**T.C.**

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

# AKCİĞER VE ÖZEFAGUS KANSERLERİNDE ERCC–1 EXPRESYONUNUN ARAŞTIRILMASI

**Dr. Nurhan BİLEN**

**Tez Yöneticisi:**

**Prof. Dr. Salim Başol TEKİN**

**Erzurum – 2011**

**İÇİNDEKİLER** II
**ONAY** III
**ÖZET** IV
**SUMMARY** V
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Özefagus Kanserleri 3
2.1.1. Epidemiyoloji 4
2.1.2. Etiyoloji 6
2.1.3. Klinik 7
2.1.4. Moleküler Biyoloji 7
2.1.5. Patoloji 8
2.1.6.Tanı ve Evrelendirme 8
2.1.7. Özefagus Kanserinde Prognostik Faktörler 10
2.2 Akciğer Kanseri 12
2.2.1 Epidemiyoloji 12
2.2.2. Etiyoloji 13
2.2.3. Klinik 13
2.2.4. Moleküler Biyoloji 15
2.2.5. Tanı ve Evrelendirme 17
2.2.6. Akciğer Kanserinde Prognostik Faktörler 21
2.3 ERCC1 GENİ 22
3. GEREÇ VE YÖNTEM 25
4. BULGULAR 32
5. TARTIŞMA 36
6. SONUÇ ve ÖNERİLER 46
7. KAYNAKLAR 47

## ONAY

"Akciğer ve özefagus kanserlerinde ercc–1 expresyonunun araştırılması" konulu tez çalışması Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD Başkanlığı'nın 13.01.2009 tarih 01 no'lu oturumunun III no'lu bendi, Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Kurulu'nun 23.07.2009 tarihli 5 sayılı oturumunun 100 no'lu kararı ve Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'nın 26.06.2009 tarihli 06 sayılı oturumunun 207 no'lu kararı ile Prof. Dr. Salim Başol TEKİN denetiminde Araştırma Görevlisi Dr. Nurhan BİLEN tarafından tez olarak çalışılması uygun görülmüş ve onay verilmiştir.

## AKCİĞER VE ÖZEFAGUS KANSERLERİNDE ERCC–1 EXPRESYONUNUN ARAŞTIRILMASI


### ÖZET

Akciğer kanseri ve özefagus kanseri yüksek insidansları ve mortaliteleri nedeniyle gelişmiş ve gelişmekte olan toplumlarda dünya genelinde kansere bağlı ölümlerde ilk sıralarda yer almaktadırlar. Gelişmekte olan tıbbi tedavi yöntemlerine rağmen akciğer kanserinde 5 yıllık mortalite % 85-90 iken, bu oran özefagus kanserinde daha da yüksektir. Her iki kanser tipinin tedavisinde platin bazlı kemoterapi rejimleri sıklıkla kullanılmaktadır.

"Excision Repair Cross-Complementation Group 1"(ERCC1) enzimi yaşam için gerekli bir enzim olup DNA tamirinde temel proteinlerden bir tanesidir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ERCC1 over expresyonu platin bazlı kemoterapilere karşı direncin göstergesi olarak ortaya çıkmıştır. Bu çalışmada amacımız bölgemizdeki akciğer ve özefagus kanserli hastalarda ERCC1 expresyonunu incelemek ve elde edilen bu verilerle hastaların demografik özellikleri arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmaktır.

Bu çalışmaya Aralık 2009 ve Aralık 2010 tarihleri arasında Atatürk üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Medikal Onkoloji kliniğinde endoskopik, bronkoskopik veya tru-cut biyopsi yöntemlerinden herhangi biriyle tanı almış 20 özefagus kanseri ve 20 küçük hücre dışı akciğer kanseri (KHDAK) hastası dahil edildi. Hastalardan alınan biyopsi örneklerinin patolojik bloklarından elde edilen DNA'dan RT-PCR yöntemiyle ERCC1 ekspresyon seviyeleri ölçüldü. KHDAK ve özefagus kanserli hastalardaki ortalama ERCC1 ekspresyon seviyeleri sırasıyla 0,71±0,85 ve 0,62±0,78 idi. Her iki grupta da ERCC1 ekspresyonu % 15 hastada yüksek bulundu. Her iki grupta da ERCC1 ekspresyonu ile hastaların TNM evreleri, yaş, cinsiyet, hemoglobin, albumin ve WHO sınıflamarı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı.

Sonuç olarak, bölgemizdeki özefagus ve KHDAK hastalarında ERCC1 pozitifliğinin ( %15 ) oranı göz önüne alındığında, bu hastaların tedavi protokollerinin bireyselleştirilmesi ve prognozlarının daha iyi tahmin edilebilmesi açısından ERCC1 eskpresyonunun bakılmasının uygun olacağı düşünüldü.



**Anahtar kelimeler: ERCC1 ekspresyonu, Akciğer kanseri, Özefagus kanseri**

**INVESTIGATION OF ERCC1 EXPRESSION IN ESOPHAGEAL AND LUNG CANCER**


## SUMMARY

Both esophageal cancer and lung cancer are leading causes of cancer related mortality in developed and developing countries of overall world due to their high incidence and high mortality rates. Despite of developing medical treatment modalities, 5 year mortality of lung cancer is 85-90 % and this rate is even higher in esophageal cancer. Platinium based chemotherapy regimens are commonly used in both of cancer type.

"Excision Repair Cross-Complementation Group 1" (ERCC1) gene is essential for life and it is a one of the basic protein that involved in DNA repair. Over expression of ERCC1, is came acrossed as an indicator of resistance to platinium based therapies in some newly reported studies. In this study we aimed to investigate overexpression of ERCC1 in lung and esophageal cancer patients and to findout is there any relation between ERCC1 overexpression and demographic parameters of our patients.

In this study, we included 20 esophageal and 20 non-small cell lung cancer (NSCLC) patients who diagnosed in Atatürk University Medical Facultiy, Department of Internal Medicine Divison of Medical oncology, between December 2009 and December 2011. ERCC1 expression was examined by RT-PCR technique from mRNA that extracted from parafin embedded pathological biopsy specimens. ERCC1 expression levels of NSCLC and esophageal cancer were 0,71±0,85 and 0,62±0,78 accordingly. ERCC1 over expression was detected in 15 % of both esophageal and NSCLC patients. There was no statistically significant relation between ERCC1 expression level and TNM stage, WHO classification, age, gender, albumine level, hemoglobulin level of the patients.

In conclusion, ERCC1 over expression rate of our NSCLC and esophageal cancer patients is 15 %. If we consider this rate, in order to personalise treatment protocols and to beter predict prognosis of these patients, detection of ERCC1 expression is proper.



**Key words: ERCC1 Expression, Lung Cancer, Esophageal Cancer**

# 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser hastalarına uygulanan medikal tedavilerde hastanın en fazla fayda göreceği kemoterapi protokolünün belirlenmesi "hedeflenmiş tedavi" veya "kişiselleştirilmiş tedavi" protokollerinin belirlenmesi onkoloji alanındaki en güncel ve üzerinde en çok kafa yorulan meselelerden birisi haline gelmiştir. Bu şekilde yapılan araştırmalara verilecek en iyi örnek, kronik myeloid lösemide % 85'e varan remisyon sağlayan trozin kinaz inhibitörleridir.

Akciğer kanseri (% 75' inden fazlası küçük hücre dışı akciğer kanseri olarak sınıflandırılmaktadır) çoğu endüstrileşmiş ülkelerde kanser ile ilişkili ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Ne yazık ki evre I düzeyinde yakalanıp cerrahi uygulanan hastaların dahi % 33'ü 5 yıl içerisinde kaybedilmektedir. Bu nedenle cerrahi uygulanan hastaların da bir çoğu platin bazlı kemoterapi rejimleri ile tedavi edilmektedir. Platin bazlı (cisplatin, carboplatin, oxaloplatin) kemoterapiler etkin olmakla birlikte pek çok yan etkiye de neden olmaktadırlar. Dolayısıyla adjuvan cisplatin tedavisi ideal olarak bakıldığında sadece ilaçtan fayda görecek hastalara verilmelidir.

Amerika Birleşik Devletlerinde yılda ortalama 14.000 yeni özefagus kanseri teşhis edilmekte olup bu hastaların yıllık sürveyi yaklaşık % 10 civarındadır. Küratif tedavi planlanarak cerrahi uygulanan hastaların da sürveyleri sınırlı olup 2 yıllık sürveyleri % 20–30 civarındadır [1]. Özefagus kanserinin radyoterapi olsun veya olmasın neoadjuvan kemoterapi sonuçları ile ilgili çelişkili sonuçlar bulunmakta olup bu durum muhtemelen kemoterapide hasta ve ilaç seçimlerindeki uyumsuzluklardan kaynaklanmaktadır. Son zamanlarda kemoterapi ve radyoterapi ile daha başarılı sonuçlar alınsa da hangi hastada nasıl yanıt alınacağı konusu hala belirsizliğini korumaktadır. Özefagus kanserlerinde en sık uygulanan kemoterapötiklere karşı direnç mekanizmalarının bir kısmı bazı moleküler markerların over expressyonu ile ilişkilendirildi. Bu moleküler markerlar günlük pratikte hali hazırda kullanılmamakla birlikte çalışma düzeyinde hastalara uygulanacak kemoterapilerin bireyselleştirilmesi için kullanılmaktadır.

"Excision Repair Cross-Complementation Group 1"(ERCC1) enzimi yaşam için gerekli bir enzim olup DNA tamirinde temel proteinlerden bir tanesidir.

ERCC1 hasar görmüş olan DNA zincirinin 5' ucunu kırarak bu işlemde hız sınırlayıcı basamağı oluşturmaktadır. Bazı çalışmalarda ERCC1 expresyonunun düşük olduğu gruplarda platin bazlı kemoterapi rejimlerinin expresyonunun yüksek olduğu gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde sürveyin arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmalar sonrasında ERCC1 over expresyonu platin bazlı kemoterapilere karşı direncin göstergesi olarak ortaya çıkmıştır. ERCC1 over expresyonu bu çalışmalarda immünhistokimyasal veya RT-PCR teknikleri ile gösterilmiştir [2,3].

