(28,29).

Akciğer kanseri ilk devrelerde ancak ender hallerde şikayete yol açar. Bu nedenle küçük tümörlerin hemen hemen hepsi tesadüfen teşhis edilirler. Örneğin göğüs kafesinin diğer nedenlerle röntgeninin alınması gibi. Yeni başlayan ve haftalar boyu süren öksürük veya mevcut kronik bir öksürüğün ağırlaşması, hastayı doktora gitmeye yönelten en sık şikayetlerdir. Çoğu hallerde hastalar kanlı veya kansız balgamdan, ağrılardan, ateşten, nefes darlığından, yorgunluktan veya kilo kaybetmekten şikayetçilerdir. Hastalık belirtileri maalesef o kadar çok halde yorumlanabilir türden ki, çoğu zaman doğru teşhis edilememektedir.

Akciğer kanserinin tedavisinde en güvenilir yol ameliyattır. Ancak sadece %20 akciğer tümörlü vakada ameliyat olumlu sonuç vermiştir⁽³⁴⁾.

Akciğer dokusu tüm kanserlerin metastazı açısından ortak bir yerdir. Bu sebeple klinikte tespit edilmiş kanserlerin primer, sekonder oluşunun tespiti hastalığın tedavisi açısından çok önemlidir. Çünkü tedavi ve hastalığın seyri buna bağlı olarak değişmektedir⁽³⁵⁾.

1.1.3.Akciğer Karsinomlarının Evrelendirilmesi

Akciğer karsinomlarının evrelendirilmesi, TNM (Tümör, Lenf düğümü, Metastaz) sistemine göre yapılır. Genel olarak, küçük ve metastaz yapmamış bir tümör düşük evreli, büyük ve metastazları olan bir tümör ileri evrelidir. Düşük evreli olgularda uygun tedavi ile tam iyileşme şansı vardır. Ancak

hastaların pek azı bu evrelerde saptanır. Evrelendirme ile ilgili kurallar şöyle özetlenebilir:

Evre1: Metastaz yoktur. Tümör 3 cm'den küçük çapta ve tümüyle akciğer parankimi ile çevrilidir. Visseral plevraya değen tümörler bile, karinadan en az 2 cm uzakta ise evre 1 kabul edilirler. Cerrahi tedaviden en çok yarar gören grup budur. Ancak bu gruba giren hasta sayısı çok azdır.

Evre 2: Yukarıdaki nitelikte bir tümör aynı taraf peribronşiyal veya hiler lenf düğümlerine metastaz yapmıştır. Cerrahi tedavi başarılı sonuç verebilir.

Evre 3: Çevreye (göğüs duvarı, diyafragma vb.) invaze veya karinaya çok yakın tümörler bu gruptadır. Cerrahi tedaviye aday sayılmazlar. Hastaların çoğu evre 3 grubundadır.

Evre 4: Uzak organ metastazı olan tümörlerdir. Bunların cerrahi tedaviden yarar görmeleri beklenemez.

1.1.4. Akciğer Kanseri Genetiği

Bütün diğer kanserlerde olduğu gibi, akciğer karsinogenezi de, birçok gendeki değişikliklerin işe karıştığı çok basamaklı bir süreçtir. Çeşitli genlerdeki özellikle de karsinojenlerin metabolizmaları ile ilgili genlerdeki kalıtsal polimorfizmler, çevreden gelen karsinojen etkilerle birlikte bireyin akciğer kanserine yatkınlığını belirtir. DNA tamiri, hücre büyümesi, sinyal iletimi ve hücre siklusu kontrolü ile ilgili genler, akciğer kanserinin gelişimi sırasında değişik aşamalarda hasara uğrayabilir. Onkogenlerin mutasyonel

aktivasyonu ve tümör süpresör genlerin inaktivasyonu ve ardından genomik instabilitenin artışı, akciğer karsinogenezindeki majör genetik olaylardır⁽³⁶⁾.

Akciğer kanserinin özellikle sık görüldüğü aileler vardır. Fakat bu ailelerle çalışılırken paylaşılan çevresel etkilerin (örneğin asbeste maruz kalma) ve benzer yaşam tarzlarının (örneğin sigara içimi), genetik yatkınlıktan ayırt edilmesine dikkat edilmelidir. Bununla birlikte, çevresel faktörlerin elimine edildiğinde, yine de akciğer kanserli hastaların akrabaları arasında akciğer kanseri riskinin normal popülasyona göre yüksek olduğu ortaya çıkmaktadır.

Akciğer kanserine yatkınlığın mendeliyen kalıtım şekli gösterdiğine dair kanıtlar vardır. Düzenli olarak sigara içen herkes akciğer kanserine yakalanmadığı için, eskiden beri akciğer kanserine genetik bir yatkınlığın ya da eğilimin söz konusu olabileceği düşünülmekteydi. Gerçekten de sigara dumanında bulunan kimyasal karsinojenleri aktive eden enzimatik yollarla ilgili bazı genetik polimorfizmler olduğu bulunmuştur. Akciğer kanserli üyeleri olan 337 aileyi kapsayan bir çalışma, mendeliyen kodominant kalıtım şekli gösteren otozomal bir genin, erken yaşta akciğer kanserine yakalanma eğilimine yol açtığı düşünülmektedir⁽⁶⁾. Ayrıca protoonkogenler, tümör süpresör genler ve DNA tamiri ve hücre büyümesinde görev alan genlerdeki kalıtsal polimorfizmler de akciğer kanserine eğilimi etkileyebilir. Akciğer kanserine eğilim yaratan genlerin tanımlanması, akciğer kanseri riskinin daha da kesin olarak hesaplanmasına yardım edecektir⁽³⁶⁾.

1.1.5. Akciğer Kanseri Sitolojisi

Akciğer kanserlerinin sitolojik tanısında materyal elde etmek için balgam, bronskopsi, biyopsi ve bronşiyal lavaj, transbronşiyal ince iğne aspirasyonu, bronkoalveoler lavaj (BAL), transtorasik ince iğne aspirasyonu teknikleri kullanılır.

Akciğer lezyonlarının tanısında sitolojik yöntemler 1800'li yıllara dayanmaktadır. Ancak balgam sitolojisinden yaygın olarak kullanma 1930-1940'larda olmuştur. Solunum sistemi sitolojisinin geleneksel yöntemi kabul edilen balgam sitolojisi fiberoptik bronskopinin ve ince iğne aspirasyonu tekniklerinin gelişmesi ile önemini yavaş yavaş kaybetmektedir⁽³⁷⁾. Hatta balgam incelenmesinin tercih edilmesi gereken ilk diagnostik test olduğu konusunda tartışmalar sürmektedir^(38,39). Genelde santral lezyonların tanısında yararlanılan bu yöntemin periferik lezyonlardaki duyarlılığı santral lezyonlardan daha azdır^(37,40). Malignite tanısı olasılığı, makrofajlardan zengin derin bir öksürük ürünü olan balgamlardan daha yüksektir⁽⁴¹⁾.

Balgamın, epidermoid karsinomda erken teşhiste etkili olduğu gösterilmiştir⁽⁴²⁾. Bu etki, adenokarsinom ve büyük hücreli karsinom için çok azdır. Küçük hücreli karsinomda ise etkisizdir. Balgamda görülen hücreler spontan olarak bronş lümenine dökülen, bağlantıları gevşek ve birbirinden ayrılmış hücrelerdir. Tek balgam spesmeninde pozitiflik yüzde 40-60'tır. Spesmen sayısı beşe çıkarıldığında, pozitiflik yüzde 80'e çıkar⁽⁸⁾.

Biyopsi, endoskop aletinin ucundaki bir pens yardımıyla yapılır. Bunun anlamı bronş duvarlarının şüpheli yerlerinden doku örneklerinin alınmasıdır. Asıl akciğer dokusundan doku örneği alınması, bronş duvarlarından sokulan

bir iğne aracılığıyla gerçekleştirilir. Alınan doku örnekleri incecik kesitler halinde kesilir ve bir mikroskop altında kanserli hücreler içerip içermediği konusunda incelenir. Bu inceleme ile iyi huylu ve kötü huylu dokular saptanabilir. Şayet kanser olduğu anlaşılırsa tümör cinsinin kesin karakteristiği tespit edilir.

Adına bronşiyal lavaj denilen bronşların yıkanması metodu veya bronş duvarından sürterek, kazınarak alınan numuneler, mikroskobik inceleme amacıyla dokudan dökülmüş hücrelerin tek tek elde edilmelerini sağlar. Bu tür incelemeye sitolojik inceleme denir ve bu yöntemle dokuda mevcut kansere özgü değişiklikler tespit edilebilir. Hastaların yüzde 70'inden çoğunda alınan doku ve hücre örneklerine dayanarak bir teşhise ulaşmak mümkündür.

Bronkoalveoler lavaj ile alveoler hücreleri örneklemek mümkündür. İntersiyel akciğer hastalıkları, alveoler enfeksiyonlar, bronkoalveoler karsinom ve metastatik karsinomlar gibi periferik malignitelerin tanısında bu yöntemlerden yararlanılabilir^(43,44).

Akciğer kanseri şüphesi halinde en önemli diagnostik uygulama bronkoskopi metodudur. Bronskoskopinin anlamı, adına bronskoskop denilen nefes borusundan bronşlara ve dallarına sokulabilen ve o yörelerin görüntülenip incelenmesini sağlayan optik bir aletin kullanımı demektir. Modern bronskoskoplar esnek olup cam elyafı optiğine sahiptirler. Bunlarla birkaç milimetre çapındaki bronşiyal dalların içine girmek bile mümkündür. Şayet muayene zaten narkoz altında yapılmıyorsa, hastalara sakinleştirici bir ilaç verilir ve burun, boğaz, gırtlak ve büyük bronşların sümüksel zarları bir

sprey kullanılarak bölgesel uyuşturulur. Bronskoskop aleti ağızdan sokulur. Bazı özel hallerde, örneğin bir tümör bronşları daraltıyorsa, bükülmeyen bronskoskop kullanılır. Bu takdirde muayene her zaman tam narkoz kullanılarak yapılır.

Bronskoskopik yöntem ile elde edilen sitolojik materyal endoskopi ekibi tarafından hazırlandığından özellikle fırçalama materyalinde kuruma artefaktı sıklıkla rastlanan bir bulgudur. Bronskoskopi sırasında alınan materyal üzerinde gerekli işlemlerin bir sitoteknisyen tarafından yapılması gerekir⁽³⁷⁾.

Diagnostik amaçlı transtorasik ince iğne aspirasyonu ilk kez 1893'te Leyden tarafından enfeksiyon ajanı arama amaçlı, 1886'da Menetrier tarafından malign hücre belirlemek için denenmiştir⁽⁴⁾. Yirminci yüzyılın ilk yarısında sporadik bildirimler olsa da bu yöntemin yaygın olarak neoplastik, enfeksiyöz ve inflamatuvar pulmoner hastalıklarda kullanımı ancak radyolojik görüntüleme yöntemlerinin gelişimi ile başlamıştır^(4,45). Akciğer kitlelerinin ince iğne aspirasyon sitolojisinde modern çağ 1960'larda İsveçli araştırmacılar tarafından başlatılmıştır. Bunda floroskopik görüntüleme yöntemlerinin gelişimi ile periferik torasik lezyonların daha iyi lokalize edilebilmesi ve daha ince iğnelerin kullanılması sayesinde komplikasyon riskinin azaltılmasının payı büyüktür⁽³⁷⁾.

Akciğerin dış kesimlerinde yer alan şüpheli bir bölgeye bronkoskop ile ulaşılması mümkün değilse, ince bir iğne göğüs duvarına dışarıdan oraya girilerek bir biyopsi yapılır. Bilgisayar tomografisi kontrolü altında uzun ve ince bir iğne şüpheli bölgeye sokulur ve biraz doku emilir.

Akciğer kitlelerinde, sitolojik malignite tanıları arasında transtorasik ince iğne aspirasyonu oranı %50 oranı ile başta giderken, bronkoalveoler lavajın %47, balgamın ise %3'lük bir orana sahip olduğu belirtilmektedir⁽⁴⁶⁾.

Çoğu seride bu yöntemin güvenilirliği %80-95 arasında değişmektedir⁽⁴⁵⁾. Hatta ince iğne aspirasyonunun biyopsiye üstünlüğü savunulmaktadır⁽⁴⁷⁾. Sensivitesi %71-97, spesifitesi %97-100, yanlış pozitif oranları %1-3, yanlış negatif oranları %5-22 ve yetersiz materyal oranları %4-18 olarak belirtilmektedir⁽⁴⁸⁾.

1.2. Akciğer Karsinomlarının Sınıflandırılması

Diğer malignitelerdeki hafif artışa yada hiç artış olmamasına karşın akciğer kanserlerinde son 50 yıldır belirgin bir artış dikkati çekmektedir. Bu artış yalnızca radyolojik, bronkoskopik ve sitogenetik tekniklerdeki ilerlemelere bağlanamayacak sayıdadır. Amerika Birleşik Devletlerinde son 35 yıl içinde erkeklerde akciğer karsinomlarından ölüm oranında 15 kat, kadınlarda ise 2 kat artış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu yüzyılın başlarında sigara alışkanlığının giderek artışı, seks insidansını kabaca eşit hale getirmiştir. Yaş sınırı genellikle 40-70 olup, ortalama 60 yaş civarında görülmektedir. Bir grup araştırmacı sigara içimi ve hücrel anormallikler arasında kuvvetli ilişki olduğunu göstermiştir⁽⁴⁹⁾. Buna göre sigara içmeyen grupta bronşial sistem %0.9 atipik hücreye sahipken, sigara içenlerde bu sayı %96.7 'dir. Sigara içenlerde silli hücrelerin kaybı, bazal hücre hiperplazisi, yassı epitel metaplazisi ve atrofisi bulunmaktadır. Sigaranın yanında yaş ve

şehir yaşıantısı da etkili faktörlerdir. Ayrıca auranyum, kobalt, kromat, nikel, arsenik, demir tozu ve asbest ile çalışan iş yerlerinde akciğer kanseri riski belirgin oranda yükselmektedir⁽⁴⁹⁾.

Makroskopik olarak bronş tümörleri %60-70 oranında ana bronş yada karına civarına yerleşmektedir. Adenokarsinomlar ise 3/4 oranında periferik bulunmakta, buna karşın yassı epitel karsinomlarının ancak 1/3'ü ve küçük hücreli karsinomların da 1/5'i periferik bulunmaktadır. Bronş tümörleri önce mukoza yüzeyinde sert bir kalınlaşma şeklinde başlamakta, lümen içine ilerlerken bir yandan da çevre akciğer dokusuna yayılmaktadır. Daha sonra tümör, büyümüş hiler lenf nodüllerindeki metastazları ile karışarak büyük kitleler oluşturmakta özellikle yassı hücreli karsinom hızla büyümekte ve bunun sonucunda nekroz, kanama gibi sekonder değişiklikler sıklıkla görülmektedir. Fakat makroskopik görüntüye bakarak tümör tipini saptamak genellikle olası değildir. Akciğer karsinomlarının histopatolojik özelliklerine göre makroskopik olarak sınıflandırılması şu şekildedir⁽⁵⁰⁾:

1. Yassı Epitel Hücreli (Epidermoid) Karsinom
2. Küçük Hücreli Karsinom
3. Büyük Hücreli Karsinom
4. Adenokarsinom

1.2.1. Yassı Epitel Hücreli (Epidermoid) Karsinom

En sık gözlenen karsinom tipi olup %80'ni erkeklerde görülür. Tüm akciğer karsinomlarının % 35-50'si bu tiptedir⁽⁵¹⁾. Ülkemizde de en yaygın histolojik tiptir. Çoğunluğu segmental bronşun merkezinde yer alır ve bu

yüzden radyografide hiler veya perihiler kitleler halinde görülürler. Genellikle merkezde ve büyük bronşlarda bulunduğu için endoskopide rahatlıkla görülür. Bazı diğer tümör tiplerinden daha kolay bir şekilde tanı konulabilir. Mikroskopik olarak squamöz hücre tipinin teşhisi için yassı epitel hücrelerine özgü hücrelerarası bağlantıların ve keratin oluşumunun gözlenmesi gerekir.

Atipik malign hücre özelliğinde hücreler tespit edilir. Popanicolau ile boyamada genellikle stoplazma içerisinde parlak turuncu renkte retraktil, keskin sınırlı, keratin oluşumu görülür. Hücrenin çekirdeği görülmeyebilir. Çok atipik ve pleomorfik hücreler görülebilir^(52,53).

İğ şeklinde atipik hücreler, büyük atipik dev hücreleri ve atipik küçük hücreler bulunabilir. Çekirdekteki hiperkromazi önemli bir bulgudur. Hücreler çok defa tek tektir ve stoplazma çıkıntıları kaybolmuştur.

1.2.2. Küçük Hücreli Karsinom

Tüm akciğer karsinomlarının % 10-20'sini küçük hücreli karsinomlar oluşturur. Hastaların % 80'ni erkek olup bunların %85'inden fazlası da sigara içen olgulardır. Tümör genellikle akciğerin merkezinde lokalizasyon gösterir. Nadiren de periferde yerleşir. Genellikle solid tarzda büyüme gösterirler.

Mikroskopik olarak oval-yuvarlak, hiperkromatik çekirdekli, çekirdekçikleri belirsiz, genellikle çok dar sitoplazmalı, lenfositten daha büyük uniform küçük hücrelerin oluşturduğu düzensiz adacıklar tarzında görülür. Çekirdek sınırlarında düzensizlikler görülür. Arada bağ dokusundan oluşan

stroma ile birbirinden ayrılırlar. Bu tümörlerin özelliği, erken metastaz yapmaları ve çabuk yayılma göstermeleridir.

1.2.3. Büyük Hücreli Karsinom

Bu karsinomda, tümör hücreleri diğer tiplerle ve özellikle küçük hücreli ile karşılaştırıldığında daha büyüktür. Büyük pleomorfik hücreler tek tek yada sinsiye gruplar halinde gözlenir. Tümör hücrelerinde sitoplazma miktarı çeşitlilik gösterir. Bazı hücrelerde çekirdek- sitoplazma oranı belirgin şekilde artmış olup, oldukça dar bir sitoplazma gözlenirken, bazı tümör hücrelerinde de geniş sitoplazma yada çok sayıda çekirdek dikkati çeker. Nükleer boyutlarda ve şekilde belirgin çeşitlilik vardır. Kromatin yapısında ileri derecede düzensizlik anormal nükleer sınırlar, multiplbüyük düzensiz şekilli çekirdekler belirgin özelliktedir. Kromatin ince yada kaba granüler ve düzensiz dağılımlıdır. Sitoplazma bazofiliktir^(5,37,45). Keratinizasyon hemen hemen hiç görülmez. Çoğu zaman hücreler tek tek görülür. Genellikle soluk, eozinofilik ve bazofiliktir. Çekirdekleri iri ve iyi sınırlıdır. Bir yada birden çok çekirdekçiği olabilir⁽⁴⁹⁾.

1.2.4. Adenokarsinom

Sıklıkla bronşiallerden köken alır. Akciğer karsinomlarının %25 kadarını oluşturur. Kadınlarda görülen tüm akciğer neoplazmalarının yaklaşık yarısı adenokarsinomdur. Sigara ile daha az ilgilidir. Metaplaziye bağlı değildir ve her yerde görülebilir. Fakat risk altındaki alanın daha geniş olması

nedeniyle daha çok periferde görülür. Makroskobik olarak, kötü sınırlanmış gri yeşilimsi lezyonlar şeklindedir. Çok sayıda iyi sınırlı, üst üste gelmiş, malign atipik hücre toplulukları şeklinde bulunur. Bu topluluklar; top benzeri gruplar, papiller yapılar, asiller gruplar, daha az diferansiye tümörlerde sinsiyel gruplar halindedirler. İyi diferansiye adenokarsinomlarda kromatin ince granüler yapıda olup, çekirdek büyük, oval, yuvarlak şekillidir ve eozinofili gösterir. Sitoplazma homojen görünümünden vakuoler yapıya kadar geniş bir çeşitlilik gösterir. Diferansiyasyon azaldıkça, nükleer hiperkromazi, kromatin kabalaşması, nükleer sınırlarda düzensizlikler, hücresel pleomorfizm artışı gibi özellikler dikkati çekmeye başlar^(5,37-45). Çekirdeklerinde bir iki çekirdekçik ve orta derecede hiperkromazi görülür. İyi diferansiye şekillerde hücreler üniformdur⁽⁵³⁾. Bunlar oval şekilde , genellikle iri, vakuollü stoplazmalıdır. Çekirdeklerin bir kenarında çentik veya kıvrım bulunması oldukça tipiktir.

Adenokarsinomun bir alt tipide bronşiolalveoler karsinomdur. %5 oranında görülür. Terminal bronşiolalveoler bölgeden kaynaklanırlar. Akciğerin yapısını kullanarak, terminal hava boşluklarının ve alveollerin iç yüzeyinden yayılarak alveoler boşluğu doldururlar. Akciğerin temel yapısını bozmazlar. Aşırı mukus salgısına neden olabilirler. Hemen her zaman periferde bulunurlar. Tek veya birkaç nodül biçiminde ortaya çıkabilir. Mikroskobik olarak küboid veya silindirik, mukus sekresyonu içeren hücrelerden oluşurlar. Tip 2 pnömositler ve Klara hücrelere benzer özellik gösterirler⁽⁵⁴⁾. Çoğunlukla iyi diferansiye olan bu tümörü oluşturan hücreler, alveoler çatılarını koruyarak çevreye yayılabildikleri için, radyolojik olarak

yanıltıcı olabilir. Terminal hava yollarındaki epitel hücrelerinden kaynaklandığını düşünölen bu tümör, hemen her yaşta görölebilir.

1.3. Tümör Belirleyiciler

1.3.1. Keratinler

Hücreler, şekillerini korumak, mekanik dayanıklılıklarını sağlamak, hareket etmek, mitoz ve mayoz bölünmede kromozomların ayrılması ve organellerin intrasellöler transportunda kullanacakları protein fibriller içerirler. Bu fibriller aktin filamentleri, intermediate filamentler ve mikrotüböller olmak üzere 3 çeşit protein filamenti ailesinden oluşur.

Aktin filamentleri ortalama 8nm çapında olup mikroflamentler adını da alır. Genelde hücrede hareket ve mekanik direnç ile ilgili görevlerde rol alırlar.

Intermediate filamentler hücre iskeletinin önemli komponentleri olup organellerin stabilizasyonu (nükleusun lokalizasyonu gibi) ve bazı özel görevler yüklenirler. Çapları 9-12 nm (ortalama 10 nm) arasında değişir. Intermediate filamentler her biri belirli hücre türlerine özgü 5 ana gruba ayrılır.

Keratin: Epitelyal hücrelerde bulunur.

Vimentin: Fibroblastlarda bulunur.

Glial fibriler asidik protein, GFAP: Glial hücrelerde bulunur.

Desmin: Kas hücrelerinden bulunur.

Nörofilament proteinleri: Sinir hücrelerinde bulunur.

Keratinler 40-70 kilodalton (kD) ağırlığında suda erimeyen intermediate filamentler ailesinden olup hemen tüm epitelyal hücrelerde

bulunurlar. Keratinler, kimyasal yapılarının diğer intermediate filamentlere göre farklı olmasına rağmen hücre içinde destekleyici bir iskelet görevi yaparlar. Bu iskelet sitoplazma içini bir ağ gibi saran bir yapı şeklindedir. Değişik tipteki epitel hücreleri intermediate filamentleri üretmek için farklı tipteki keratinleri kullanılır. Moleküler ağırlıklarına ve izoelektrik noktalarına göre 20'nin üzerinde sitokeratin tipi tanımlanmıştır⁽⁵⁵⁾. Spesifik sitokeratinler bazı tip epitelleri tanımlamak amacıyla kullanılabilir. Çünkü her sitokeratin molekülü spesifik morfolojik veya fizyolojik özelliklere sahip epitel ile ilişkilidir⁽⁵⁶⁾. Epitelyal dokudan türeyen kanserlerde de bu keratinler bulunmaktadır^(57,58). Epitelyal tümörlerde sitokeratinler için monoklonal antikolar kullanılarak immünohistokimyasal yöntemle hangi sitokeratin subtiplerinin hangi tümörlerde olduğunu belirlemek mümkündür.

1.3.1.1. Sitokeratin 7

Sitokeratin 7 (CK 7), 54 kD ağırlığında bir intermediate filamenttir. Akciğer, serviks, meme, over, mezotelde ve çoğu mesane kanserlerinde bu keratin subtipinin varlığı bildirilmektedir. Sitokeratin 7 mesanenin transizyonel epitelinin tüm katları boyamaktadır⁽⁵⁶⁾. Ancak sitokeratin 7'nin, gastrointestinal epitel, hepatositler, böbreğin proksimal ve distal tubulusları ve myoepitelde olmadığı bildirilmektedir. Bu nedenle sitokeratin 7 monoklonal antikorunun yukarıda sözü edilen organlardan gelişen tümörlerin ayırıcı tanısında etkili olduğu düşünülmektedir.

Normal yetişkin dokularda bazal ve miyoepitel hücreler genellikle CK 5'i içerir. Fakat luminal sekresyon yapan epitel hücreler CK 7 ve CK 19 (bronş, meme, troid, endoserviks, endometrium) içerirler.

1.3.1.2. Sitokeratin 8

Sitokeratin 8 (CK 8) yirmi bir çeşit sitokeratin arasında, kanser hücrelerinde ve çeşitli epitelyal hücrelerde bulunan intermediate filamenttir. CK 8 meme kanser hücrelerinin yüzeyinde ekspresse edilmiştir. Normal epitel hücrelerinde de rastlanır. Akciğer kanser hücrelerini boyadığı gözlenmiştir^(59,60).

Sınıflandırma ve numaralandırma sitokeratin-1, sitokeratin-20 (CK 1-CK 20) Moll ve arkadaşlarının çalışmalarına temel alınarak yapılmıştır^(55,61). Sitokeratin epitelyal farklılaşmanın en belli başlı belirleyicidir. Sitokeratin hücrenin tipini ve farklılaşma durumunu yansıtır.

1.3.2. Alkalen Fosfataz (ALP)

Son yıllarda malign tümörlerin tanısında çeşitli markerler (tümör belirleyiciler) araştırma konusu olmuştur. Bunlar arasında çeşitli hormonlar ve hormon reseptörleri, immünoglobulinler, onkofötal antijenler ve enzimler sayılabilir. Enzimler grubunda, Alkalen fosfataz önemli bir yer tutmaktadır. Bilindiği gibi tümör hücrelerinin Golgi kompleksinde, ER'ünde ve özellikle hücre membranında ALP depolanması artmaktadır. Zamanla hızla gelişen

tümör dokusu etrafındaki normal dokuyu da harabetmekte ve membran enzimi olan tümörün civarında ekstrasellüler ortamda artmaktadır^(62,63).

Malignansilerde plasental ALP (PLAP), plasentaya benzeyen ALP (PLAP) ve intestinal ALP'lara rastlanmıştır. Bu durum ilgili dokudaki artmış gen ekspresyonuna bağlanmaktadır. Akciğer kanserinde de PAP ve PLAP görülmüştür. Normal Akciğerde zaten atopik olarak çok az miktarda bu enzimlere rastlanmıştır.

Hamile olmayan normal sıhhatli birisinde PLAP'ın bulunması bir malignansiye ifade edebilen kuvvetli bir delildir. Fakat sigara içme gibi faktörlerle PLAP'da hafif bir artış görülmektedir. Sigara içenlerde yapılan bir araştırmada yüksek PLAP ve yüksek karsino embriyonik antijen CEA'ya rastlanması, bu izoenzimin gerçekten akciğerden salgılandığını göstermiştir⁽⁶⁴⁾. PAP VE PLAP özellikle akciğer kanserinin teşhisinde kullanılmaktadır.

ALP'in sağlıklı bir kişinin normal dokusunda görülmeyen veya çok az görülen, ancak malign hallerde bir tümörün bu normal dokudan menşeyini aldığı zaman ALP'IN anlamlı derecede yükselmesinin sebebi halen karanlıktır. Çeşitli tip tümörlerde değişik sebeplerin olması çok muhtemeldir. Bazı hallerde malign prosesler bir hücrede, normalde ifade edilmeyen bir ALP genini harekete geçirip ALP sentezini arttırabilirler veya çok az sentez edilen ALP 'ın aktivitesini yükseltirler.

Alkalen fosfataz (ALP) zaman zaman kanserli dokularda ortaya çıkmakta, kanserlerde serumdaki ALP aktivitesinde artışlar gözlenmektedir. Bu tip ALP'lar mevcut ALP'ların modifiye formları olabileceği ileri sürülmüştür.

Bu modifikasyonların en önemlisi ALP'lara ekstra sialik asit artışlarının girmiş olmasıdır. Muhtemelen bu durum kanserli hücrelerde sialil transferaz artışı ile ilgilidir⁽⁶⁵⁾.

ALP, alkali ortamlarda fosfo monoesterleri hidroliz edip fosfor açığa çıkararak, kendilerine tekabül eden alkol, fenol veya şekerlere çevrimini kataliz eden bir grup enzimlerdir⁽⁶⁶⁻⁷⁰⁾.

ALP'lar ilk defa 1885 yılında Tamman tarafından fark edilmesine rağmen ancak 1907 yılında Suziki, Yoshimura ve Takaishi tarafından tekrar ele alınarak geniş çapta incelenmiştir⁽⁶⁸⁾.