ERCC1 expresyonunun düzeyi, akciğer ve özefagus kanseri, kemoterapinin surveye olan etkileri ile ilgili çeşitli ülkelerden çalışmalar bulunmakta ise de bu konu nispeten yeni ve az çalışılmış olup yapılan yorumlar küçük gurupları kapsamaktadır. Elde edilen verilerin genel geçer olarak uygulanabilmesi ve daha objektif kriterlerin elde edilebilmesi için bu konularda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada amacımız yeni tanı almış, kemoterapi uygulanmamış akciğer ve özefagus kanserli hastalarda platin bazlı kemoterapi şeçiminde yol gösterici olarak kullanılabilecek yeni bir protein olan ERCC1 expresyonunu incelemek ve elde edilen bu verilerle hastaların demografik özellikleri arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmaktır. Elde edeceğimiz sonuçlar daha sonraki yıllarda uygulanacak olan kemoterapi rejiminin belirlenmesinde yol gösterici olabilecektir.

# 2.GENEL BİLGİLER

## 2.1 ÖZEFAGUS KANSERİ

### 2.1.1. Epidemiyoloji

Özefagus kanseri geç belirti veren, özefagus boyunca hızla yayılan, hastaların hekime geç başvurduğu, çoğunluğu inkürabl dönemde teşhis edilen bir hastalıktır. Cerrahi tedaviyi takiben yaklaşık olarak % 12 ile 22 arasında 5 yıl sürvi bildirilmektedir [4]. Özefagus kanseri, tüm kanserler arasında 6. sıradadır ve tüm gastrointestinal sistem kanserlerinin % 5-7'sini oluşturur [5]. Dünya çapında heryıl 450.000'den fazla insanı etkilemektedir ve 380.000'den fazla ölüm gerçekleşmektedir[1]. Özefagus kanseri insidansı ülkeler arasında hatta ülke içindeki bölgeler arasında değişiklik gösterir. Özefagus kanseri yönünden yüksek riskli bölgeler Çin'den Kuzey İran'a uzanan ve batı ucunu bölgemizin oluşturduğu bir coğrafi kuşaktır. Çin'de yıllık insidans bölgelere göre 100 binde 20-700 iken Birleşik Devletler'de bu oran 3-4 dür [6,7]. Yüksek riskli Çin ile düşük riskli batı Afrika arasında görülme sıklığı bakımından 20- 100 kat fark vardır. İran'da Gonbat, Golestan ve Hazar Denizi kıyıları, Güney Afrika'da Transkei, Kuzey Çin'de özellikle Linxien eyaletinde, Rodezya, Türkmenistan, Kazakistan, Porto Riko, Hindistan'da Bombay, Singapur, Sri Lanka, Japonya, Kore insidansın belirgin şekilde yüksek olduğu bölgelerdir [8]. Ülkemizde de çeşitli bölgeler arasında farklı sıklıkta özefagus kanserine rastlanmakta ve en yüksek prevelansın 40-50/100.000 olarak Doğu Anadolu Bölgesi olduğu bildirilmektedir. [9]. Hastalık siyah ırkta beyazlardan daha yaygındır ve daha sıklıkla 50 yaş üstü ve düşük sosyoekonomik durum ile ilişkilendirilmiştir [10]. Nadir görüldüğü doğu Avrupa ülkelerinde erkeklerde 7 kat daha fazla görülürken, sık görüldüğü Asya ve Afrika'daki bölgelerde erkek/kadın oranı daha azdır. Dünyada yalnız İran'dan Türkmenistan'a kadar uzanan bölgede kadınlarda, erkeklerden daha fazla görülür [7,11].

Skuamoz hücreli kanser (SHK) ve adenokarsinom (AK) olmak uzere iki histolojik tipi vardır. Özefagus kanser insidansının yüksek olduğu doğu Asya ülkelerinde en yaygın kanseri tipini skuamöz hücreli kanserler oluştururken batılı ülkelerde ve Amerikada kanser tipi çoğunlukla adenokanserlerden oluşmaktadır [1].

### 2.1.2. Etiyoloji

Hastalığın insidansındaki bölgesel farklılıklarda yerel çevresel ve gıdasal karsinojenler rol oynar. Skuamoz hücreli kanser düşük ve orta gelir düzeyinde bulunan ülkelerde yaygındır ve özellikle tütün ve alkol kullanımıyla ilişkilendirilmektedir. Yüksek gelirli ülkelerde adenokarsinom giderek daha fazla önem kazanmakta, obezite ve kronik gastroözefagal reflüyle ilişkilidir [1]. Skuamoz hücreli özefagus kanseriyle ilgili ana risk faktörleri, farklı çalısmaların yüzde 75 ile 90 arasında hastalığa neden olduğu bulgusuna ulaştığı alkol ve tütün tüketimidir. Yemek borusu kanseri riski alkol ve tütün kullanımıyla birlikte hızlı bir biçimde artmaktadır ve bunlardan herhangi birisine ilişkin bir eşik etkisi bulunduğunu gösteren bir bulguya ulaşılamamıştır. Taze sebze ve meyve tüketiminin kuvvetli bir koruyucu etkiye sahip olduğu ve turunçgiller, yesil yapraklı sebzelerin diğer sebze ve meyve ailelerine kıyasla daha büyük kimyasal önleyici etkiye sahip oldukları yorumu yapılmıştır [1]. Özefagus kanserinin prevelansının yüksek olduğu bölgelerde yapılan çalışmalarda elde edilen risk faktörleri arasında ısınma ve yemek pişirme için organik içerikli hayvan artıklarının kullanılması, tütsülenmiş gıda tüketiminin yüksek oranda olması, alınan gıdalarda yüksek oranda tuz bulunması (salamura, tuzlu balık, kırsal kesimde nitrat ve nitrit içeriği yoğun kuyu suyu kullanılması), tütün, içeceklerinin sıcak tüketilmesi, tahıl gillerin sıcak hava deposu olmayan sağlıksız ortamlarda bekletilmesi sonucu üreyen mantarların ürettiği toksinler (mikotoksin, aflatoksin ve fumosin), yetersiz ağız ve diş hijyeni (düşük sosyoekonomik çevre), helikobacter pylori enfeksiyonu sık sayılan risk faktörleri arasındadır [1,5-7].

#### 2.1.2.1 Sigara, alkol kullanımı ve madde bağımlılıkları:

Batı ülkelerinde, özefagus kanserinin (özellikle SHK) en önemli sebebi sigara ve alkol kullanımıdır. Sigara kullanımı adenokarsinom riskini özellikle barret özefagusu olan hastalarda arttırmaktadır [12,13]. Alkolün etkisi tek başına oldukça az olup sigara ile birlikteliğinde özefagus kanseri riski doz ve süreye bağlı olarak çok yükselmektedir [14].

### 2.1.2.2 Gastroözefageal Reflü Hastalığı, Barret özefagusu

Gastroözefajial reflü hastalığı (GÖRH), gastrointestinal hastalıklar içerisinde hayat kalitesini etkileyen en yaygın hastalıktır [12]. Barret özefagusu (BÖ) ise GÖRH ile ilişkili bir komplikasyon olup, distal özefagus lümenini döşeyen çok katlı yassı epitelin intestinal kolumnar epitel ile döşenmesidir. Klasik tanımlanması, kolumnar epitelin gastroözefageal bileşkenin 3 cm yukarısına doğru uzanması olarak söylenebilir [15**].** 3 Histolojik tipi tanımlanmıstır:

1- Gastrik-fundik tip epitel

2- Gastrik-bileşke tip epitel

3- İntestinal tip epitel

Sadece intestinal tip BÖ'lu hastalarda AK'ya yatkınlık olduğu bilinmektedir [16]. Özefagus yüzeyini döşeyen çok katlı yassı epitel, kronik asit maruziyetine adaptasyon geliştirerek ikincil olarak iyi diferansiye metaplastik kolumnar epitele dönüşür [4]. Asit maruziyeti bu süreçte tek başına etkili olmayıp, beraberinde nitrik oksit gibi bileşiklerde sürece katkıda bulunmaktadır. Hastalık zemininde, öncelikli olarak displazi daha sonra da adenokarsinom gelisir. Sık görülmemekle birlikte BÖ, genellikle reflü özofajitlilerin % 10'u civarında meydana gelmektedir. Sıklıklada skuamo-kolumnar bileşkede striktur bulunur. BÖ'de kanser prevelansı % 10-64 civarındadır ve AK normal populasyondan 40 kez fazladır. Özefagus adenokanseri için GÖRH ve BÖ premalign lezyonlar olarak kabul edilmekle birlikte, GÖRH sık görülmekte (Batı toplumunda yaklaşık % 30) ve AK'lerin % 62'sinin BÖ'su zemininde geliştiği bilinmektedir [17]. GÖRH'nın neden az kısmında ve BÖ'nun ise bir kısmında kansere progresyon olduğu tam olarak bilinmemektedir.

### 2.1.2.3. Helicobacter Pylori enfeksiyonu:

Midede atrofik gastrik yaparak, mide asid salgısında azalma yapar ve özefagusun reflü yoluyla fazla mide asiditesine maruz kalmasını önleyerek adenokarsinom gelişme riskini azaltır. Bununla birlikte helicobakter pylori enfeksiyonunun özefagus skuamoz hücreli kanser riskini de aynı mekanizmalar nedeniyle arttırdığına dair veriler bulunmaktadır [18].

#### 2.1.2.4. Diyet ve beslenme:

Buğday, mısır ve pirinçten zengin, taze meyve ve sebzeden fakir diyet önemli risk oluşturmaktadır. A ve B vitaminleri özefagus mukozasında proliferasyonun kontrolünde rol oynarlar. Özellikle folik asit eksikliğinin kanser gelişiminde etkili olduğu bilinmektedir [19,20]. Özefagus kanserinin her iki histolojik tipinde de kolesterol ve satüre yağ asidlerinden zengin diyet riski arttırır, lifli gıdalar, C vitamini, beta-karoten ve folik asidden zengin diyet riski azaltır [21].