İlk olarak 1923'te Robinson, kemikte kalsifikasyon olayında ALP'ın direk etkisinin olduğu hipotezinin gelişmesine yol açmıştır⁽⁶⁸⁾. 1923 yılında Bodansky, kemik dışı ALP'ların var olabileceğini ilk olarak ortaya atmıştır^(68,71). Daha sonra karaciğer ve dalakta pH=5'te optimum aktivite gösteren ilave enzimler olduğu gözlenmiş, Davies tarafından alkali ve asit terimlerinin kullanılması başlatılmıştır. 1941'de Gomori, bağırsakta epitel hücrelerinin yüzeyinde pozitif bir ALP aktivitesi gözlemiştir, 1934 yılında Coryn gebelik esnasında serum ALP'nın arttığını bulmuş, 1950 yılında Jung ve arkadaşları bu artışın plasentadan gelen bir izoenzime bağlı olduğunu iddia etmişlerdir. Memeli hayvanların lökositlerinde ALP enzimin varlığı, ilk olarak Roche tarafından ortaya çıkarılmış ve lökosit ALP düzeyinin %85'inin sitoplazmik garnüllerde yar aldığı gözlenmiştir⁽⁶⁸⁾.

Serumda ALP'nın varlığı ilk kez 1924 yılında gözlenmiştir⁽⁶⁸⁾. 1954 yılında ise ilk kez serum ALP'nın birden çok değişik formlarda olabileceği

kağıt elektroforezinde iki bantın gözlenmesiyle ortaya çıkmıştır⁽⁶⁸⁾. Bu türler en sık karaciğer ve kemik kökenli olan izoenzimlerdir⁽⁷²⁾.

1968'de Fishman ise serum ALP seviyesi çok yüksek olan bir bronkojenik kanserli hastanın tümöral dokusunun, ALP ihtiva ettiğini görmüş ve serumdaki enzimin bu dokudan dolaşıma geçtiğini gözlemiştir. Buna ilk bulunan vakanın adına izafeten Regan izoenzimi adı verilmiştir^(63, 68,73,74).

Aynı yıllarda yine serum ALP'ı yüksek olan bir şahısta tümörün ALP ihtiva ettiğini fakat bu izoenzimin Regan izoenzimin aksine ısıya hassas ve fenil alanine hassas olmayan bir izoenzim Timperley tarafından gözlenmiştir⁽⁶³⁾.

Akciğer kanseri bütün dünyada kardiyovasküler hastalıklardan sonra birinci sırayı alması nedeniyle üzerinde yoğun çalışmalar yapılmıştır. Akciğer kanseri teşhisinde immünohistokimyasal ve sitokimyasal yöntemlerde son yıllarda hız kazanmıştır. Çalışmamızda bu yöntemlere ilişkin değerlendirmeler yer almaktadır. Primer ve sekonder adeno kanserli hücrelerle yapılan çalışmalarda alkalin fosfataz, sitokeratin 7 ve sitokeratin 8 boyamalarının sitolojik olarak adeno kanser teşhisi konulmuş tümör hücreleri ile verdikleri reaksiyonlar incelenmiştir. Çalışmamızda güvenilir, hızlı ve hastaya en az zarar verdiği için sitolojik numuneler kullanıldı.

Akciğer dokusu tüm kanserlerin metastazı açısından ortak bir yerdir. Bu sebeple klinikte tespit edilmiş kanserlerin primer, sekonder oluşunun tespiti hastalığın tedavisi açısından çok önemlidir. Çünkü tedavi ve hastalığın seyri buna bağlı olarak değişmektedir⁽³⁵⁾. Fakat primer ve sekonder akciğer

adeno kanserinin sitolojik olarak teŖhisi her zaman doğru olmamaktadır. Bu sebepten dolayı teŖhiste önemi, literatürde de belirtilen ALP, CK7 ve CK 8 tümör belirleyicileri tercih edildi.

ÇalıŖtıđımız tümör belirleyicilerini tercih ederken, akciğer adeno kanserini ayırt edebilmeleri dikkate alındı. Bu tümör belirleyicilerin, adeno kanserin teŖhisindeki önemlerini araŖtırmayı amaçladık.

ÇalıŖmamızda toplanan numuneler öncelikle klasik teŖhis yöntemi olan Papanicolaou (PAP) ve Giemsa metodları ile tespit edilerek, primer,sekonder akciğer adeno kanser hücrelerinin sitomorfolojik özellikleri belirlenmiştir. Daha sonra immünositokimya metodu ile CK 7, CK 8 ve sitokimya metodu ile ALP enzimlerinin dağılımları ve miktarları belirlenmiştir.

2.MATERYAL VE YÖNTEM

2.1.Materyal

Bu çalışma 01.07.2005-01.08.2005 tarihleri arasında Hanover Sitoloji Enstitüsünde yapılmıştır. Çalışmada kullanılan hasta materyalleri, Almanya'nın çeşitli hastanelerinden gelen materyaller olup, 231 adeno kanserli hastaya aittir. Bu materyallerin 161'i primer akciğer adeno kanseri, 70'i ise sekonder akciğer adeno kanseridir.

Çalışmada kullanılan materyallerin ait olduğu hastaların yaşa göre dağılımları çizelge 2.1.'de görülmektedir. Çizelgeye göre akciğer adeno kanserinin en sık gözlemlendiği yaş grubu, primer adeno kanser için 61-65 yaş grubu iken, sekonder adeno kanser için 61-65 ile 76-80 yaş grubu olarak belirtilmiştir.

Yaş Aralığı	Primer adeno kanser n (%)	Sekonder adeno kanser n (%)
X<45	4 (2.48)	1 (1.42)
45-50	6 (3.72)	3 (4.28)
51-55	7 (4.34)	3 (4.28)
56-60	17 (10.55)	4 (5.71)
61-65	30 (18.63)	13 (18.57)
66-70	26 (16.14)	12 (17.14)
71-75	25 (15.52)	11 (15.71)
76-80	25 (15.52)	13 (18.57)
81-85	12 (7.45)	6 (8.57)
X> 85	9 (5.59)	4 (5.71)

Çizelge 2.1. Adeno kanserli hastaların yaşa göre dağılımı

Çizelge 2.2.'de 231 akciğer adeno kanserli hastaların cinsiyete göre dağılımı görülmektedir. Çizelgeye göre primer adeno kanserli hastaların % 72.05'ni, sekonder adeno kanserli hastaların da % 74.28'ni erkek hastalar oluşturmaktadır.

Materyal	Olay (n)	Kadın n (%)	Erkek n (%)
Primer adeno kanser	161	45 (27.95)	116 (72.05)
Sekonder adeno kanser	70	18 (25,71)	52 (74.28)

Çizelge 2.2. Adeno kanserli hastaların cinsiyete göre dağılımı

2.1.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler

Amonyak, ethanol, hematoksilen (Merck), orange II (Merck), ksilol, alkol, May Grünwald solüsyonu (Merck), Gimza solüsyonu (Merck), Kanada balsam (Merck), veronal sodyum tamponu, barbitalsodyum (Merck), sodyum –naphtylfosfat (Merck), variamin B tuz (Merck), gliserol jelatin (Merck), peroksidaz blocking reagent (DAKO), streptavidin HRP (DAKO), EA 65 (Merck), biotinylated anti-mouse (DAKO), antikör solüsyonları [(CK 7, CK 8) (DAKO)], AEC substrat solüsyonu (DAKO), Tris tamponu

2.1.1.1. Solüsyonların Hazırlanışı

TRİS TAMPONU: 6.1 g (Tris (hidroksimetil) aminometan) (Merck), 50 ml distile suda eritilmiştir. 37 ml 1 N 'lik HCL'den ilave edilerek, karışım 1 litreye tamamlanmıştır (pH 7,4~7,6).

AEC SUBSTRAT SOLÜSYONU:

1. 4 mg 3-amino-9-ethycarbazde alınıp, 1ml N-N Dimetilformamit eritilmiştir.
2. 5,75 ml asetik asit alınıp 1 litre distile suyla 0,1 N olacak şekilde tamamlanarak asetat solüsyonu hazırlanmıştır.
3. 3,61 g sodyum asetat tri hidritten, 1 litre distile suyla 0,1 N'lik olacak şekilde tamamlanarak sodyum asetat solüsyonu hazırlanmıştır.
4. 790 ml sodyum asetat ile 210 ml asetik asit 1 litreye tamamlanarak asetat solüsyonunu oluşturur.
5. 1 ml dimetil formamit solüsyonu üzerine 14 ml asetat solüsyonu (pH 5,2) ilave edilmiştir.
6. Hazırlanan solüsyon 0,15 ml %3'lük hidrojen peroksitle karıştırılarak, filtreden geçirilmiştir.

VERONAL SODYUM TAMPONU: 20,618 g Barbitalsodyum etken maddesinden alınıp ve 1000 ml distile su ile karıştırılmıştır (pH 9.4) .

2.1.2.Kullanılan Cihazlar

Santrifüj, pH metre (Hanna, pH 211), elektronik terazi (And GR-120 model), etüv (Nüve İnkibatör), mikroskop (Nikon Eclipse E 600), fotoğraf makinesi (Nikon FDx35)

2.2.Yöntem

2.2.1. Materyal Kazanımı

Çalışmalarda, Hanover Sitoloji Enstitüsü Laboratuvarına gelen balgam, bronskoscopi, biyopsi, ince iğne aspirasyon, bronşialalveoler lavaj, plevra sıvısı materyalleri kullanılmıştır.

2.2.2. Materyal Hazırlanışı

Balgam ve bronşial alveoler lavaj materyaller ile plevra sıvısı materyalleri, yayma metodu ile preparat haline getirilmiştir. Balgam materyalleri soğuk ve ıslak lamlara 2-3 cm yükseklikten tabaka halinde yayılmıştır. Plevra sıvısı ile bronşial materyalleri ise tüplere boşaltılıp 10 dakika santrifüj edilmiştir. Bu tüplerdeki süpernatant atılarak dipte kalan hücre peleti iki lam yardımıyla öne doğru çekilerek yayılmıştır. Kullanılan materyal tiplerinden bazıları da bozulmalarını önlemek amacıyla hastanelerden hazır preparatlar şeklinde gönderilmiştir. Bütün preparatlar etüvde 70 °C de 5 dakika kuruyana kadar bekletilmiştir.

Kuruyan preparatlar küvetlerin içine yerleştirilerek boyama işlemleri için hazır hale getirilmiştir. Bronşial ve balgam preparatları PAP (Papanicolaou) boyası ile boyanmıştır. Bu boya 24 aşamalı ve yaklaşık 30 dakika süren bir süreci kapsamıştır. Boyanan preparatlar kurutma yapılmadan 2 damla korbit (corbit) balsam damlatılarak kapatılmıştır. Plevra sıvısı preparatları ise Gimza (Giemsa) boyası ile boyanmıştır. Bu preparatlar etüvde kurutulduktan sonra yine aynı yöntemle kapatılmıştır.

2.2.2.1. PAP Boyası Prosedürü

Boyanmak üzere hazırlanan preparatlar sırayla aşağıdaki işlemlerden geçirildi.

1. %96 etanol içinde 1 dakika bekletildi.
2. %70 etanol içinde 1 dakika bekletildi.
3. %50 etanol içinde 1 dakika bekletildi.
4. Distile su içinde 1 dakika bekletildi.
5. Hematoksilen içinde 3 dakika bekletildi.
6. Distile su ile 1 dakikika durulandı.
7. Distile su ile 1 dakika durulandı.
8. Distile su ile 1 dakika durulandı.
9. %50 amonyak içinde 1 dakika bekletildi.
10. %50 etanol içinde 1 dakika bekletildi.
11. %70 etanol içinde 1 dakika bekletildi.
12. %96 etanol içinde 1 dakika bekletildi.
13. %96 etanol içinde 1 dakika bekletildi.
14. Orange II içinde 5 dakika bekletildi.
15. %96 etanol içinde 1 dakika bekletildi.
16. %96 etanol içinde 1 dakika bekletildi.
17. Polychromlsg E A 65 içinde 5 dakika bekletildi.
18. %96 izopropanol içinde 1 dakika bekletildi.
19. %96 izopropanol içinde 1 dakika bekletildi.
20. %100 izopropanol içinde 1 dakika bekletildi.
21. %100 izopropanol içinde 1 dakika bekletildi.

22. Ksilol içinde 1 dakika bekletildi.

23. Ksilol içinde 1 dakika bekletildi.

24. Ksilol içinde 1 dakika bekletildi.

2.2.2.2. Gimza Boyası Prosedürü

Boyanmak üzere hazırlanan preparatlar aşağıda belirtilen aşamalardan geçitilmiştir.

1. 2 dakika May Grünwald solüsyonunda bekletildi.
2. Distile suyla 1 dakika durulandı.
3. 5.5 dakika Gimza solüsyonu içinde bekletildi.
4. Distile suyla 1 dakika durulandı.
5. Preparatlar havada kurutulup, Kanada balsamı ile kapatıldı.

2.2.3. Alkalen Fosfataz Boyama Prosedürü

1. Üç aşamalı bir karışım solüsyonu hazırlanır. Preparatlar filtre edilen bu solüsyonda, +4 °C de 60 dakika bekletilmiştir.
 - a. Veronal sodyum tamponu pH 9,4 , 35 ml
 - b. Naphthyl fosfat sodum tuz monohidrit 17,5 mg
 - c. Variamin B tuz 35,0 mg
2. Preparatlar, hücrelerin olmadığı alt yüz suya tutulacak şekilde durulanmıştır.
3. Mayer's Hematoksilen solüsyonuda 4 dakika bekletilmiştir.
4. Çeşme suyunda 4 dakika durulandıktan sonra, havada kurutulmuştur.

5. Preparatlar +60 C° de ısıtılmış gliserol jelatin ile kapatılmıştır.

2.2.4. Sitokeratin 7 ve Sitokeratin 8 Tümör Belirleyicileri Boyama Prosedürü

1. Preparatların materyal olan yüzlerine gelecek şekilde tris tamponundan damlatılmıştır.
2. Her bir preparata 100 µl peroksidaz blocking reagent (DAKO) solüsyonu damlatılıp 5 dakika bekledikten sonra tris ile durulanmıştır.
3. Her preparatın üzerine 200 µl antikor solüsyonu ilave edildikten sonra oda sıcaklığında 30 dakika beklenmiştir (CK 7 1:00; CK 8 1: 100).
4. Tris ile 5 dakika durulama yapılmıştır.
5. Her preparatın üzerine 100 µl biotinylated anti -mouse solüsyonu ilave edildikten sonra oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir.
6. Tris ile 5 dakika durulama yapılmıştır.
7. Her preparat üzerine 100 µl streptavidin Horse radish peroksidaz (DAKO) solüsyonu damlatılarak 10 dakika beklenmiştir.
8. Tris ile 5 dakika durulama yapılmıştır.
9. Her preparat üzerine 100 µl kromojen (chromogen) AEC substrat solüsyonu damlatılmıştır.
10. Tris ile 5 dakika durulama yapılmıştır.
11. 2 dakika Mayers Hematoksilen ile boyanan preparatlar çeşme suyu ile durulanmıştır.
12. Hazırlanan preparatlar, katı halde olduğu için +60 C° ısıtıldıktan sonra gliserol jelatinden 3 damla damlatılarak lamel ile kapatılmıştır.

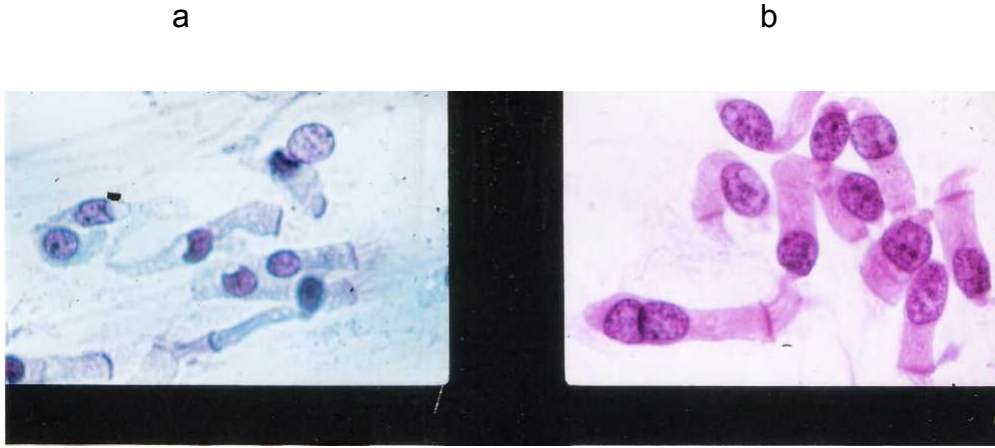
2.2.5.Mikroskop İncelemesi

Boyanan preparatlar, Nikon Eclipse E 600 mikroskopta, x10'luk objektifle taranarak, değerlendirilecek kalitedeki tümörlü hücreler x 40'luk objektif ile incelenmiştir. Tümör hücreleri sitomorfolojik kriterlere göre değerlendirildikten sonra boyanma şiddetine göre; + pozitif, ++ pozitif, +++ pozitif şeklinde değerler verilmiştir. Boyanmayan hücreler (-) negatif yorumlanmıştır. Nikon FDx35 fotoğraf makinesi ile, bölüm 3'te şekillerde gösterilen hücrelerin fotoğrafları çekilmiştir.

3.ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1.Normal Akciğer Sitolojisi

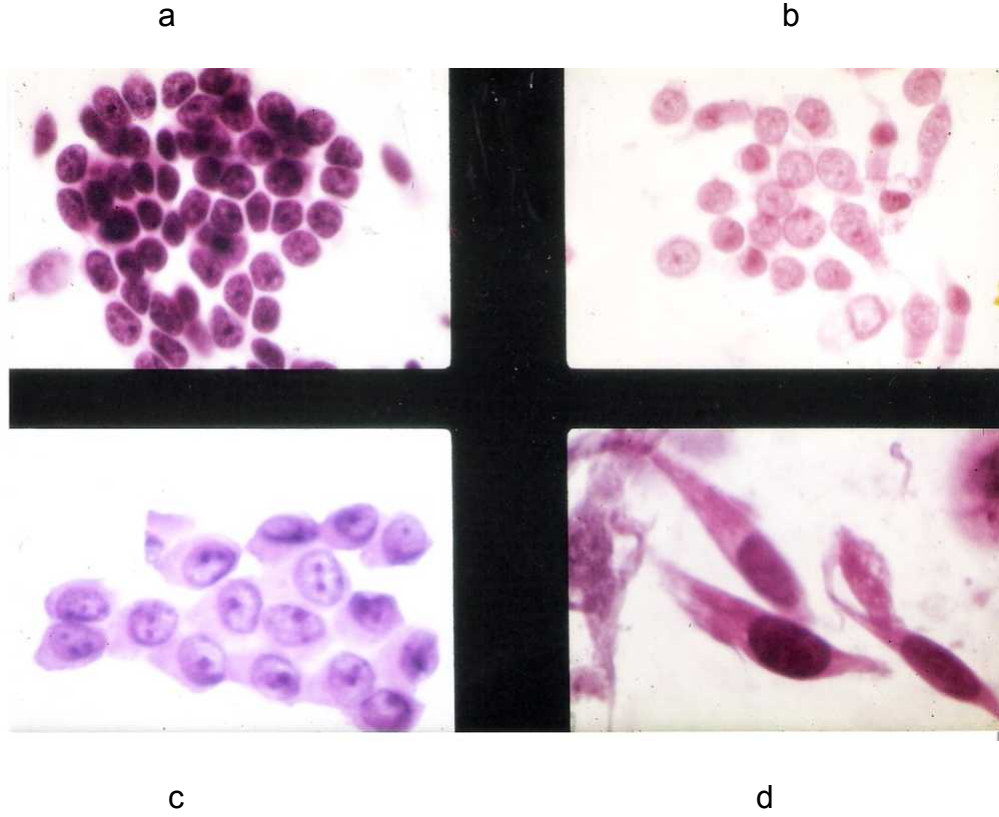
Akciğerin yapısında bulunan hücre tipleri silli silindirik epitel hücreleri, Baker hücreleri, intermedier hücreler, bazal hücreler, APUD hücreleri, kübik hücreler, Klara hücreleri, pnömosit tipI ve tip II hücreleri, alveolmakrofaj hücreleridir.



Şekil 3.1. Normal Akciğer Epitel Hücreleri (Balgam,x 600-PAP)

a.b. Silli Silindirik Hücreler

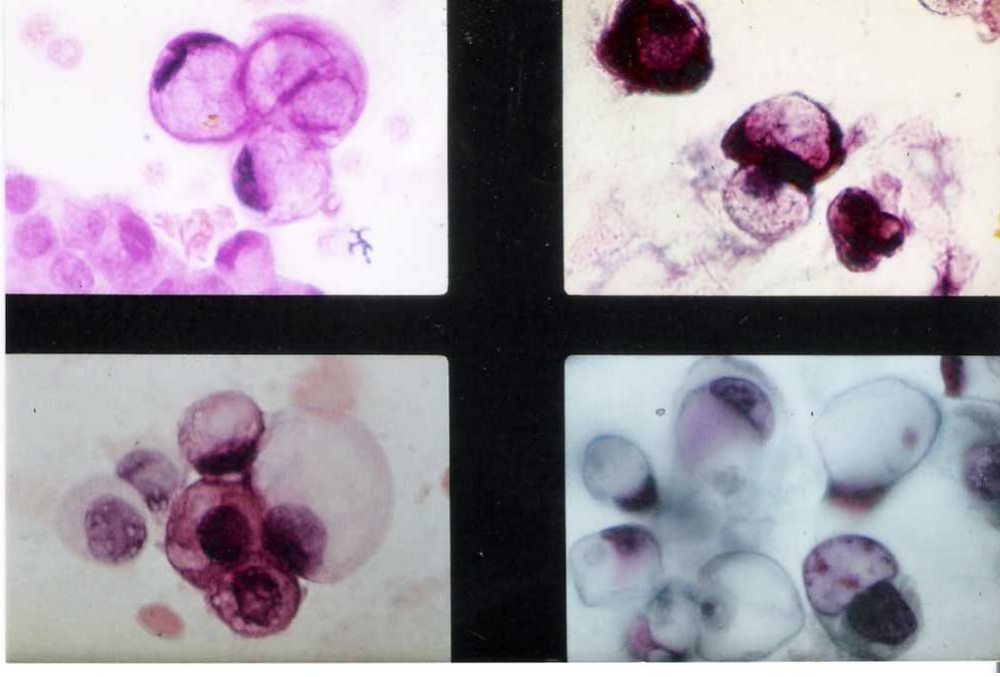
Şekil 3.1.a.b. 'de silli silindirik hücreler görölmektedir. Bu hücrelerin çekirdekleri ekzentrik ve sitoplazmaları silindiriktir. Hücreler hemen hemen eşit büyüklükte ve sitoplazma bazofilik boyanmıştır.



Şekil 3.2. Normal Akciğer Epitel Hücreleri (Bronş,x 600- PAP)

- a.b. Bazal hücreler
- c. Kübik Epitel Hücreler
- d. Intermedier Epitel Hücreler

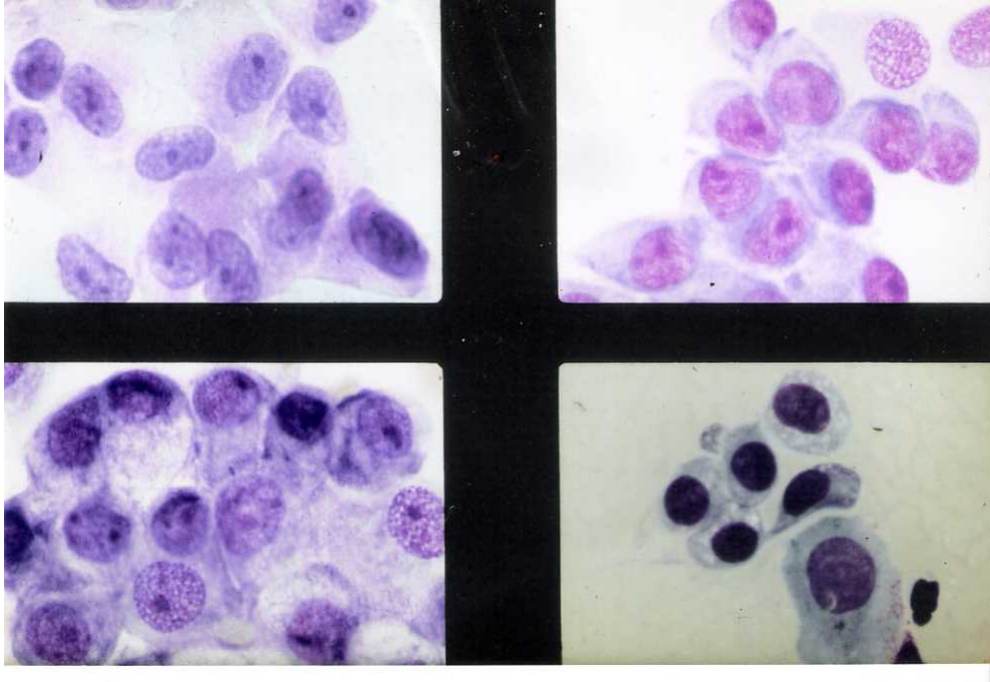
Şekil 3.2.a.b.'de bazal hücreler görülmektedir. Bazal hücrelerin sitoplazmaları az ya da hiç yokmuş gibi görünür. Çekirdekler net olarak görülmektedir.Şekil 3.2. c.'de kübik epitel hücreleri görülüyor. Bu hücrelerin çekirdekleri sentral, çekirdekçikler belirgindir.Şekil 3.2.d.'de iğ şeklinde intermedier epitel hücreleri görülüyor. Hücre iğ şeklinde, çekirdekler ekzentriktir.



Şekil 3.3. Normal Akciğer Epitel Hücreleri (Bronş, X600- PAP)

a.b.c.d. Klara Hücreleri

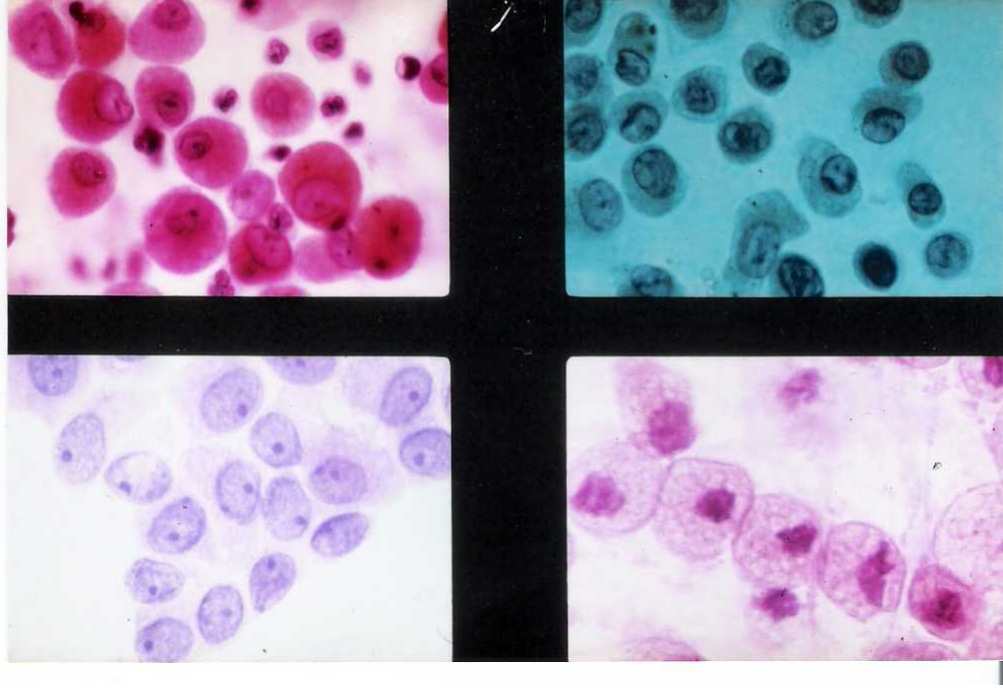
Şekil 3.3 de normal akciğer epitel hücrelerinden klara hücreleri görülmektedir. Bu hücrelerin çekirdekleri ekzentrik, koyu eozinofilik ve sitoplazmaları bol mukus içermektedir. Klara hücreleri periferdeki ince bronşlarda görülür.