Değinilen belli başlı etiyolojik risk faktrölerinin dışında, özefagus kanseri ile ilişkilendirilmiş daha birçok risk faktörü bulunmaktadır. Bu risk faktrölerinden başlıcaları Tablo 1 'de verilmiştir [22].

**Tablo 1: Özefagus kanseri için risk faktörleri**

| |
|---|
| Sigara |
| Alkol |
| Barrett özefagusu (özefagial adenokarsinom için) |
| Gastroözefageal reflü hastalığı |
| Obezite |
| Kronik özefageal irritasyon |
| Akalazya |
| Kostik hasar |
| Mediastinal radyotherapi |
| Tylosis |
| Baş ve boyun kanseri |
| Helikobakter pylori enfensiyonu |

### 2.1.3. Klinik

Hastaların % 90'ında ilk semptom yutma güçlüğü ve kilo kaybıdır. Özefagus çevresinde seroza olmadığından dolayı kolayca genişleyebilmektedir. Disfaji, tümor özefagus çevresinin % 60'ından daha fazlasını tuttuğunda meydana gelir. Bu nedenle disfaji ileri dönem bulgusudur. Disfaji öncelikli olarak katı gıdalara karşı ortaya çıkmakla birlikte ileri dönemlerde sıvı gıdalara karşı da

gelişir. Hastaların yarısına yakınında odinofaji bulunur. Diğer belirti ve bulgular ise; regurjitasyon, epigastrik ağrı, hemoptizi, ses kısıklığı, hematemez, melena, trakeoözogaeal fistül, aspirasyon pnömonisi sayılabilir [23].

### 2.1.4. Moleküler Biyoloji

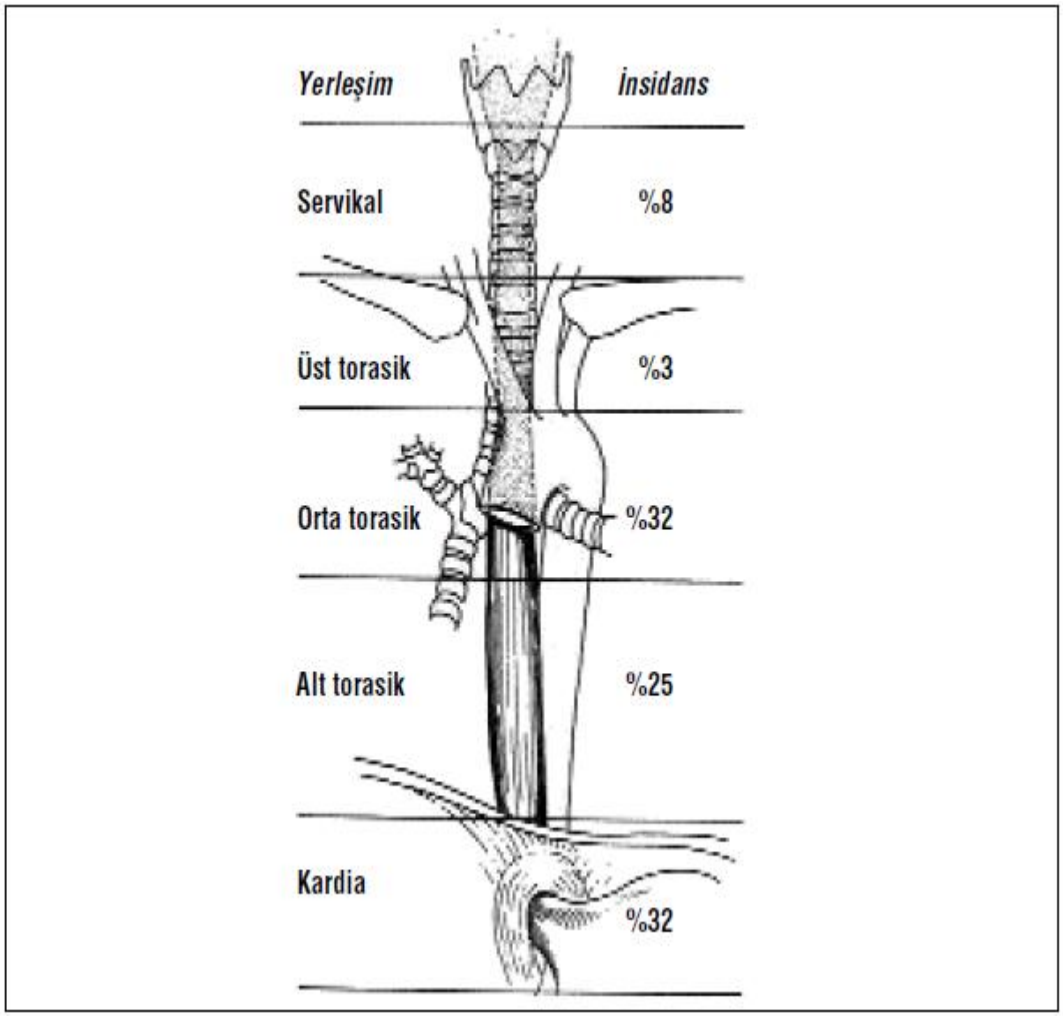
Özefagus kanseri gelişiminde bazı genetik hastalıkların ve gen polimorfizmlerinin önemli olduğu gösterilmistir. Tylozis ile birlikte seyreden palmoplantar keratozlu hastalarda SHK gelişebilmektedir. Bu hastalık otozomal dominant olarak geçer. Bu gen lokusu kromozom 17q25.1' te yerleşmistir. Tumor süpresör gen olarak bilinir. SHK'lu hastaların %70'inde bu gende delesyonlar olduğu gösterilmiştir [24**].**

Yapılan çalışmalarda son zamanlarda genetik polimorfizmler ile özefagus karsinogenezi arasında ilişki bulunmuştur. Bu genler; karsinogenezis, alkol ve folat metabolizması, DNA yenilenmesi ve hücre siklusu kontrol genleri ve onkogenlerdir. Bu genlerden; alkol metabolizmasında rol alan aldehid dehidrogenaz-2 ve alkol dehidrogenaz-2 geni, folat metabolizmasında rol alan metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) geni, hücre detoksifikasyonunda görevli glutatyon S transferaz (GST M1-T1) geni, sitokrom P 450 enzim aliesinde yer alan CYPA1 (Sitokrom P 450 A1) geni, DNA tamirinde görevli ERCC1 (Excision repair complementing factor 1), XRCC1 (X-ray repair cross complementary 1) ve XPD (Xeroderma pigmentosum complementary group D) genleri, tümor supresor gen ailesinden p53 geni ve onkogen ailesinden L-myc (Myelocytomatosis oncogene) geni ile özefagus kanseri arasında ilişki bulunmuştur [2,25].

### 2.1.5. Patoloji

SHK ve AK özefagus karsinomunun en çok görülen iki tipidir. SHK özefagus kanserinin en sık görülen tipidir (yaklaşık olarak % 95). Son yıllarda özellikle ABD ve Batı ülkelerinde bu oran değişmiş ve AK vakaları olguların % 55'sinde görülmeye başlanmıştır [1]. Özefagus kanseri genellikle özefagusun üst 2/3'ünde oluşur, multisentrik olma eğilimindedir, senkron tümör %25'inden fazlasında bulunur. Adenokarsinom en sık özefagusun alt 1/3'ü ve kardiada

bulunur. Adenokarsinomlar tanı konulduğunda invaziftirler, mültisentrik değildirler, proksimal submukozal ve distal subserozal yayılım sıktır. Melanom, granüler hücreli miyoblastom, lenfoma, leiyomiyosarkoma, fibrosarkoma, rabdomiyosarkoma ve lenfosarkoma gibi çok sayıda ender görülen tümörler de özefagusta görülebilen diğer tümörler arasında yeralırlar [4]. Özefagus ve kardia kanserleri servikal özefagusta % 8, üst torasik özefagusta % 3, orta torasik özefagusta % 32, alt torasik özefagusta % 25 ve kardiada % 32 oranında görülürler [26] (Şekil 1.).




**Şekil 1:Özefagus ve kardia tümörlerinin yerlesim yerine göre insidansları. Özçelik MF'den alınmıştır.**

### 2.1.6. Tanı ve Evrelendirme

Özefagus kanserinin tanısı ve evrelendirilmesinde detaylı anamnez ve fizik muayene eşliğinde çeşitli laboratuar ve görüntüleme teknikleri kullanılmaktadır.

Bunlar arasında direk grafiler, baryumlu pasaj grafiler, endoskopi, endosonografi, bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans görüntüleme, sintigrafi, pozitron emisyon tomografisi, kromoendoskopi, endositografi gibi yöntemler yer alır.

Tüm hastalarda ilk inceleme posteroanterior ve lateral göğüs grafileri ile özefagus pasaj grafileri çekilmesidir. Akciğerdeki pnömonik infiltrasyonlar, metastaz ve olası diğer patolojilerin tanıları akciğer grafileri ile konulmuş olur. Evrelemede katkısı olmasada özefagus pasaj grafisi lezyonun yeri ve birlikte olabilen özefagus patolojileri ile mide hakkında bilgi vermekte ve endoskopiste yol gösterici olup, lümen darlığı ile trakeoözefageal fistül varlığını ortaya koymaktadır [27].

Özefagusun lenfatik sistemi, balıkcı ağına benzer bir yapılanma göstermekte ve özellikle kanser daha lamina propria da iken dahi, vertikal yolu seçerek, kısa zamanda uzak organ ve lenf nodu metastazı yapabilme riskine sahiptir. Özefagus kanserinde erken tanı demek kanserin intraepitelyal evrede tanınması demektir. Lezyon submukozaya yayıldıktan sonra sağ kalım oranları hızla düşmektedir (% 80). Özefagus kanserlerinde hastalığın daha intraepitelyal dönemde iken yakalanması çok büyük önem arzeder [4].