Şekil 3. 4. Normal Akciğer Epitel Hücreleri (Bronş,x600-Gimza)

a.b.c.d. Pnömosit Tip II Alveoler Epitel Hücreler

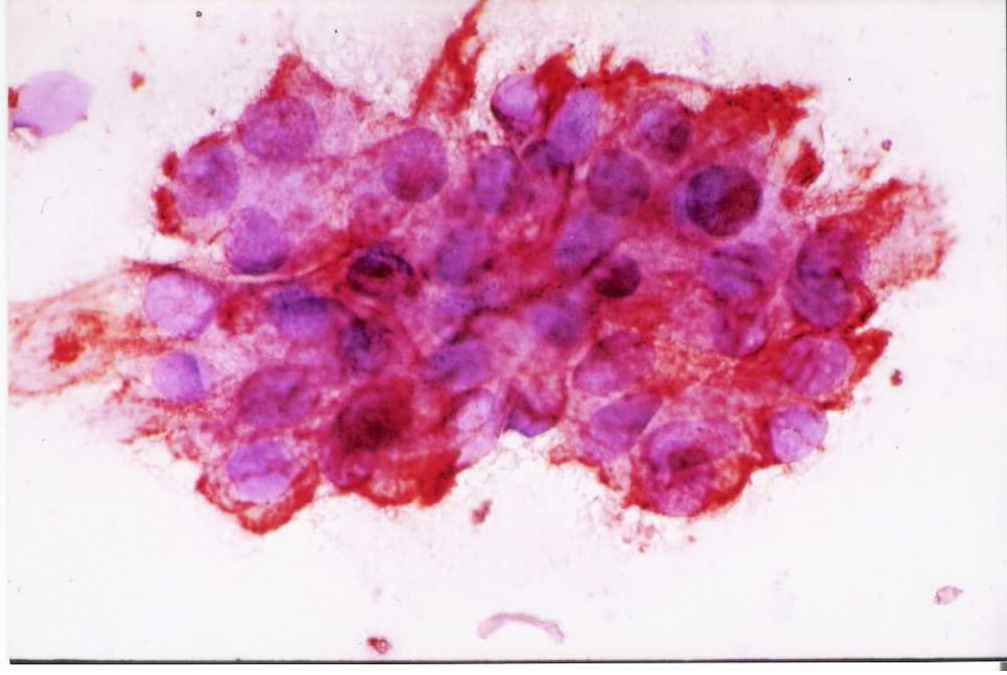
Şekil 3.4. a.b.c.d.' de pnömosit tip II alveol epitel hücreleri görülüyor. Çekirdekler büyük, sentral ve eozinofilik, çekirdekçikler belirgin ve sitoplazmaları uzamış şekildedir.



Şekil 3.5. Normal Akciğer Epitel Hücreleri (Bronş, x600- a.d. PAP)

a.b.c.d. Alveolermakrofaj Hücreleri

Şekil 3.5. a.'da alveolar makrofaj hücreleri görülmektedir. Özellikle sigara içenlerde sayıları artan bu hücreler, koyu eozinofilik boyanmıştır. Şekil 3.5. b.c.d.'de açık eozinofilik alveolar makrofaj hücreleri görülüyor.



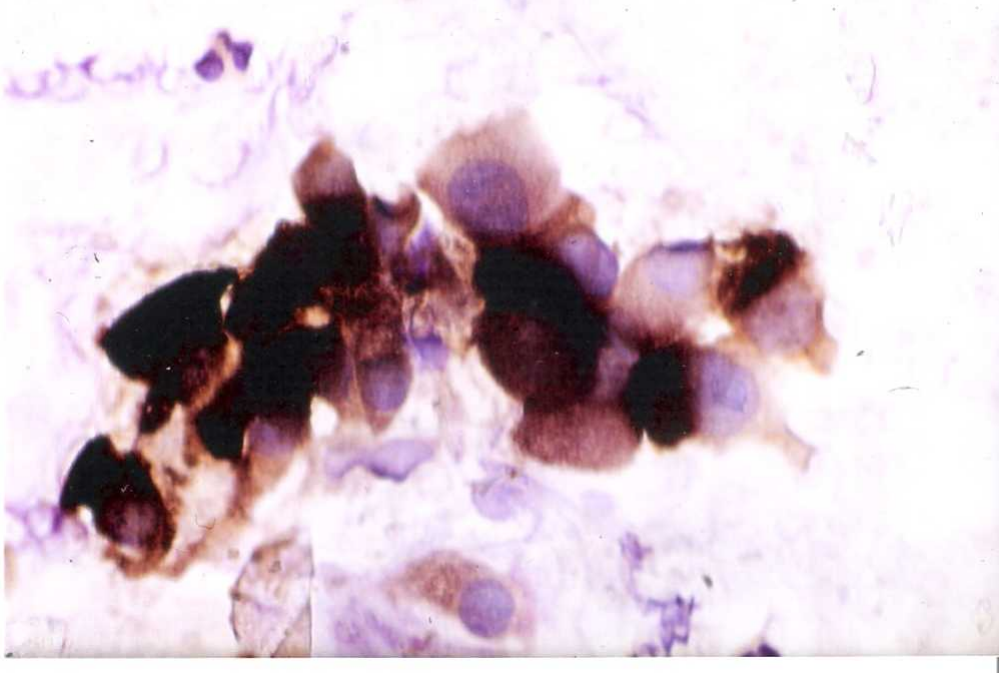
Şekil 3.6. Normal Akciğer Epitel Hücreleri (Bronş, x600- CK 8)

Şekil 3.6.'de sitokeratin 8 ile ++ pozitif boyanmış alveolar epitel hücreler görülmektedir. Sitoplazmaları, çekirdeklerin bir kısmı pozitif boyanmıştır.



Şekil 3.7. Normal Akciğer Epitel Hücreleri (x600- CK 7)

Şekil 3.7.'de sitokeratin 7 ile boyanmış alveolar hücreleri ile silindirik epitel hücreleri görülüyor. Sitoplazmaları ++ pozitif boyanmıştır.



Şekil 3.8. Normal Akciğer Epitel Hücreleri (Bronş, x600-ALP)

Şekil 3.8.'da alkalen fosfataz ile +++ pozitif boyanmış kübik epitel hücreleri görülmektedir.

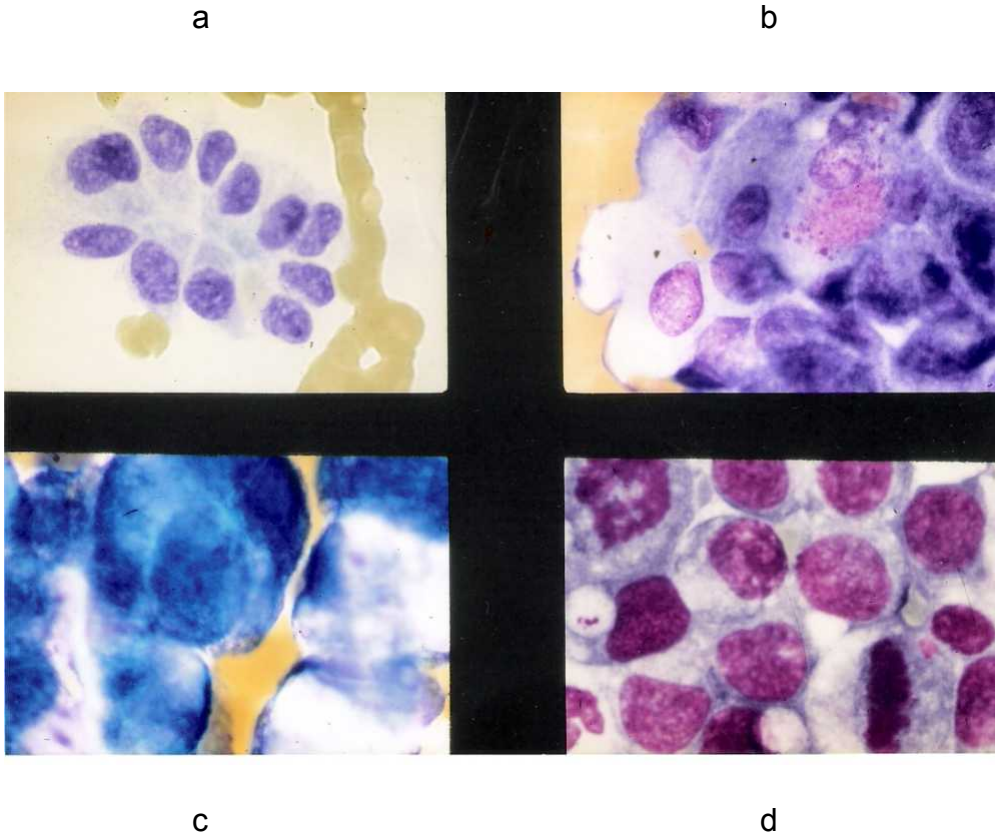
3.2.Akciğer Adeno Kanser Sitolojisi

Kanserler kan ve lenf damarları yoluyla lenf düğümlerine ve vücudun diğer organlarına yayılabilirler. Vücutta ilk olarak ortaya çıkan tümöre primer tümör denir. Metastaz sonucu meydana gelenlere ise sekonder tümör adı verilir.

3.2.1. Primer Akciğer Adeno Kanser Sitolojisi

Akciğer adeno kanserli hücreler mikroskoptaki sitolojik incelemelerinde yaptıkları gruplara göre çeşitli isimler alır. Papiller adeno kanser, rozet şeklindeki asiner adeno kanser, solid kanser gibi. Şekil 3.9.'da çalışmamızdaki akciğer adeno kanserlerinden asiner adeno kanseri örnek olarak gösterilmiştir.

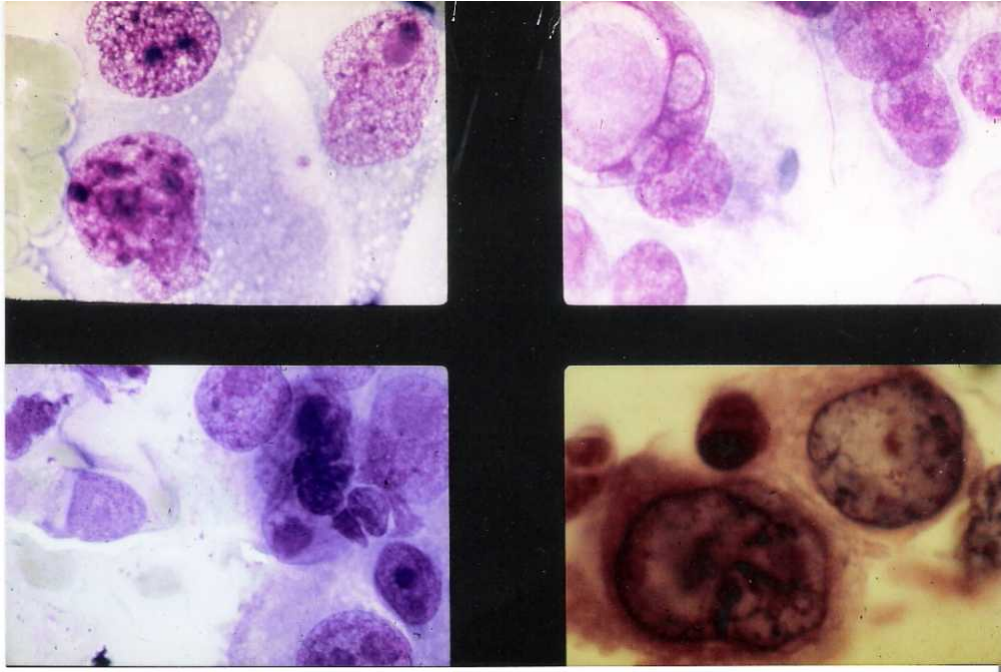
Asiner adeno kanserde hücreler rozet şeklindedir ve genellikle silindirdir. Sitoplazma bol vakuollü, ve bazofilik boyanmıştır. Anizokaryozis gözlenir. Kromatin granülleri incelmıştır. Çekirdek ekzentrik konumdadır.



Şekil 3.9. Primer Akciğer Adeno Kanser Hücreleri (Bronş, x600- Gimza)

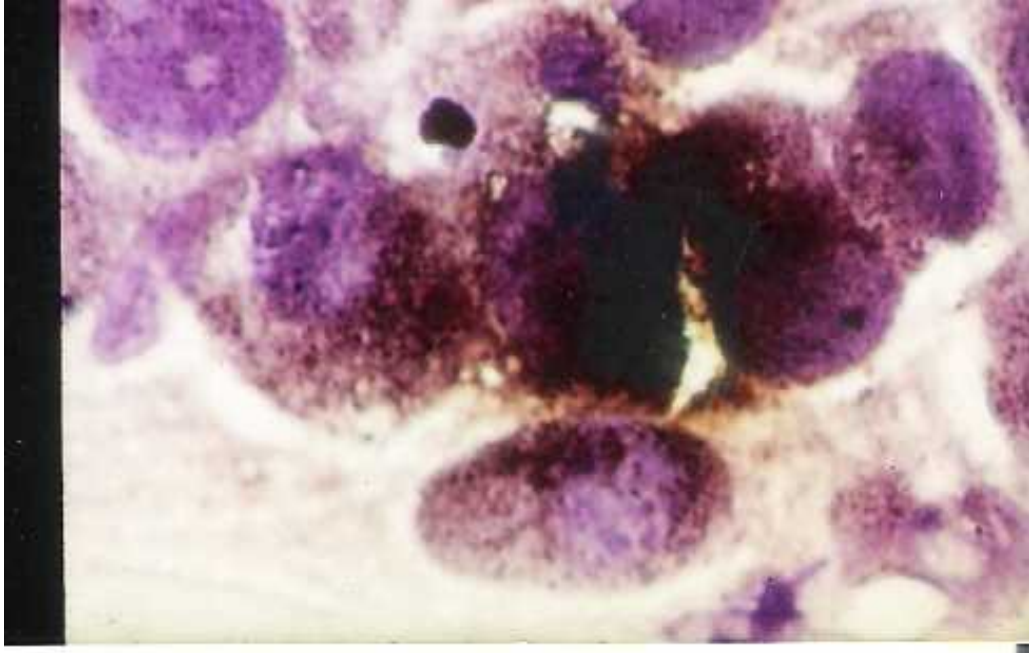
Şekil 3.9.a.'da asinus yapmış, çekirdekleri ekzentrik akciğer adeno kanser hücreleri görülmektedir. Şekil 3.9.b.c.d.'de sitoplazması bol vakuollü, çekirdekleri ekzentrik adeno kanser hücreleri görülmektedir.

Adeno karsinomun alt tipi olan bronşialalveoler karsinomda ise kübik ve silindirik mukus salgısı içeren hücreler görülür. Pnömosit II hücreleri ve klara hücrelere benzer özellik gösterirler.