Endoskopi eşliğinde yapılan biyopsi yüksek güvenilirlikte özefagus kanseri tanısını koyar. Bazı durumlarda tümörün submukozal yayılımı nedeniyle tanısal sonuç vermeyen biyopsilerle karşılaşılmaktadır. Bu durumlarda tekrarlayan biyopsiler gerekmektedir [27]

Erken evre özefagus kanserini teşhis edebilmek için önemli yöntemlerden biri de kromoendoskopik incelemedir. Bu inceleme de, lugol solusyonu ile boyama yapıldığında, erken özefagus kanseri negatif boyanma gösterir. Displastik alanlar olguların % 50'sinde ise pozitif boyanır. Displastik ve neoplastik alanlar, lugol solusyonun aksine, toluidin mavisi ile pozitif boyanma gösterir. Kromoendoskopi inceleme ile lezyonları intraepitelyal, muskularis mukoza ve submukozada yakalama şansı oldukça yüksektir [23].

Son zamanlarda kullanılmakta olan konfokal endositografi ve NBI (narrow imaging band) incelemesi de erken evre özefagus kanserinin tespitinde standart endoskopik incelemeye üstün olduğu gösterilmiş yeni bir yöntemdir [28]. Bu görüntüleme yöntemlerinin yanında, bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik

rezonans görünüleme (MRG) sık kullanılan diğer görüntüleme yöntemleridir. Metastazların değerlendirilmesinde sintigrafi ve pozitron emisyon tomografi kullanılabilir. Tümörün lokal ve mediastinal yayılımını değerlendirmede endosonografi eşliğine biyopsi, BT ve MRG'den üstündür [29].

Hastalığın evrelemesi tedavi seçimini etkileyeceğinden tanı sonrası mutlaka yapılmalıdır. Hastalarda lokal invazyon, lenfadenopati, muhtemel hepatik ve pulmoner metastazlar açısından abdomen ve göğüs tomografileri çekilmelidir. Uzak metastaz olmaması halinde lokal evreleme için endoskopik ultrasonografi eşliğinde biyopsi yapılmalıdır. Uzak organ metastası tespitinde PET BT, BT'den daha duyarlıdır [28].

Preoperatif yapılan evrelendirme kesin değildir ve intraoperatif evrelendirmede sınıf atlamalar görülebilir. Evrelendirmede TNM sistemi kullanılmaktadır (Tablo 2 ).

**Tablo 2 :Özefagus kanseri TNM sınıfalaması. Evreleme Özçelik MF' den alınmıstır**

**Primer Tümör**

TX Primer tümörün değerlendirilememesi
T0 Primer Tümörün belirtisi yok
TİS Karsinoma in situ
T1 Lamina Propria veya submukozaya invaze tümör
T2 Muskularis propriaya invaze ümör
T3 Adventisyaya invaze tümör
T4 Komsu yapılara invaze tümör

**Bölgesel Lenf Bezleri**

NX Bölgesel nodların değerlendirilememesi
N0 Bölgesel lenf bezi metastazı olmaması
N1 Bölgesel lenf bezi metastazı

**Uzak Metastaz**

M0 Uzak metastaz yok
M1 Uzak metastaz

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Evre 0** | TİS | N0 | M0 |
| **Evre 1** | T1 | N0 | M0 |
| | T2 | N0 | M0 |
| **Evre 2A** | T3 | N0 | M0 |
| | T1 | N0 | M0 |
| **Evre 2B** | T2 | N1 | M0 |
| | T3 | N1 | M0 |
| **Evre 3** | T4 Herhangi bir N | | M0 |
| **Evre 4** | Herhangi bir T Herhangi bir N M1 | | |

### 2.1.7. Özefagus Kanserinde Prognostik Faktörler

Özefagus kanseri erken lenfatik yayılımla ilerleyen agresif bir hastalıktır. Tanı ve tedavi yöntemlerindeki ilerlemeye rağmen, halen prognozu kötü olan bir hastalık konumundadır. Özefagus kanserinin prognostik risk faktörleri ile ilgili ortak bir kanı olmamakla birlikte üzerinde yoğunlaşılan parametreler bulunmaktadır. Bu parametreler arasında; hastaların karakteristik özellikleri (hastanın performans durumu, kilo kaybı, hemoglobin düzeyi), tümör yayılım düzeyi (TNM evresi, lenf nodlarına mikrometastaz varlığı, etkilenmiş olan lenf nodu oranı, ekstrakapsüler etkilenme), tümöre uygulanan radikal cerrahi (R0) veya kemoradyoterapiye alınan radyolojik ve endoskopik cevap. NF-kappa beta varlığı veya over ekspresyonu, p53 varlığı, ERCC1 ekspresyonu gibi bir çok moleküler

prognostik faktörde tanımlanmıştır. Bunların dışında erken dönemde PET-CT ile ölçülen tümörün glukoz alımındaki azalma da tedaviye cevap ve prognoz açısından önemli kriterler arasında sayılmaktadır [3,30,31].

## 2.2 AKCİĞER KANSERİ

### 2.2.1 Epidemiyoloji

Akciğer kanseri tüm dünyada, erkekler ve kadınlar arasında kanserden en sık ölüm nedenidir. Yılda yaklaşık 1-2 milyon insan dünya genelinde bu hastalıktan ölmektedir. Erkekler arasında görülen en yaygın 3 kanser; prostat kanseri, akciğer kanseri, kolon kanseri iken kadınlarda ise meme kanseri, akciğer kanseri ve kolon kanseri yaygın görülen kanserler arasında ilk 3 sırayı oluşturmaktadır. Tahmin edilen ölüm oranları 2007 de erkeklerde % 31 akciğer kanseri , % 9 prostat kanseri, % 9 kolon kanseri nedeniyledir. Kadınlarda % 26 akciğer kanseri, % 15 meme kanseri, % 10 kolon kanseri nedeniyledir. Akciğer kanserinden ölümler erkeklerde kadınlardan daha fazladır. Akciğer kanserinde görülen cinsiyet farklılığı giderek daralmaktadır. Bu durum sigara içme hikayesi ile ilişkilidir. Kadınlarda akciğer kanserinden ölüm, 1987'de önde gelen ölüm nedeni olan meme kanseri nedeniyle ölümleri aşmıştır [32].

Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı verilerine göre 1999 yılı istatistiklerinde akciğer kanseri insidansı erkeklerde 14/100000, kadınlarda 1/100000'dir. Bu verilere göre erkeklerde % 29 oranla ilk sırada yer alırken kadınlarda % 4 ile 6. sırada yer almaktadır. Kanser ölümleri içinde erkeklerde % 41,4 kadınlarda % 16,5 oranlarıyla her iki cinstede 1. sıradadır [33]. GlOBOCAN 2002, IARC (International Agency for Research on Cancer) tarafından üretilmiş olan ve tüm dünya için kanser görülüşü ile ilgili tahminlerin yer aldığı bir veri tabanıdır. Bu veri tabanına göre de erkeklerde kanser ölümlerinde akciğer kanseri % 47,4 ile ilk sırada yer alırken kadınlarda % 8,8 ile 2. sırada yer almaktadır [34].

### 2.2.2. Etiyoloji

Çevresel faktörler akciğer kanseri nedenlerinin büyük çoğunluğunu oluşturuyor olsa da solunumsal karsinojenlere bireysel yatkınlıkta etiyolojide önemlidir. Hastalık riski, etyolojik ajanlara maruziyet ve bu ajanlara bireysel

yatkınlığın ortak etkileri ile ortaya çıkan kümülatif bir sonuç olarak düşünülebilir. Akciğer kanserinin etyolojisi multifaktöriyel olup, risk faktörleri arasındaki sinerjistik etkileşim, riski artırmaktadır [35].

Akciğer kanserinin başlıca etyolojik nedeni sigaradır. Yaygın sigara içilen ülkelerde akciğer kanserinin yaklaşık % 90 nedeni sigaradır. Sigara içenlerle karşılaştırıldığında hiç sigara içmeyenlerde, akciğer kanseri riski 20 kat daha düşük bulunmuştur. Akciğer kanseri riski sigara içiciler arasında içme süresi ve günlük paket sayısıyla doğru orantılı olarak artar. Tütünün farklı sunumlarla (pipo ve puro gibi) içimi de akciğer kanserine neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar genel olarak sigarayı bıraktıktan sonra, tütün tipi, cinsiyet ve histolojik tipten bağımsız olarak akciğer kanseri riskinde benzer oranlarda azalmalar olduğunu göstermiştir [35].

Sigara dumanının inhalasyonu pasif sigara içiciliğidir. Günümüzde, ikinci el sigara içimi veya çevresel tütün maruziyeti şeklinde adlandırılmaktadır. Hiç sigara içmeyenler arasında görülen akciğer kanserlerinin yaklaşık % 25'nin pasif sigara içimi nedeni ile olduğu tahmin edilmektedir [35]. Metaanalizler ve derlemelerde de akciğer kanseri riskinin sigara içicilerle evli bireylerde % 25 arttığı, işyeri maruziyetiyle pasif sigara içicilerde ise % 17 arttığı bulunmuştur [36].

Akciğer kanserinin birçok histolojik alt tipi vardır. En sık görülen histolojik subtipler ise skuamöz hücreli karsinom (epidermoid), adenokarsinom, büyük hücreli karsinom ve küçük hücreli karsinomdur. Akciğer kanserlerinin histolojik tiplerinin görülme sıklıklarında önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Adenokarsinom oranları tüm ırk ve cinsiyetlerde önemli ölçüde artmıştır. Bu durumun sigara özelliğindeki değişiklikler ve tanısal tekniklerdeki ilerlemeler nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Sigaranın başlıca 4 histolojik tipe değişen oranlarda neden olduğu gösterilmiştir [35].

Sigara dumanına maruz kalan dokularda çeşitli morfolojik değişiklikler ve DNA hasarı meydana gelmektedir. Sigara dumanının karsinojenik etkisi, karsinojenlerin DNA'ya ulaşmasına, DNA'da hatalı kodlama ve mutasyon oluşturmasına bağlıdır. Sigara dumanındaki başlıca karsinojenler; polisiklik hidrokarbonlar, aromatik aminler, nitrozaminler, piridin alkaloidler ve radyoaktif bileşenlerdir. Bunların arasında olan nitrozamin 4-(metilnitrozamin)-1-(3 piridil)-1-butanon (NNK) en güçlü mutajen karsinojendir [37].

Sigaradaki karsinojen maddeler hem DNA'da doğrudan hasar oluşturabilirler, hem de enzimler tarafından aktif metabolitlerine dönüşerek etki gösterebilirler. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) dokuda ilk olarak fenol, dihidrodiol ve merkaptürik asitlere dönüşürler. Ara dioller ve fenol epoksitler, PAH'ın başlıca metabolitleri olup hücresel makromoleküllerle kovalent bağlar yaparlar ve DNA-hidrokarbon addüktlerini oluştururlar. Bu moleküllerin oranı karsinojenik aktivite ile orantılıdır. Addüktler oluştuktan sonra, DNA da nokta mutasyonlarına ve asenkron DNA replikasyonlarına neden olurlar. Bu değişiklikler gen amplifikasyonuna ve malign transformasyona yol açar. Gerek akciğer kanserli hastalarda gerekse sigara içicilerde, DNA addüktlerinin gelişimi gösterilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalarda sigarada bulunan kokarsinojenlerin (kendileri karsinojen olmayan ancak diğer maddelere karsinojen özellik kazandıran) ve tümör promotorlarının da (karsinojenezisi reversibl olarak potansiyelize eden ve kendileri karsinojen olmayan maddeler) kanser gelişiminde önemli rol oynadığı ortaya konmuştur [38].

Akciğer kanseri riskinin diyetlerinde yüksek miktarda sebze ve meyve tüketenlerde, düşük miktarda tüketenlere göre, daha az olma eğiliminde olduğu vaka kontrol ve prospektif kohort çalışmalarının sonuçları ile göstermiştir. Akciğer kanseri ile beta karoten arasında güçlü, vitamin C için ise, kanıt az olmakla birlikte, yine de koruyucu ilişki olduğu gösterilmiştir [39].

Mesleki maruziyetle ilişkili kanserler arasında akciğer kanseri en yaygın olandır. Endüstriyel ülkelerde akciğer kanseri yüküne bakıldığında, mesleki maruziyetin rolü sigaraya göre daha düşük olmakla birlikte diğer birçok maruziyetin katkısından büyüktür. Sigara içimi bazı mesleki akciğer karsinojenlerin etkisini artırır. Katran ve is (benzopren içerir) maruziyeti olanlarda akciğer kanseri riski artmıştır. Mesleki maruziyet arsenik, krom, nikel gibi akciğer kanserine neden olabilecek birçok metali de içerir. Birçok iş gurubunda bu metallere maruz kalınmaktadır [40].

Akciğer kanserine genetik yatkınlık olduğu uzun süredir bilinmektedir. Çevresel ajanlar, sigara içimi bile akciğer kanserinin nedenini tümüyle açıklamaz. Epidemiyolojik çalışmalar akciğer kanserinde genetik yatkınlığın da rolü olabileceğini desteklemektedir. Vaka kontrol ve kohort çalışmalarında ailesel

kümelenme gösterilmiştir [41]. Elli iki soyağacının incelenmesine dayanan analizde, kromozom 6q23-25 lokusunun akciğer kanserine major yatkınlıkla ilşikili olduğu belirtilmiştir [42]. Onkogenler, tümör süpresör genler ve DNA tamir kapasitesi sigara içenlerde yatkınlığı belirlemede diğer etkenlerdir. Tümör baskılayıcı bir gen olan p53'ün mutasyonları, KHAK'de % 90'dan fazla, KHDAK'de ise % 50'den fazla görülmektedir [35].

### 2.2.3. Klinik

Akciğer kanseri tanısı genellikle geç konulmaktadır. Tanıdaki gecikmeden büyük ölçüde pulmoner anatominin yapısı sorumludur. Pulmoner nodül, semptomlar gelişmeden önce önemli ölçüde büyüyebilmektedir. Hastaların çoğu tanı anında ilerlemiş hastalığa sahiptir ve bu hastaların yaklaşık % 80'i inoperabldır. Bu gözlemler akciğer kanserinde 5 yıllık mortalite oranlarının % 85-90 olmasını açıklamaktadır [43].

Öksürük, nefes darlığı, göğüs ağrısı ve hemoptizi primer tümörle ilgili olabilecek semptomlardır. Öksürük, akciğer kanserli hastalarda sık görülen bir semptomdur. Santral hava yollarındaki tümörler, postobstrüktif pnömoni, büyümüş lenf nodları öksürüğe neden olabilir. Nefes darlığı, özellikle ilerlemiş akciğer kanserli olgularda yaygın görülen bir semptomdur. Göğüs ağrısı sık görülen bir semptom olup, tümörün lokal veya metastatik yayılımına, tanısal işlem ve tedavinin toksik etkilerine bağlı olabilir. Hemoptizi de akciğer kanserinde sıklıkla karşılaşılan başlangıç semptomudur [44].

Akciğer kanserinin bazı semptom ve bulguları da tümörün direkt invazyonu yada lenfatikler yoluyla sinir, organ, diafragma ve göğüs duvarı tutulumu ile olmaktadır. Rekürren laringeal sinir felci nedeniyle oluşan ses kısıklığı, frenik sinir felcinde tutulan hemidiyafragmada yükseklik gözlenebilir. Süperior sulkus tümörülerinde C8 sinir kökleri, 1. ve 2. torasik sinir kökleri yaygın olarak infiltredir. Bu da ağrıya, ciltte ısı değişikliklerine ve kas yorgunluğuna neden olur. Sempatik zincirin tutulumuyla tek taraflı enoftalmi, pitozis, myozis, aynı tarafta yüz ve üst ekstremitede anhidrozisle karakterize Horner sendromuna neden olabilir. Yüz, boyun, göz kapaklarında ödem, ekstremite ve göğüsün üst bölümleri, omuz ve boyunda genişlemiş venler ile karakterize olan süperior vena cava obstrüksiyonu

küçük hücreli akciğer kanserinde daha sık görülmektedir. Göğüs duvarı ve plevral invazyon göğüs ağrısına neden olmaktadır ve ağrı genellikle künt vasıflıdır. Retrosternal ağrı, hiler ve mediastinal nodların tutulumuyla olabilmektedir. % 8-15 oranında plevral tutulum oluşabilir. Plevral sıvı birikimi göğüs ağrısı ve nefes darlığına neden olabilir [43-46].

Hastaların taklaşık 1/3'ünde uzak metastaz ile ilişkili semptomlar vardır. Akciğer kanserinin sık metastaz yaptığı yerler kemik, karaciğer, adrenal bezler, intraabdominal lenf nodları, beyin, spinal kord, skalen lenf nodları ve deridir. Akciğer kanseri en çok vertebralar, pelvis, kaburgalar ve femura metastaz yapmakla birlikte herhangibir kemiğe metastaz yapabilmektedir [46].

Tümörün kendisi ve metastazlarının dışında, kansere bağlı olarak gelişen bir grup belirti ve bulgu paraneoplastik sendromları oluşturmaktadır. Tümör hücrelerinden salınan polipeptid hormonlar, hormona benzer peptidler, antikorlar, immün kompleksler, prostoglandinler ya da sitokinler gibi ürünlerle oluşur. Paraneoplastik sendromlar, akciğer kanserli hastalarda % 10 oranında görülebilir. Bu sendromların tanınması, altta yatan akciğer kanserinin erken tanı ve tedavisine olanak sağlayabilir. Akciğer kanserinde görülen belli başlı paraneoplastik sendromlar; paratiroid hormona benzer aktivitenin artışına bağlı hiperkalsemi, uygunsuz antidüretik hormon salınımına bağlı hiponatremi, ektopik adrenokortikotrofik hormon üretimine bağlı olarak cushing sendromu, çomak parmak ve hipertrofik osteoartropati, Lambert - Eaton sendromu (LEMS), limbik ensefalopati, polinöropati, serebellar dejenerasyon, retinopati, opsoclonus-myoclonus ve otonomik nöropatiyi içeren nörolojik paraneoplastik sendromları içermektedir [47].

### 2.2.4. Moleküler Biyoloji

Akciğer kanserinin moleküler biyolojisindeki gelişmeler sonucunda son 20 yıl içerisinde belirli hasta gruplarında adjuvan tedavi, konvansiyonel sitotoksik kemoterapi, özel hedeflenmiş ajanların tedavide kullanımları gündeme gelmiştir [48]. Akciğer kanserinin biyolojik özelliklerinin daha iyi anlaşılmasının uygun tedavi seçeneklerinin oluşturulmasını ve tedavi öncesi prognozun daha iyi belirlenmesini sağlayacağı öngörülmektedir.

Ras ailesi H-ras, K-ras ve N-ras'tan oluşmakta, akciğer kanserinin gelişiminde nokta mutasyonu ile rol oynamaktadır. Küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinin (KHDAK) % 90-97'sinde K-ras mutasyonu saptanmaktadır. K-ras mutasyonu görülenlerde sağ kalımda azalma, erken nüks ve kötü prognoz görülmektedir [49]. Bir diğer onkogen olan myc geni sıklıkla amplifikasyon ve transkripsiyonel disregülasyon ile onkogen haline dönüşmektedir. KHAK'lerinin % 18-31'i, KHDAK'lerinin ise % 8-20'sinde myc aktivasyonu izlenmektedir. C-myc'nin, tümör büyüme hızında artış ve sağkalımda kısalma ile ilişkili olduğu öne sürülmektedir [50]. Tümör hücrelerini apopitozisden koruyan başlıca onkoprotein Bcl-2'dir. Bcl-2 ekspresyonu KHAK'lerinin % 70-90'ında gösterilmiştir. Bcl-2 salınımının kemosensitivite, uzun süreli sağkalım ile ilişkisi ortaya konulmuştur [51**].**

p53 onkogeni insan kanserlerinde en sık görülen mutant gen olup, 17p13 lokusunda yerleşiktir. KHAK'lerinin % 90'ında, epidermoid kanserin % 65'inde, büyük hücreli kanserin % 60'ında ve adeno kanserin % 33'ünde gösterilmiştir. p53 mutasyonları sigara içimi ile ilişkilidir ve mutasyonların çoğu sigara dumanındaki karsinojenlerin oluşturduğu G-T transversiyonudur [48].