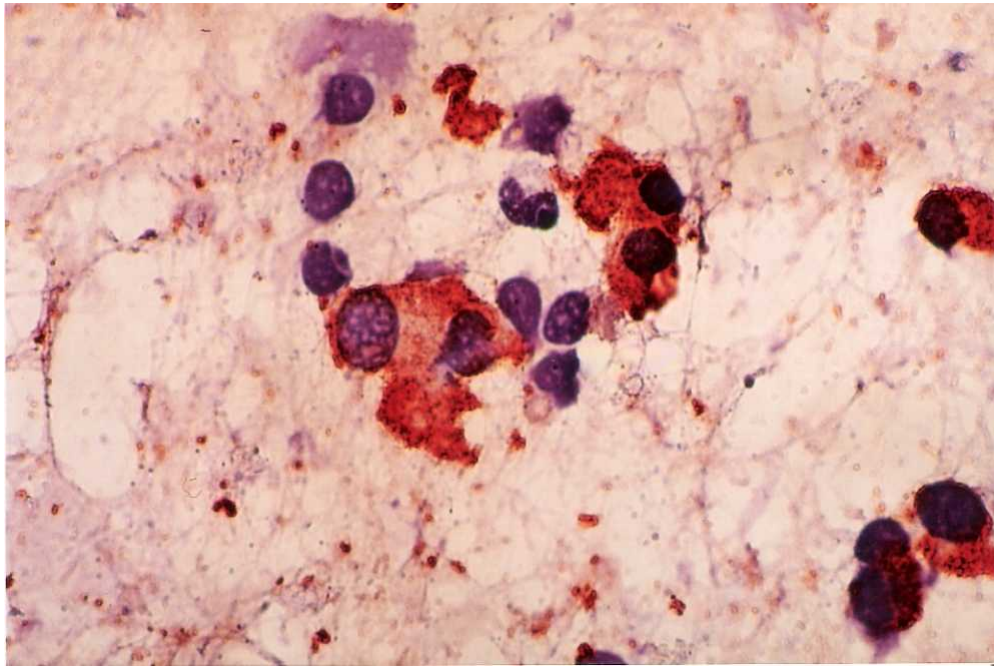
Şekil 3.10. Bronşialalveoler Karsinom (Alveol, x600-Gimza-PAP)

Şekil 3.10.'de bronşialalveoler kanser hücreleri görülmektedir. Bu hücrelerde, diğer adeno kanser hücrelerinden farklı olarak çekirdekler merkezi konumda görülür.



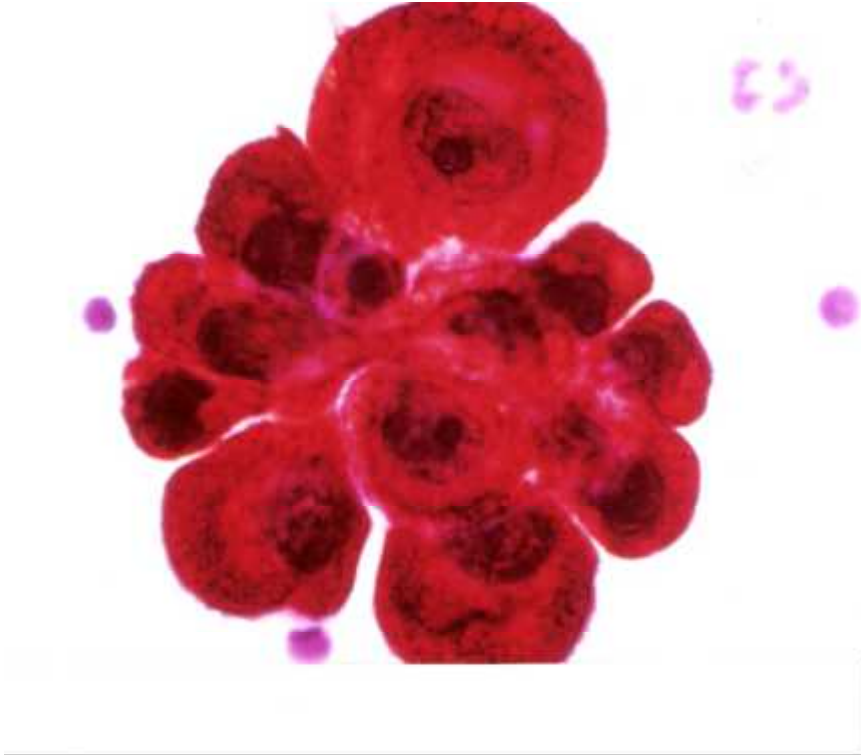
Şekil 3.11. Primer Akciğer Adeno Kanser Hücresi (Bronş, x600- ALP)

Şekil 3.11.'de alkalen fosfataz ile çekirdek ve sitoplazması ++ pozitif boyanmış adeno kanser hücreleri görülmektedir.



Şekil 3.12. Primer Akciğer Adeno Kanser Hücresi (Bronş, x600- CK 7)

Şekil 3.12.'de sitokeratin 7 ile sitoplazmaları ++pozitif boyanmış primer akciğer adeno kanser hücreleri görülmektedir. Hücreler grup halinde ve anizokaryozis göstermektedir.



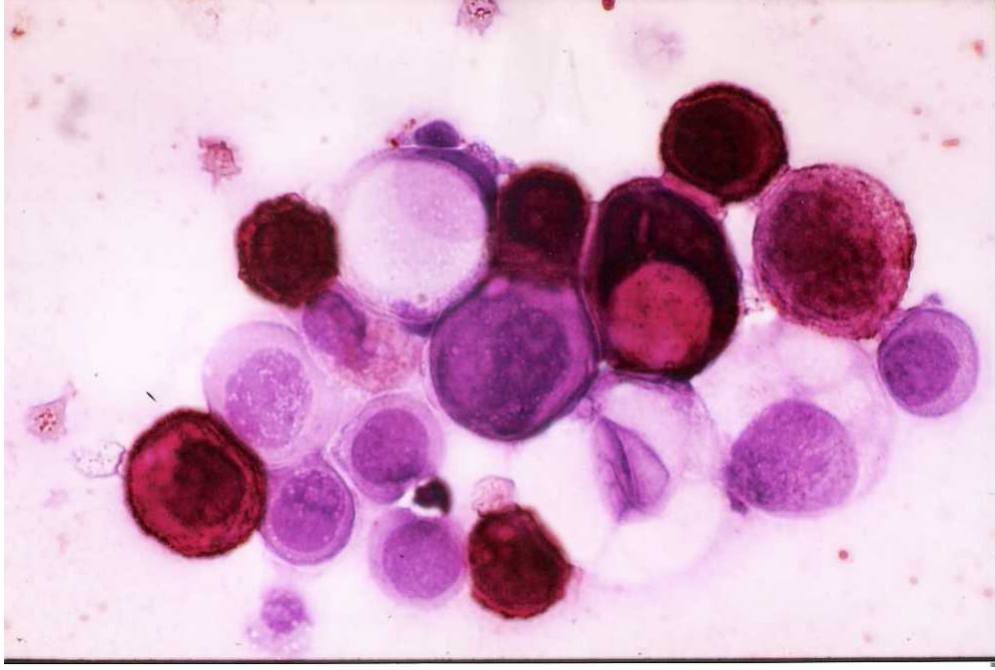
Şekil 3.13. Primer Akciğer Adeno Kanser Hücreleri (Bronş, x600- CK 8)

Şekil 3.13.'de sitokeratin 8 ile sitoplazmaları +++pozitif boyanmış primer akciğer adeno kanser hücreleri görülmektedir. Hücreler rozet şeklinde grup yapmış, çekirdek ve çekirdekçik belirgin, sitoplazma vakuollü, koyu eozinofilik boyanmıştır.

3.2.2. Sekonder (Metastaz) Akciğer Adeno Kanser Sitolojisi

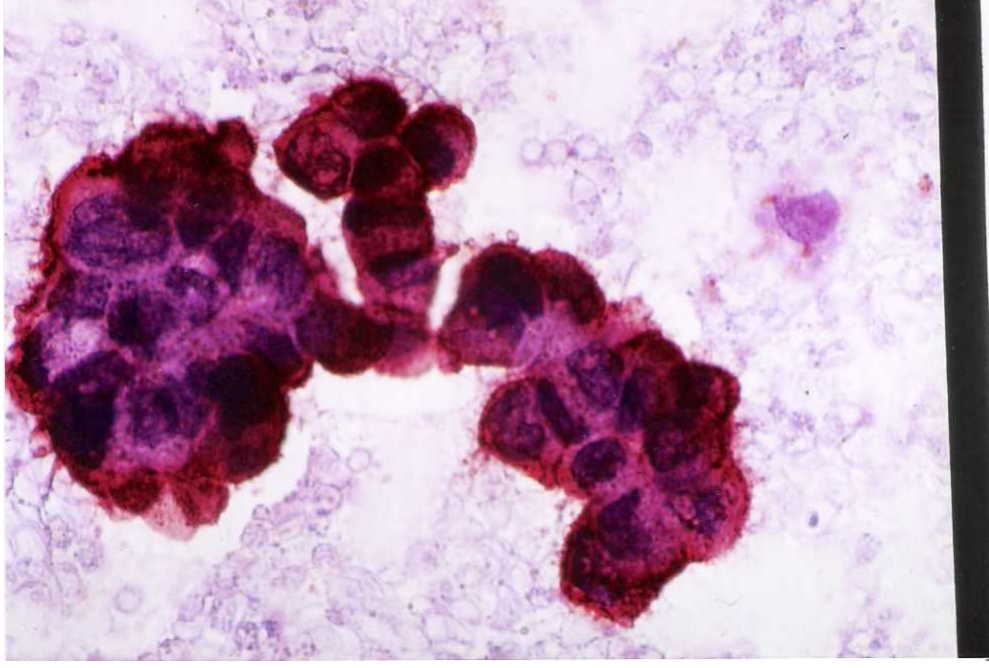
Yaptığımız çalışmalarda, tümör belirleyiciler; primer ve sekonder akciğer adeno kanserin teşhisinde kullanılmıştır. Örneğin; akciğerden alınmış materyalde sitolojik olarak adeno kanser tanısı konulmuş hücrelerin, ALP tümör belirleyicisi ile boyanmaları sonucunda ; tümörün primer oluşuna karar verilebilir. Pozitif çıkan değerler, tümör hücresinin primer akciğer adeno kanser hücresi olduğunu gösterir. Negatif çıkması sonucunda, başka tümör belirleyicilerde kullanılarak tümörün tipi tayin edilebilir.

Plevra sıvısından alınan materyallerde ALP pozitif çıkması, tümörün sekonder adeno kanser hücresi olduğu bilgisini verir. Bu durumda vimentin, CA 15-3, östrojen, sitokeratin 20, sitokeratin 5/6, sitokeratin 14, sitokeratin 19 gibi immünolojik boyalar kullanılarak tümörün nereden geldiği tayin edilir. Örneğin; adeno kanser teşhisi konulan bir tümör hücresinde, meme kanseri tümör belirleyicisine rastlanıyorsa, metastaz olduğuna karar verilir. Fakat bu şekilde gönderilen materyallerin klinik geçmişlerinin de belirtilmesi gerekir.



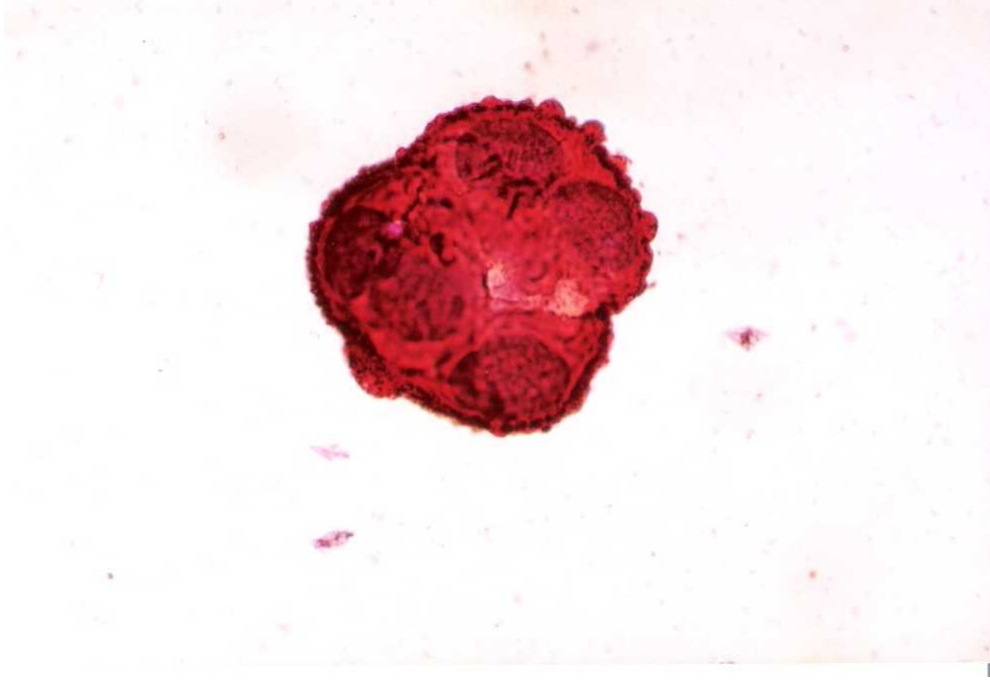
Şekil 3.14. Sekonder Adeno Kanser Hücresi (Plevra, x600- ALP)

Şekil 3.14.'da plevrada metastaz yapmış sekonder adeno kanser hücreleri görülmektedir. ALP ile sitoplazma ve çekirdekleri +++ pozitif boyanmıştır. Bu materyalde adeno kanser belirleyicisi olan ALP'nin pozitif sonuç vermesi, bizi adeno kanser sonucuna götürmüştür. Tümör hücresinin nereden metastaz yaptığını bulmak için ise çeşitli tümör belirleyicilerini içeren panellere ihtiyaç duyulur.



Şekil 3. 15. Sekonder Akciğer Adeno Kanser Hücresi (Plevra, x600-CK 7)

Şekil 3.15. 'de sitokeratin 7 ile ++ pozitif boyanmış metastaz adeno kanser hücreleri görülmektedir. Hücreler grup halinde toplanmış, çekirdek sınırları bozulmuş, kromatin incelmıştır. Anizokaryozis gözleniyor.



Şekil 3.16. Sekonder Akciğer Adeno Kanser Hücresi (Plevra, x600-CK 8)

Şekil 3.16.'da sitokeratin 8 ile +++ pozitif boyanmış sekonder adeno kanser hücreleri görülüyor. Hücreler grup yapmış, çekirdek sınırları bozulmuş ve ekzentrik konumdadır. Kromatin granülleri incelmıştır.

Çalışmamızda immünohistokimyasal tümör belirleyicilerden sitokeratin 7, sitokeratin 8 ve alkalen fosfataz'ın akciğer primer ve sekonder adeno kanseri teşhisindeki değerlendirilmesi yapılmıştır.

Sitolojik olarak adeno kanser teşhisi konulan hastalara ait materyallerin bu tümör belirleyicilerle verdikleri reaksiyonların sonuçları değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.1.'de 155'i primer adeno kanserli, 62'si sekonder adeno kanserli toplam 217 hastanın alkalen fosfataz (ALP) ile boyandıklarında gösterdikleri reaksiyon sonuçları gösterilmiştir. Buna göre; sitopatolojik

incelemeler sonucu primer adeno kanser teşhisi konulmuş 155 hastaya ait materyaller ALP ile boyandıklarında; % 75.48 pozitif sonuç elde edilmiştir. Bu sonucun %24.51'i + pozitif, % 34.19'u ++ pozitif, %16.77'sini +++ pozitif değerler oluşturmuştur. 62 sekonder adeno kanserli hasta grubunda ise pozitif boyanma % 74.19 oranında gerçekleşmiştir. Bu hasta grubunda %17.74 +pozitif, % 38.70 ++pozitif, %20.96 +++pozitif sonuçlar elde edilmiştir.