Hatalı DNA'nın tamiri karsinogenez gelişiminden sorumlu önemli bir faktördür ve DNA tamiri normal hücre siklusunun devamı için esastır. DNA hasarının tamirinde sorumlu başlıca genler kromozom 3p üzerinde lokalizedir. Kromozom 3p kayıpları akciğer kanseri gelişimini 14 kat arttırmaktadır. Diğer DNA tamir genleri (ERCC1, XPO, XPF, XRCC3, XRCC1, RRM1) ile de artan sayıda çalışmalar yapılmaktadır [48].

### 2.2.5. Tanı ve Evrelendirme

Genel olarak akciğer kanserinde uygulanan tanısal işlemler: Semptom ve bulgular eşliğinde, fizik muayene, balgam sitolojisi, radyolojik görünüm, bronkoskopi, sintigrafik bulgular, transtorasik iğne aspirasyonu, torasentez, torakoskopi ve medistinoskopi gibi invaziv ve non-invaziv girişimlerden oluşur. Bu işlemlere kısaca değineceğiz.

Akciğer kanserli olguların büyük bir kısmı tanı konulduğunda ortalama %80'i (evre III, IV) ileri evrededir [44.]. Akciğer grafisi ve balgam sitolojisi kullanılarak risk grubu olgularda, erken tanı amacı ile taramalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda kontrol grubuna göre daha fazla sayıda olguda akciğer kanseri tanısı konmasına karşın mortalite oranlarında anlamlı fark bulunmamıştır [52,53]. Bu nedenle tarama amacı ile önerilmemekte ise de göğüs radyografisi akciğer kanserinin tanınmasında esas rolü oynamaktadır. Anormal akciğer grafisi asemptomatik hastalarda akciğer kanseri varlığını düşündüren ilk ipucu olmaktadır. Santral veya periferik yerleşimli olabilir. Yaklaşık % 40 hastada santral tümörün neden olduğu havayolu obstriksiyonuna ikincil atelektazi ve parankimal konsolidasyon görülebilir. Periferal tümörler klasik olarak soliter pulmoner nodül olarak görülse de kitle ya da buzlu cam şeklinde de görülebilir. Göğüs radyografisi akciğer kanserinin tanısında yardımcıdır, ancak, histolojik tipini belirlemede yardımcı değildir [43].

Akciğer kanserinin tanısında balgam sitolojisi, en az invaziv olan ve duyarlılığı % 20-90 arasında değişen pratik bir yöntemdir. Tanı oranını; lezyonun santral lokalizasyonda olması ve hemoptizi varlığı artırmaktadır. Örnek sayısının artması da duyarlılığı artırır [54]. Erkilic ve arkadaşlarının 697 hasta ile yaptığı bir çalışmada sensitivite % 69, spesifite % 99 olarak bulunmuştur [55].

Bronkoskopi (rijid ve fiberoptik), akciğer kanserlerinin tanısı ve evrelemesi ile bazı tedavi uygulamalarında (brakiterapi, lazer ile tedavi vb.) kullanılmaktadır. Günümüzde endoskopik olarak görülebilen akciğer kanserlerinin tanısını koymak için ana yöntemdir. Tanı başarısı tümörün yerleşimi ve boyutu ile ilişkilidir [46]. Santral lezyonu olan 4507 hastanın tanımlandığı 35 çalışmada, fiberoptik bronkoskopinin sensitivitesi % 88 oranında bulunmuştur. Fluoroskopi rehberliğinde transbronşiyal biyopsi, bronşiyal fırçalama ve yıkama örnekleri ile periferik akciğer tümörlerinin % 40-80'ine tanı konulabilmektedir [56].

Yüksek risk grubunda bilgisayarlı tomografi (BT) taramaları ile yapılan çalışmada akciğer kanseri tanısını 3 kat, rezeksiyon sayısını 10 kat arttırdığı belirlenmiştir. Ancak çalışmanın sonucunda BT ile yüksek risk grubunda yapılan taramanın tümorü henüz lokalize ve potansiyel olarak kürabıl iken tespit edilebildiği, buna karşın ilerlemiş akciğer kanseri tanısında ve mortalite oranında

etkisi olmadığı düşünülmüştür [57]. BT kriterlerine göre malign olduğu kabul edilen tüm nodların yaklaşık % 40'ı gerçekte benign iken BT kriterlerine göre benign olarak kabul edilen tüm nodların yaklaşık % 20'si gerçekte maligndir. Bu durum, mediastinumu BT ile değerlendirilen KHDAK'lı hastalarda önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu durum evreyi arttırabilir veya düşürebilir [58].

PET neoplastik hücrelerin biyolojik aktivitesine dayanan bir görüntüleme yöntemidir. Dokulardaki biyokimyasal değişkenlikler bir glukoz analoğu olan FDG (18-Fluoro deoksi glukoz) verilmesinden sonra PET ile görüntülenebilir. Standart uptake değerinin <2,5 olması normal için eşik değeri olarak kulanılır. Neoplastik hücreleri normallerden ayırdığı gösterilmiştir. Ancak granulamatoz infeksiyonlarda ve diğer inflamatuar hastalıklarda yanlış pozitif PET görüntüleri bulunabilir. Küçük boyutlu lezyonlar (<7 mm) FDG uptakenin az olması nedeniyle PET ile tespit edilemeyebilir. Ayrıca iyi differansiye düşük gradeli malignensilerde özellikle bronkoalveolar karsinom ve tipik karsinoid tümörlerde yüksek yanlış negatif oranların olduğu bilinmektedir. Soliter pulmoner nodüllerde benign malign ayrımında F-18FDG PET'in duyarlılığı % 90-% 100, özgüllüğü % 69-%95dir [59, 60] Hem BT hem de PET akciğer kanseri tanısında ve evrelemesinde önemli rol oynayan görüntüleme teknikleridir.

Fluoroskopi, ultrasonografi ve bilgisayarlı tomografi eşliğinde uygulanan perkutan transtorasik iğne aspirasyon biyopsisi (TTİAB), toraks malignitelerinin tanısında etkili ve güvenilir bir yöntemdir. Periferik lezyonlarda sensitivitesi fiberoptik bronkoskopiden daha yüksektir. TTİAB tanı olasılığı % 90'dır [56].

Mediastinoskopinin en önemli endikasyonu akciğer kanserinin ilk tanısı ve torakotomi öncesi lenf nodlarından biyopsi yapılarak doğru bir evrelemeye yardımcı olmadır. Mediastinoskopinin sensitivitesi % 87, spesifitesi % 100'dür. Mediastinoskopinin yalancı negatiflik oranı ortalama % 9 (% 4-16)'dur. Yalancı negatiflik paratrakeal bölgede çok düşükken (% 1- 2), subkarinal bölgede % 6,1 oranındadır [46]. On dördü prospektif, 3'ü retrospektif toplam 17 çalışma içeren bir meta-analizde KHDAK tanılı hastaların mediastinal lenf nodu metastazı değerlendirmesinde toraks BT ve FDG-PET'nin etkinliği araştırılmıştır. Toraks

BT'nin sensitivitesi % 59, spesifisitesi % 78 bulunurken, FDGPET'in sensitivitesi % 83, spesifisitesi % 92 bulunmuştur [61].

Akciğer kanserlerinin evrelemesinde Uluslararası Evreleme Komitesi (IASLC) tarafından önerilen TNM evrelemesi (Tablo 3A,3B) yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu evreleme sisteminde primer tümör, lenf nodu tutulumu ve metastaz varlığı ayrı ayrı değerlendirilmekte ve yapılacak tedaviyi, prognozu belirlemede sıkça kullanılmaktadır.

**Tablo 3A:Uluslararası Evreleme Komitesi (IASLC) tarafından önerilen TNM evrelemesi [65 Ece T.Akciğer Kanserine Genel Bakış içinde Akciğer Kanserinde Tedavi ve Bakım Aydıner A, Can G (editörler).İpomet matbaacılık İstanbul 2010;1-6]**

**Primer tümör (T)**

**Tx**: Primer tümörün belirlenememesi. Balgam veya bronş lavaj sıvısında malign hücreler görülmesine rağmen radyolojik veya bronkoskopi ile tümörün saptanamaması.
**T0**: Primer tümör kanıtı yok
**Tis**: İnsitu karsinom
**T1**: En geniş çapı ≤3 cm olan, akciğer veya visseral plevra ile çevrili, bronkoskopik olarak lob bronşundan daha proksimale (ana bronşa) invazyon yapmayan tümor.
**T1a**: Tümörün en geniş çapı ≤2 cm.
**T1b**: Tümörün en geniş çapı >2 cm ancak ≤3 cm.
**T2**: Tümörün en geniş çapı >3 cm ancak ≤7 cm veya aşağıdaki özelliklerden birini içeren tümör:

- ana bronşa invaze ancak ana karinadan ≥2 cm uzakta
- visseral plevraya invaze
- hiler bölgeye uzanan fakat bütün akciğeri kapsamayan atelektazi ya da obstrüktif pnömoni

**T2a**: Tümörün en geniş çapı >3 cm ancak ≤5 cm.
**T2b**: Tümörün en geniş çapı >5 cm ancak ≤7 cm.
**T3**: Tümörün en geniş çapı >7 cm veya herhangi bir büyüklükte; göğüs duvarı (superior sulkus tümörleri dahil), diyafragma, frenik sinir, mediastinal plevra veya parietal perikarddan herhangi birine invaze veya karinaya <2 cm yakın fakat karinayı invaze etmeyen ana bronştaki tümör veya bütün bir akciğerde atelektazi ya da obstrüktif pnömoniye neden olan tümör veya tümör ile aynı lobda ayrı bir tümöral nodül (ler).
**T4**: Herhangi bir büyüklükte; mediasten, kalp (myokard), büyük damarlar, perikard içi pulmoner arter ve ven tutulumu, trakea, reküren laringeal sinir, özefagus, vertebra korpusu, trakeal karina'dan herhangi birine invaze tümör veya tümörle aynı akciğerde farklı bir lob içerisinde tümöral nodül (ler) bulunması.

**Bölgesel lenf nodları (N)**

NX: Bölgesel lenf nodu değerlendirilememesi.
N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1: Aynı taraf peribronşiyal ve/veya hiler lenf nodu metastazı, primer tümörün direkt invazyonu ile intrapulmoner lenf nodu tutulumu.
N2: Aynı taraf mediastinal ve/veya subkarinal lenf nod(lar)una metastaz.
N3: Karşı taraf mediastinal- hiler, aynı veya karşı taraf skalen veya supraklavikuler lenf nodlarına metastaz.

**Uzak metastaz (M)**

Mx: Uzak metastaz varlığının değerlendirilememesi.
M0: Uzak metastaz yok
M1: Uzak metastaz var.
M1a: Karşı akciğerde tümöral nodül (ler), plevral nodüller veya malign plevral (veya perikardiyal) effüzyon ile birlikte olan tümör.
M1b: Uzak metastaz

**Tablo 3B:Uluslararası Evreleme Komitesi (IASLC) tarafından önerilen TNM evrelemesi**

| | N0 | N1 | N2 | N3 |
|---|---|---|---|---|
| T1a (≤ 2cm) | IA | IIA | IIIA | IIIB |
| T1b (> 2- ≤ 3cm) | IA | IIA | IIIA | IIIB |
| T2a (> 3- ≤ 5cm) | IB | IIA | IIIA | IIIB |
| T2b (> 5- ≤ 7cm) | IIA | IIB | IIIA | IIIB |
| T3 (> 7cm) | IIB | IIIA | IIIA | IIIB |
| T3 (invazyon) | IIB | IIIA | IIIA | IIIB |
| T3 (aynı lobda nodül) | IIB | IIIA | IIIA | IIIB |
| T4 (yaygın invazyon) | IIIA | IIIA | IIIB | IIIB |
| T4 (diğer lobda nodül) | IIIA | IIIA | IIIB | IIIB |
| M1a (plevral sıvı) | IV | IV | IV | IV |
| M1a (karşı akc nodül) | IV | IV | IV | IV |
| M1b (uzak metastaz) | IV | IV | IV | IV |

### 2.2.6. Akciğer Kanserinde Prognostik Faktörler

Akciğer kanseri hastalarında sağkalımı öngören bazı prognostik faktörler bulunmaktadır. TNM evrelemesi prognozu belirleyen en önemli unsurdur. Erken evre bir pulmoner neoplazmda bölgesel lenf nodu metastazları yoksa primer tümörün çapı önem kazanmaktadır. T1 tümörlerde 5 yıllık sağkalım oranı % 60 olurken, T2 olduğu zaman bu oran % 40'a inmektedir [62]. Tanı anında hastalığın erken evrede olması, hastanın performans durumunun iyi olması, kadın cinsiyet ve önemli kilo kaybının olmaması (% 5'ten az) iyi prognoz işaretleri olarak kabul edilmektedir. Yaş ve histolojik alt tipin prognostik önemi çok azdır ancak peri-operatif morbidite yaşla birlikte artmaktadır. Artan yaş ile birlikte pnömektominin mortalitesi artmaktadır. Bu operasyonlara uygunluğu belirlemede yaş faktörü dikkate alınmalıdır [63,64].

## 2.3 EXCISION REPAIR CROSS COMPLEMENTATION GROUP 1 (ERCC1)

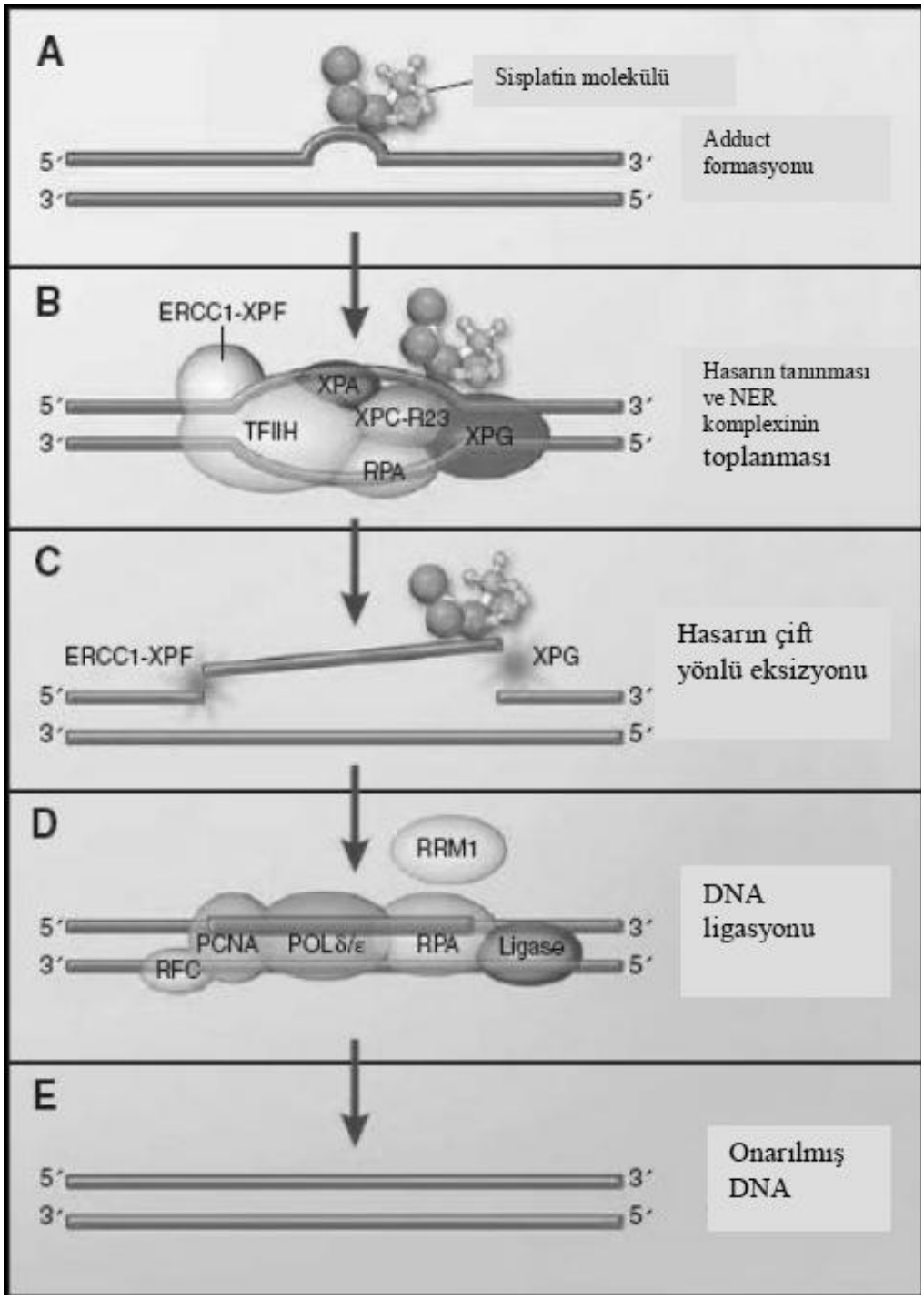
ERCC1, nükleotid eksizyon tamir (NER) kompleksinin 5' endonükleazını kodlayan deoksi ribo-nükleik asit (DNA) hasar tamir genidir. NER çoğunlukla dış kaynaklar nedeniyle oluşan ve DNA heliksi biçimini bozarak normal baz eşleşmesini engelleyen çesitli lezyonlar üzerinde etkilidir. NER' in temel fonksiyonu, örneğin UV nedeniyle oluşan primidin dimerleri gibi hasarların uzaklaştırılması gibi görünmektedir. Bu yol, platin eklenme ürünü oluşturan kemoterapi ajanlarına direnç kazanma açısından da özellikle önemli olabilir. Platinum DNA adductlarının kovalent bağlanmasıyla oluşan DNA hasarı, DNA replikasyonunu, hücre ölümünü başlatarak hemen engeller. Ancak bazı kanser hücreleri kendi DNA tamir kapasitelerini artırarak kemoterapi etkilerine karşı dirençli hale gelirler. Kanser hücreleri bu etkiyi özellikle NER yolağını aktive ederek oluştururlar NER yolunun elemanları arasında, XPA. XPB, XPC, XPD, XPE, XPF ve XPG(Kseroderma pigmentozum grup a-f,g), ERCC1 proteinleri vardır [66,67].

Sağlıklı hücrelerin DNA tamir kapasitesi hem karsinogenez için bir bariyer hem de platin bazlı kemoterapilere olan dirençte en önemli moleküler yolaktır. DNA replikasyonu sırasında alkilleyici ajanlar ilişkiye girerek DNA adduktları oluştururlar. Platinum DNA adductlarının kovalent bağlanmasıyla oluşan DNA hasarı, DNA replikasyonunu hücre ölümünü başlatarak hemen engeller. Ancak bazı kanser hücreleri kendi DNA tamir kapasitelerini artırarak kemoterapi etkilerine karşı dirençli hale gelirler. Kanser hücreleri bu etkiyi özellikle NER yolağını aktive ederek oluştururlar (Şekil 2) [68,69].

İnsan hücrelerinde ERCC1, 15 kb, 19q kromozumunda lokalize 33kDa nükleazı kodlayan bir gendir. ERCC1 bütün dokularda yüksek oranda eksprese edilir. ERCC1'in DNA tamiri dışındaki diğer fonksiyonları tam olarak aydınlanmamakla beraber, ERCC1 hayat için gereklidir. İlk olarak tanımlanmış hayvan modelleri, ERCC1 geninde mutasyon oluşturulmuş farelerdir. Farelerde ERCC1 geninin yok edilmesi beyin hasarı, karaciğer yetmezliği ve ölüme sebep

olur. ERCC1 geninde mutasyonun bulunduğu bir onarım bozukluğu patolojisinin insanda karşılığı tanımlanmamıştır. Önemli olarak ERCC1 NER kompleksinde hız sınırlayıcı enzimlerden biridir [70].