ALP ile boyanan bronşial ve plevra örneklerinin boyanma sonuçlarında, negatif sonuçlar sırasıyla %24.51, %25.80; pozitif sonuçlar %75.48, %74,19 olmak üzere birbirine paralel bir durum gözlenmiştir. Her iki örnek grubunda da ++ pozitif boyanma insidensi en yüksektir.

Alkalen fosfataz (ALP)	Olay (n)	Negatif n (%)	Pozitif n (%)	+n (%)	++n (%)	+++n (%)
Primer Adeno kanser	155	38 (24.51)	117 (75.48)	38 (24.51)	53 (34.19)	16 (16.77)
Sekonder Adeno kanser	62	16 (25.80)	46 (74.19)	11 (17.74)	24 (38.70)	13 (20.96)

Çizelge 3.1. Akciğer adeno kanser hücrelerinin alkalen fosfataz ile boyama sonuçları

Çizelge 3.2.'de de primer ve sekonder adeno kanserli hasta materyallerinin sitokeratin 7 (CK 7) tümör belirleyicisi ile yapılan boyama sonuçları verilmiştir. 151 primer adeno kanserli hasta materyalinde %24.50'si + pozitif, %27.81'i ++ pozitif, %19.20'i de +++ pozitif olmak üzere, toplam % 71.52 pozitif değerlerine rastlanmıştır. Metastaz yapmış 51 adeno kanserli hasta grubunda sonuçların %29.41'i negatiftir. %70.58 'lik pozitif değerlerin, %15.68'ni + pozitif, % 33.33'nü ++ pozitif, % 21.56'sını +++ pozitif değerler oluşturmaktadır.

CK 7 ile boyanan bronşial ve plevra örneklerinin boyama sonuçlarında, negatif sonuçlar sırasıyla %28.47, %29.41; pozitif sonuçlar sırasıyla %71.52, %70,58 olmak üzere birbirine paralel bir durum gözlenmiştir. Her iki örnek grubunda da ++ pozitif boyanma insidensi en yüksektir.

Sitokeratin 7	Olay (n)	Negatif n (%)	Pozitif n (%)	+n (%)	++n (%)	+++n (%)
Primer Adeno kanser	151	43 (28.47)	108 (71.52)	37 (24.50)	42 (27.81)	29 (19.20)
Sekonder Adeno kanser	51	15 (29.41)	36 (70.58)	8 (15.68)	17 (33.33)	11 (21.56)

Çizelge 3.2. Akciğer adeno kanser hücrelerinin sitokeratin 7 ile boyama sonuçları

Çizelge 3.3.'de de primer ve sekonder adeno kanserli hastalara ait materyallerin sitokeratin 8 (CK 8) ile boyandıklarında gözlenen değerler gösterilmiştir. Çizelge göre 144 primer adeno kanser teşhisi konulmuş hasta materyali boyama sonucunda %75.00'i pozitif reaksiyon göstermiştir. Bu sonucun % 29.86'nı + pozitif, % 35.41'ni ++ pozitif, % 9.72 'ni +++ pozitiflik değerler oluşturmuştur. Metastaz yapmış, sekonder adeno kanser grubunda ise 48 hastaya ait materyal kullanılmıştır. Bu materyallerin sitokeratin 8 ile verdikleri reaksiyon sonuçlarına göre; %22.91'i + pozitif, % 31.25 ++ pozitif, % 18.75'i +++ pozitif olmak üzere toplam %72.91 pozitif değerler gözlenmiştir.

CK 8 ile boyanan bronşial ve plevra örneklerinin boyanma sonuçlarında, negatif sonuçlar sırasıyla %25.00, %27.08; pozitif sonuçlar %75.00, %72.91 olmak üzere birbirine paralel bir durum gözlenmiştir. Her iki örnek grubunda da ++pozitif boyanma insidensi en yüksektir.

Sitokeratin 8	Olay (n)	Negatif n (%)	Pozitif n (%)	+n (%)	++n (%)	+++n (%)
Primer Adeno kanser	144	36 (25.00)	108 (75.00)	43 (29.86)	51 (35.41)	14 (9.72)
Sekonder Adeno kanser	48	13 (27.08)	35 (72.91)	11 (22,91)	15 (31.25)	9 (18.75)

Çizelge 3.3. Akciğer adeno kanser hücrelerinin sitokeratin 8 ile boyama sonuçları

4.TARTIŞMA VE SONUÇ

Akciğer karsinomları, hızlı ve agresif seyirleri ile tüm dünyada ölüm oranı bakımından kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer almaktadır. Akciğer kanseri tüm dünyada erkekler arasında en sık görülen ve en çok öldüren kanser türüdür. Kadınlarda ise ölümler arasında ikinci sırayı almaktadır. Bu özelliği ile sadece tıbbi bir ilgi odağı olmaktan çıkmış, halk sağlığını tehdit eden bir sorun haline dönüşmüştür. Bu nedenle akciğer karsinomlarının teşhis ve tedavisiyle ilgili çalışmalara her geçen gün yenisi eklenmektedir. Çalışmamızda ele aldığımız akciğer adeno kanserinde, diğer kanser tiplerinde de olduğu gibi tümörün tanı konulduğu evre çok önemlidir. Herhangi bir nedenle çekilen filmlerde solunum sisteminden şikayeti olmayan şahıslarda tesadüfi olarak akciğer kanseri ortaya çıkabilmektedir. Yani akciğer kanserinin klinik olarak kendini göstermesi uzun zaman alabilir. Bu nedenle akciğer kanserinin teşhisine yönelik çalışmalar giderek artmaktadır. Günümüzde birçok tanı yöntemi kullanılmaktadır. Fakat daha güvenilir ve hızlı bilgiler verdiği düşüncesiyle sitolojik ve immünolojik tanı yöntemleri daha çok tercih edilmektedir.

Çalışmamızda immünolojik tümör belirleyicilerinden sitokeratin 7, sitokeratin 8 ve alkalin fosfatazın, adeno kanser teşhisinde; sitopatolojik kriterlerle yapılan teşhisi ne derece desteklediği incelendi. Bu tümör belirleyicilerle, standart sitolojik kriterlerin teşhisteki değerlerinin karşılaştırması yapıldı. Primer ve sekonder akciğer adeno kanserlerinin sitopatolojik teşhisinde tümör belirleyicilerinin önemi araştırıldı.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre; sitokeratin 7, tümör belirleyicisinin sitolojik olarak 151 primer adeno kanser teşhisi konulmuş materyallerle yaptığımız boyama sonucunda 108 hastada pozitif boyama yaparak, yapılan teşhisi %71.52 oranında desteklediği görülmüştür. Çalışmada en yüksek %27.81 oranında ++ pozitif değerine rastlanmıştır.

Sitokeratin 7'nin sekonder adeno kanserlerde verdiği pozitif sonuç ise %70.58 oranıyla primer adeno kanserde bulunan %71.52 oranını destekleyici biçimde bulunmuştur. Bu grupta da en yüksek boyama %33.33'lük bir değerle ++ pozitif grubuna aittir.

Aynı çalışma sitokeratin 8 ile yapıldığında benzer sonuçlara rastlanmıştır. 144 primer adeno kanserli hastanın %75.00'de pozitif sonuçlar desteklenmiştir. Bu sonucu oluşturan değerler arasında, % 35.41 oranıyla ++ pozitif değeri en üst sırada yer almıştır.

Çalışmada, sekonder kanserlerde ise 48 hasta materyalinin; sitokeratin 8 ile yapılan boyamaları %72.91 oranında pozitif çıkmıştır. %31,25 'lik ++ pozitif değeri en yüksek oranda pozitif sonuç veren grup olarak tespit edilmiştir.

21 çeşit sitokeratin arasında kanser hücrelerinde ve çeşitli epitelyal hücrelerde en çok eksprese olan sitokeratin 8'dir. Sitokeratin 8 meme kanser hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilir. Fakat normal meme epitel hücrelerinde bulunmaz. Benzer olarak sitokeratin 8 küçük hücreli olmayan akciğer kanser hücrelerinin tümünde bulunduğu gösterilmiştir ^(59,60).

Dünyada yapılan birçok araştırmanın sonucunda olduğu gibi; çalışmamızın sonuçları da sitokeratin 7 ve sitokeratin 8'in adeno kanser belirleyicisi olduğunu göstermiştir. Bulgularımız literatürde yer alan diğer çalışmalarla da desteklenmiştir. Özellikle sitokeratin 7'nin, akciğer adeno kanserindeki ekspresyonunun yüzdesi ve boyanma şiddeti yüksek çıkmıştır (75).

Chieng ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada primer akciğer adeno kanserli hastalarına ait materyallerde yapılan sitokeratin 7 boyama sonuçları % 86 pozitif çıkmıştır. Fakat yine aynı çalışma da göstermiştir ki; akciğer primer ve sekonder adeno kanserlerin teşhisinde, tümör belirleyicilerinden hiçbiri tek başına yeterli değildir. Bu tümör belirleyiciler panel şeklinde kullanılırlarsa daha güvenilir sonuçlara ulaşılabileceği çalışmada belirtilmiştir (76).

V. Jeroma Marsen ve grubunun bir çalışmasında sitokeratin 7'nin primer adeno kanserdeki boyama yoğunluğuna dikkat çekilmiştir. Yaptıkları çalışmada adeno kanser örneklerinde %100 pozitif boyanma tespit edilmiştir.

M. J. Sack ve grubun yaptığı çalışma da akciğer adeno kanserinin teşhisinde sitokeratin 7'nin önemini araştırmıştır. Bu çalışmada sitokeratin 7 akciğer adeno kanser örneklerini pozitif boyadığı tespit edilmiştir (77).

Sitolojik olarak primer akciğer adeno kanseri teşhisi konulmuş 155 hastaya ait materyallerin alkalen fosfataz ile verdikleri reaksiyonda pozitif boyanan preparatlar % 75.48 oranındadır. Burada % 34.19 değeri ++ pozitif boyanan kanser preparatları, en yüksek boyanma grubunu oluşturmaktadır.

1968 yılında Fishman serum ALP seviyesi çok yüksek olan bir bronkojenik kanserli hastanın tümöral dokusunun, ALP ihtiva ettiğini görmüş ve serumdaki enzimin bu dokudan dolaşıma geçtiğini gözlemiştir. Bu bilgilerin ışığında birçok araştırmacı ALP'nin yararlı bir tümör belirleyicisi olabileceği üzerinde çalışmalar yapmıştır ^(63,68).

Plevrada metastaz yapmış adeno kanser preparatları alkalin fosfataz ile boyandıklarında, primer adeno kanserli preparatlardaki pozitif boyanma sonucuna yakın bir değer elde edilmiştir. Sayı ile ifade edilecek olursa %74.19 pozitif değerini, diğer boyamalarda da olduğu gibi %38,70 değeri ile ++pozitif boyanan grup oluşturmuştur.

İnsanda alkalin fosfataz enzimleri; karaciğer, bağırsak, kemik ve plasentadan salgılanan enzimler olmak üzere dört ana grupta toplanmaktadır. Plasentadan salgılanan alkalin fosfataz (PALP) seviyesinin gebe kadınlarda ve sigara içenlerde oldukça yükseldiği gözlenmiştir. Fishman çalışmalarında bronşial karsinomlu hastalarda da bu enzimin oldukça yükseldiğini belirtmiştir ⁽⁷⁸⁾.

Muensh ve arkadaşları PALP seviyesinin 286 kanserli hastanın %23'ünde yüksek olduğunu göstermiştir. Ayrıca PALP seviyesinin kolon kanserli hastaların %54'ünde, akciğer kanserli hastaların %40'ında, ovaryal kanserli hastaların %44'ünde yüksek olduğunu belirtmiştir ⁽⁷⁹⁾. Başka bir çalışmada da meme kanserli hastaların %30-40'ında PALP seviyesinin yükseldiği bildirilmiştir ⁽⁸⁰⁾.

Çalışmamızda kullanılan tümör belirleyicilerinin, akciğer adeno ve sekonder adeno kanserin teşhisinde literatürdeki çalışmalarda da belirtildiği

gibi önemli bir yüzdeye sahip olduğu gösterilmiştir. Tümör belirleyicilerle yapılan boyama sonuçları immünohistokimyasal ve sitokimyasal metodların, primer ve sekonder akciğer adeno kanserin teşhisinde çok önemli olduğunu göstermektedir. Akciğer kanseri tedavisinde erken teşhisin yararı düşünüldüğünde, bu yöntemlerin önemi daha iyi anlaşılacaktır.

Sonuç olarak çalışmamızda kanserli hücrelerin alkalen fosfataz, sitokeratin 7 ve sitokeratin 8 ile boyadıklarında primer akciğer adeno kanserini teşhis ettikleri görülmüştür. Sekonder adeno kanser hücrelerinin de yine aynı metodlarla teşhis edildiği bulgularımızda yer almaktadır. Primer adeno kanserli hücreler alkalen fosfataz ile, % 75.48, sitokeratin 7 ile % 71,52, sitokeratin 8 ile boyadıklarında %75.00 pozitif sonuçlar vermiştir. Sekonder adeno kanserlerde ise alkalen fosfataz ile % 74.19, sitokeratin 7 ile % 70.58, sitokeratin 8 ile boyadıklarında % 72.91 pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Bu bilgiler akciğer adeno kanserin sitolojik teşhisini, alkalen fosfataz, sitokeratin 7 ve sitokeratin 8'in etkili bir biçimde desteklediğini göstermiştir. Akciğer kanserli hastalarda sitokeratin 7-8 ve alkalen fosfatazın yükseldiği literatürdeki bilgilerde mevcuttur. Bu tümör belirleyicilerin rutin olarak kullanılması, akciğer adeno kanserinin erken teşhisinde, sitolojik teşhis yöntemi ile birlikte kullanıldığında oldukça etkili olabilir. Tümör belirleyicilerle teşhis çalışmaları, hastalığın tedavisinde zaman kazandıracağı gibi hastaların maddi, manevi kayıplarını da azaltacaktır. Alkalen fosfataz, sitokeratin 7 ve sitokeratin 8'in akciğer adeno kanserinin teşhisine sağlayacağı yarar, vakit geçirilmeden başlanması gereken tedavisine yol göstermesi bakımından da oldukça önemlidir.

KAYNAKLAR

1. J. C. Nesbit, J. S. Lee, R. Komaki, J. C. Roth, Cancer of the lung; in Holland JF, Bast RC, Morton DL, Frei E , Kufe DW, Weichselbaum RR (eds): Cancer Medicine. Baltimore: Williams & Wilkins; 4th ed. 1723-1803,1997.
2. D. N. Carney, Lung cancer: time to move on from chemotrapy. N Eng J Med **346**,126-128(2002).
3. D. M. Parkin, Global cancer statictics in the year 2000. Lancet Oncol; **2**,533-543(2001).
4. T. S. Kline, Handbook of fine needle aspration biopsy cytology. 2 nd ed. Churchill Livingstone; New York,1988.
5. W. W. Johnston, C. E. Elson. Respiratory tract. In: Bibbo M. ed. Comprehensive Cytopathology. Philadelphia: WB Saunders; 320-398(1991).
6. W. R. Ruddon (ed): Cancer Biology. 3rd ed. Oxford University Pres, New York,1995.
7. E. Therman (ed): Human Chromosomes: Structure, Behaviour Effects. 2 nd ed. Springer-Verlag, New York, 1986.
8. F. G. Hess, E. M. Mc Dowell, B. F. Trump, Pulmonary cytology current status of cytologic typing of respiratory track tumors. Am. J. Pathol **103**, 323-333(1981).
9. C. Percy, L. Sabin, Surveillance epidemiology and end results: lung cancer data appliied to the WHO's classification of lung tumors. J. Natl. Cancer inst.**70**, 633(1983).

10. A. L. Frank, The epidemiology and etiology of lung cancer. Clin.Chest med. **3**.219 (1982).
11. U. Hacıhanefioğlu, Akciğer patolojisi ders kitabı. İstanbul Tıp F Fakóltesi yayınları, İstanbul, 289-329,1979.
12. W. S. Jacob, C. A. Francone, W. J. Lossow, Structure and Function in Man. W.B. Saunders company. 452,1982.
13. R. Altman, M. J. Sarg, (eds): The Cancer Dictionary: Facts on File, New York, 1992.
14. Kanser Bildirimlerinin Değerlendirilmesi, 1991-1992. TC Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Daire Başkanlığı, yayın no: 552 Ankara, 1994.
15. I. Magrath, J. Litvak, Cancer in developing countries: Opportunity and challenge. J Natl Cancer Inst, 85, 862(1993).
16. G. Pershagen, G. Akerblom, O. Axelson, Residential radon exposure and lung cancer in Sweden. N Engl J Med, 330, 159(1994).
17. H. Dosaka-Akita, F. Hommura, H. Fujita, I. Kinoshita, M. Nishi, T. Morikawa, H. Katoh, Y. Kawakami, N. Kuzumaki, Frequent loss of gelsolin expression in non-small cell lung cancers of heavy smokers. Cancer Res., **58**,322-327(1998).
18. K. Eguchi, Y. Kanai, K. Kobayashi, S. Hirohashi, DNA hypermethylation at the D17S5 lokus in non-small cell lung cancers: its association with smoking history. Cancer Res., **57**, 4913-4915(1997).
19. S. V. Sodgson, E. R. Maher, (eds) A Practical Guide to Human Cancer Genetics. Cambridge, Cambridge University Press, 1993.

20. B. E. Johnson, Molecular biology of lung cancer. In Mendelsohn, H., Israel, Liotta (eds) The Molecular Basis of Cancer, Philadelphia: Saunders Comp., 317-339, 1995.
21. G. Sozzi, L. Sard, L. De Gregorio, A. Marchetti, K. Musso, F. Butitta, S. Torielli, Association between cigarette smoking and FHIT gene alterations in lung cancer. Cancer Res., **57**, 2121-2123(1997).
22. T. V. Colby, M. N. Koss, W. D. Travis, In Atlas of tumor pathology 3rd eds. Washington DC: AFIP, 1995.
23. W. D. Travis, T. V. Colby, Histological typing of lung and pleural tumors 3rd eds. Geneva: World Health Organization, 1999.
24. V.J. Marson, J. Mazieres, Expression of TTF-1 and cytokeratins in primary & secondary epithelial lung tumors correlation with histological type & grade, Histopathology **45**,125-134(2004).
25. National Research Council. Environmental tobacco smoke, Washington, DC: National Academy Press, 1986
26. M. J. Kissane, Anderson's pathology, vol. 1, 917-926, St Louis, Toronto. Princeton, 1985.
27. E. L. Wynder, E. A. Graham, A. B. Craninger, Cancer Res. **13**, 655 (1953).
28. A Akkoçoğlu, C Öztürk, Akciğer Kanserinde Multidisipliner Yaklaşım. Toraks Kitapları Sayı: 1 Bilimsel Tıp Yayınevi: Ankara, 1999.
29. A Ursavaş, Akciğer Kanserleri, Akciğer Hastalıkları El Kitabı (ed: Nihat Özyardımcı), Cilt: 2, Bursa, Uludağ Üniversitesi Basımevi, S:456-492, 2001.
30. K.M. Lynch, W.A. Smith, Pulmonary Asbestosis: Carcinoma of lung asbestosilicosis . Am J Can **24**,56-64(1935).

31. H. Seidman, J.Slikoff, E. C. Hammond, Short- term asbestos work exposure and long term observation. Ann NY Acad Sci **330**, 61-89(1979)
32. N. Özyardımcı, Primer Bronş Kanseri Non Spesifik Akciğer Hastalıkları Cilt:2, Bursa, Uludağ Üniversitesi Basımevi, S:783-746,1999.
33. R. Aydilek, E. Kunter, Akciğer Kanseri, İstanbul, 1995.
34. P.C. Hoffman, A.M. Maurer. Lung cancer. Lancet, **355**,479-485(2000).
35. G. Sterrett, D. Whitaker, J. Glancy. Fine-needle aspiration of lung, mediastinum, and chest wall. A clinicopathologic exercise. Pathol Ann ; **11**,209-250(1982)
36. T.R. Devereux, J.A. Taylor, J.C. Barrett, Molecular Mechanisms of lung cancer, interaction of enviromental and genetic factors. Giles F. Filly Lecture, Session 2, Thomas L. Petty 38 th Annual Apsen Lung Conference, Chest, **109**,15-19(1996).
37. G. Sterrett, F. Frost, D. Whithaker. Tumors of the lung and mediastinum. In: W. Gray, GT McKee, eds. Diagnostic Cytopatology. 2nd ed. Churchill Livingstone; New York: p.71-131, 2003.
38. B. K. Goldberg, J. C. Healy, J. W. Bishop, The cost of diagnosis: A comparison of four different strategies in the workup of solitary radiographic lung lesion. Chest, **111**,870-876(1997).
39. C.C. Raab, J. Hornberger, T. Raffin, The importance of sputum cytology in the diagnosis of lung cancer: a cost-effectiveness analysis. Chest, **112**, 937-945(1997).
40. W. J. Mooj, Common lung cancers. In: Hasleton PS, ed. Spencer's Pathology of the Lung. New York: MacGraw-Hill; 5th ed. 1009-1064(1996).

41. E.K. Risse, G.P. Vooijs, M.A. van't Hof, Relationship between the cellular composition of sputum and the cytologic diagnosis of lung cancer. *Acta Cytol*, **31**,170-176(1987).
42. D. Carter, B. R. Marsh, R. Baker, Y. S. Erozan, J. K. Frost, Relationships of morphology to clinical presentation in ten cases of early squamous cell carcinoma of the lung. *Cancer* **37**,1389-1396(1976).
43. H. Levy, D. A. Horak, M. I. Lewis, The value of bronchial washings and bronchoalveolar lavage in the diagnosis of lymphangitic carcinomatosis. *Chest*; **94**,1028-1030(1988).
44. J. Linder, S.J. Radio, R.A. Robbins, M. Ghafouri, S.I. Rennard, Bronchoalveolar lavage in the cytologic diagnosis of carcinoma of the lungs. *Acta Cytol* **31**,796-801(1987)
45. B. F. Atkinson, J. F. Silverman, Respiratory cytology. In: Atkinson BF, ed. Atlas of diagnostic cytopathology. Philadelphia: WB Saunders; 137-193 1992.
46. M. Blumenfeld, M. Singer, S. Glanz, M. Hon, Fine needle aspiration as the initial diagnostic modality in malignant lung disease. *Diagn Cytopathol* **14**,268-272(1996).
47. H. K. Kim, B.K Shin, S. J. Cho, J.S. Moon , M.K. Kim, C.Y. Kim, K.H. In, Y.H. Oh, E.Y. Kang, S.H. Park, I. Kim. Transthoracic fine needle aspiration and core biopsy of pulmonary lesions. A study of 296 patients. *Acta Cytol* **46**,1061-1068(2002).
48. R. J. Zarbo, C. M. Fenoglio-Preiser, Interinstitutional database for comparison of performance in lung fine needle aspiration cytology. *Arch Pathol Lab Med* **116**,463-470(1992).

49. R. Juan, Ackerman's Surgical Pathology. 7th edition. The C.V. Mosby company USA, 1989.
50. L. Kreyberg, A. A. Liebow, E. A. Uehlinger, Histological Typing of Lung Tumours. World Health organization (international Histological Classification of Tumors No: 1) 2nd ed. Geneva 1981.
51. R. Yesner, D. Carter, Pathology of the carcinoma of the lung. Changing patterns. Clin Chest Med **3**, 257-289(1982).
52. R. S. Fontana, D. T. Carr, L. B. Woolner, F. K. Miller, An evaluation of methods of inducing sputum production in patients with suspected cancer of the lung. Proc staff meet mayo clin. 113-121(1962).
53. N. S. Wang, T. A. Seemayer, M. N. Ahmet, J. Knaack, Giant cell carcinoma of the Lung A Light and electron microscopic study, Hum. Pathol. **7**, 3-16(1976).
54. A. Churg, Tumors of the Lung. In, W. Thurlbeck, Ed. Pathology of the Lung. New York, Thieme Medical Publishers, 311-423(1998).
55. R. Moll, A. Löwe, J. Laufer, W. W. Franke, Cytokeratin 20 in human carcinomas: A new diagnostic marker detected by monoclonal antibodies. Am Pathol **140**, 427-447(1992).
56. F. C. S. Ramaekers, A. Huysmans, G. Schaart, Tissue distribution of keratin 7 as monitored by a monoclonal antibody. Exp Cell Res **170**, 235-289(1987).
57. R. Moll, T. Achtstaetter, E. Becht, Cytokeratins in normal and malignant transitional epithelium. Maintenance of expression of urothelial differentiation features in transitional cell carcinomas and bladder carcinoma cell culture lines. Am J Pathol, **132**, 123-144(1988).

58. R. Moll, R. Levy, B. Czernobilsky, Cytokeratins of normal epitelia and some neoplasm of the female genital tract. Lab Invest; **49**,599-610(1983).
59. G. A. Blobel, R. Moll, W. W. Franke, I. Vogt-Moykopf, Cytokeratins in normal lung and lung carcinomas: adenocarcinomas, squamous carcinomas and culture cell lines. Virchows Arch (Cell Pathol), **45**, 409-429(1984).
60. N. Pendleton, N. L. Occleston, M. J. Walshaw, Simple cytokeratins in the serum of patients with lung cancer:relationship to cell death. Eur J Cancer, **30A**, 507-525(1996).
61. R. Moll, W. W. Franke, D. L. Schller, The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumours and cultured cells. Cell, **31**,11-24(1982).
62. O. Seber, Bronş kanserlerinde Bronş-Lavaj Alkalen fosfataz düzeylerinin tanı değeri. GATA Bülteni, **26**,579-586(1984).
63. W. R. Timperley, Alkaline phosphatase secreting tumour of lung. The Lancet. **10**,356(1968).
64. P. I. Tartter, G. Slater, I. Gelernt, A. H. Aufses, Screening for liver metastases from colorectal cancer with carcinoembryonic antigen and alkaline phosphatase. Ann. Surg., **193**,3, 357-360(1981).
65. B. Aydınol, Alkalen Fosfatazların çoklu yapıları; genetik ifade edilmeleri ve doku özel modifikasyonu. Çeviri. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, **14/1**, 327-381(1987).
66. H. Akız, S. Çolakoğlu, İ. Karayaylalı, T. Tetiker, O. Akın, Y. Ergün, Karaciğer hastalıklarında Gamma glutamil transpeptidaz ile Alkalen Fosfataz korelasyonu. Ç.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi, **4**, 434-438(1990).

67. L. Bentouati, M. B. Samadi, H. Hachem, M. Hazma, P. Canal, G. Soula, Hyperphosphatasemia related to three intestinal Alkaline phosphatase isoforms: Biochemical study. Clin Chem Acta, **189**,145-152(1990).
68. B. Gözen, Aktinomisın D'nin civciv embriyosu üzerine olan etkilerin incelenmesi. Doktora Tezi Çukurova Üniversitesi, Adana,1982.
69. B. A. Hamilton, K. Hawrylak, R. A. Stinson, Alkaline phosphatase releasing activity in human tissues. Clin. Chim. Acta,**186**, 249-254(1989).
70. E. E. Kim, .H. W. Wyckoff, Structure of Alkaline phosphatases. Clin. Chim. Acta. **186**,175-188(1989).
71. H. Haris, The Human Alkaline Posphatases: What we know and what we don't know. Clin Chim Acta, **186**:133-150(1989).
72. M. Yenson, İnsan Biyokimyası. Beşinci Baskı, İstanbul Üniv. Yayınları, İstanbul, **150**,388,675(1984).
73. K. Hirand, I. Koyama ,T. Stigbrand, Purification and partial characterization of the placental-like alkaline phosphatase in human lung tissue. Clin Chim Acta, **186**: 265-274(1989).
74. M. Viot, A. Thyss, M. Schneider, G. Viot, A. Ramaioli, P. Cambon, C. M. Lalanne, Alpha 1-isoenzyme of Alkaline Phosphatases. Cancer. **52**,140-145(1983).
75. V. M. Jeroma, J. Groussard, O. Garcia, O. Berjaud, M. Dahan, P. Carles, G. Daste, Expression of TTF-1 and cytokeratins in primary and secondary epithelial lung tumors: correlation with histological type and grade, Histopathology **45**, 125-134(2004).
76. D. C. Chhieng, J. F. Cangiarella, M. F. Zakowski, S. Goswami, J. M. Cohen, H. T. Yee, Use of Thyroid Transcription Factor 1, PE-10, and

Cytokeratins 7 and 20 in Discriminating between primary lung carcinomas and metastatic lesions in fine-needle aspiration biopsy specimens, *Cancer Cytopathology*, **93**,330-336(2001).

77. M. J. Sack, A. R. Shelley, Cytokeratins 20 and 7 in the differential diagnosis of metastatic carcinoma in cytologic specimens, *16, 2*, 132-136(1997).

78. K. L. Sean, J. Matthew, M.H.S. Desrochers, J. L. Daniel, Expression of thyroid transcription factor-1, cytokeratin 7, and cytokeratin 20 in bronchioloalveolar carcinomas: an immunohistochemical evaluation of 67 cases, *Mod Pathol*, **15** (5):538-542(2002).

79. H. A. Muensch, W. C. Maslow, F. Azama, M. Bertrand, Placental-like alkaline phosphatase, *Cancer*, **58**, 1689-1694(1986).

80. A. Ben-Arie Z. Hagay, H. Ben-Hur, M. Open, R. Dgani, Elevated serum alkaline phosphatase may enable early diagnosis of ovarian cancer *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* **86**, 69-71(1999).