ERCC1 ekspresyonu, DNA hasarını tamir etme yeteneği nedeniyle tümör tavrını etkileyebilmektedir. Bozuk nükleer eksizyon tamiri, genomik instabiliteyi artırarak, tümörün daha malign karakter kazanmasına neden olmaktadır. Bu durum da prognozu etkileyebilmektedir [71].




**Şekil 2:ERCC1 ve RRM1 ile DNA hasar tamiri [67- Bepler G, MD, PhD, Begum M. Molecular analysis-based treatment strategies for non-small cell lung cancer. Cancer control 2008; 15(2):130-139].(A) Cisplatin genomik DNA'ya kovelent bağla bağlanarak addict oluşturur. (B) Oluşan adduct tanınır ve NER proteinleri bu bölgede bir kompleks oluşturmak için bir araya gelir. (C) Heterodimer ERCC1-XPG 3' ucunda, ERCC1- XPF 5' ucunda etki ederek DNA zincirinde çift kesi meydana getiri. (D) Çıkarılan parça polimerazlar tarafından tamir edilir, Kırık DNA zinciri DNA ligaz tarafından tamir edilir. (E) Tamir işlemi tamamlanır.**

## 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Medikal Onkoloji bilim dalı kliniği veya polikliniğinde Aralık 2008 ile Aralık 2010 tarihleri arasında bronkoskopik ve tru-cut biyopsi ile küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) tanısı alan 20 ve endoskopik biyopsi ile özefagus kanseri tanısı konulan 20 hasta alındı. Hastalarda çalışma için aranan dahil edilme kriterlerinin arasında radyoterapi veya kemoterapi almamış olma şartı vardı.

Endoskopik ve bronkoskopik biyopsi örnekleri kullanılan hastaların hazırlık aşamasında tam kan sayımı, kan biyokimyası, protrombin zamanı, kan grubu belirlendi. Solunum fonksiyon testi, elektrokardiyogram ve oksijen saturasyonu ölçümü tüm hastalara yapıldı. Endoskopi veya bronkoskopi uygulaması için uygun görülen hastalar, yapılacak olan işlemden en az 6 saat önce aç bırakıldı. Her hastaya intravenöz damar yolu açıldı. Premedikasyonda hastalara, orofaringeal ve bronşiyal sekresyonları azaltmak amacıyla 1 mg subkutan atropin sülfat ve sedasyon için 10 mg intramüsküler diazepam yapıldı. Lokal anestezi sağlamak üzere işlem öncesi 100 mg lidokain 2 cc % 0,9 NaCI ile nebülizasyon yoluyla, nazofarinks ve larinksin lokal anestezisi için 60 mg lidokain aeresol formunda ve bronkoskopi sırasında 400 mg % 2'lik lidokain havayollarına infüzyon şeklinde uygulandı. Bronkoskopi ve endoskopi odalarında uygun acil müdahale seti ve teknik eleman sağlandıktan sonra hastalar, fleksibl fiberoptik bronkoskopi (Olympus BFXP20D) veya fleksibl fiberoptik endoskopi ile değerlendirildi. Bronkoskopi sırasında endobronşiyal lezyonu veya mukozal lezyonu görülen hastalarda bu lezyonlardan forseps biyopsi aleti ile en az 5 adet biyopsi, endoskopi esnasında lümen içi lezyon tespit edilen hastalarda da bu lezyondan forceps biyopsi aleti ile en az 5 adet biyopsi alındı. Endoskopik veya bronkoskopik olarak biyopsiye uygun olmayan hastalardan bilgisayarlı tomografi eşliğinde Atatürk Üniversitesi Radyoloji Anabilim Dalı'ında tru-cut biyopsi örnekleri alındı. Alınan materyaller formol içinde fikse edildi. Formolde fikse edilen materyal, protokol numarası yazılı kasetlerde, doku takip cihazında, 13 saat izlendikten sonra parafine gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom ile kesitler alındıktan sonra hematoksilen eozin ile boyanarak cam preparatlar hazırlandı.

Hazırlanan preparatların histopatolojik değerlendirmesi Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından hazırlanmış olan 20 KHDAK kanseri tanısı konulmuş doku örneği ve 20 Özafagus kanseri tanısı konulmuş doku örneği, çalışma grubu olarak belirlendi. "*Excısıon repaır cross complementatıon group-1"* **(**ERCC 1) ekspresyon seviyeleri analiz edildi. Örneklerin çalışmamıza alınabilirliğine dair etik kurul kararı Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul komitesinden alındı. Akciğer kanseri veya özefagus kanseri tanısı alan hastaların tanı anındaki demografik özellikleri, performans durumları, klinik evreleri kaydedildi. Performans durumu Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) skalasına, klinik evresi Uluslararası Evreleme Komitesi (IASLC) tarafından önerilen TNM evrelemesine göre belirlendi. Performans durumu 0-2 arasında olan hastalar iyi, 2'nin üzerinde olan hastalar ise kötü performansta kabul edildi.

### 3.2. Dokudan mRNA izolasyonu

Formalinle fikse edilmiş parafin bloğa gömülmüş olan doku örnekleri mikrotomla 5 mikrometre kalınlığında 5-10 yaprak kesilerek 1,5 ml'lik epandorf tüplere konuldu. Deparafinize etmek için 1 ml ksilen eklenerek 25 °C'de 5 dakika inkübe edildikten sonra 1ml %100 etanol ile 1300 rpm'de santirfüjlenerek yıkama yapıldı. Tüp içerisindeki etanolü tamamen uçurmak amacı ile 10 dk 55°C'de kurutma işlemi gerçekleştirildi. Deparafinize edilen dokulardan mRNA elde etmek için High pure RNA doku izolasyon kiti (Roche) kullanıldı. Dokuların üzerine 100 µL Lysisi Buffer, 16 µL %10'luk SDS ve 40 µL Proteinase K eklenerek 55 °C'de overnight inkübasyon gerçekleştirildi. 55 °C'de overnight inkübasyondan sonra tüplere 325 µL Binding Buffer ve 325 µL %100 eklenerek kolon tüplerine aktarıldı ve 9200 rpm'de 30sn santirfüj edildi. Santirfüj sonunda kolon yeni tüpe aktarılarak 500 µL Wash I ve Wash II ile yıkaması yapıldı. Her yıkama işlemi 9200 rpmde 15 sn olacak şekilde gerçekleştirildi. Yıkama sonunda kolon yeni tüpe aktarılarak 90 µL elüsyon ve 9200rpm'de 1dk santirfüj edildi. Santirfüj sonunda kolon atıldı ve tüpteki sıvı üzerine 10 µL DNase inkübasyon Buffer ile 1 µL DNase eklenerek 37°C'de 45 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında tüpe 20 µL Lysis Buffer, 18

µL %10'luk SDS, 40 µL Proteinase K eklendi ve 55°C'de 1 saat inkübe edildi. Süre sonunda tüplere 325 µL Binding Buffer ve 325 µL %100 eklenerek kolon tüplerine aktarıldı ve 9200 rpm'de 30sn santirfüj edildi. Santirfüj sonunda kolon yeni tüpe aktarılarak 500 µL Wash I ve Wash II ile yıkaması yapıldı. Her yıkama işlemi 9200 rpmde 15 sn olacak şekilde gerçekleştirildi. Yıkama sonunda kolon yeni tüpe aktarılarak 50 µL elüsyon ile 1 dk oda ısısında inkübe edildikten sonra 9200rpm'de 1dk santirfüj edilerek mRNA elde edilmiş oldu. Elde edile mRNA'lar cDNA sentezi yapılıncaya kadar -80°C'de muhafaza edildi.

### 3.3. cDNA sentezi

İlk aşama olarak her bir hasta için 0.2 µL'lik PCR tüpüne 2 µL $ddH_2O$ ve 6 µL mRNA eklenerek Primus Thermal Cycler cihazında 65°C'de 15 dk inkübe edildi. Süre sonunda tüpler 5dk için -20°C'deki soğuk bloklarda bekletildi.

**Tablo 4 .** *ERCC 1* mRNA'dan cDNA Sentezinde PCR Bileşenleri ve Miktarları

| **cDNA** | **Miktar** |
|---|---|
| **PCR içeriği** | **[µl]** |
| Buffer | 2 |
| MgCl2 | 4 |
| Deoksinükleotid mix | 2 |
| Oligo Primer | 2 |
| RNase İnhibitör | 1 |
| AMV Reverse Transkriptaz | 0.8 |
| **Mix Toplam** | **11.8** |
| mRNA+ $ddH_2O$ | 6+2 |
| **Genel toplam** | **29.8** |

Roche First Strand cDNA Sentez kiti kullanılarak, her bir hasta için toplam hacim 11.8 µL olacak şekilde Tablo 4'deki bileşenler sırasıyla 0.2 µL PCR

tüpüne konuldu ve Tablo 5 de ısı değişiklikleri verilmiş olan Primus Thermal cycler cihazında cDNA sentez aşaması tamamlandı.

**Tablo 5 .** *ERCC 1* mRNA'dan cDNA Sentezinde PCR Isı Değişiklikleri

| Basamak | Sıcaklık | Zaman | Döngü sayısı |
|---|---|---|---|
| 1 | 25 $^{o}$C | 10 dk | 1 |
| 2 | 42 $^{o}$C | 60 dk | 1 |
| 3 | 99 $^{o}$C | 5 dk | 1 |
| 4 | 4 $^{o}$C | ∞ | 1 |

### 3.4. ERCC 1 Gen Ekspresyonunun Ölçümü

Her bir örneğe ait cDNA'lar kullanılarak ERCC 1 geni ekspresyonunu kantitatif olarak değerlendirilebilmesi için referans gen olarak G6PD'nin kullanıldığı Floresans bazlı real-time yönteminde; kullanılacak cDNA, dd$H_2O$, MgCl2 (25mM), ERCC 1 Primer probe ( Roche Conf. No; 100001475, version 2.0, Assay ID; 111288), G6PD Primer probe (Roche Cat. No; 0546114001, version.06) ve Lightcycler Fastart DNA Master Hybprobe (Roche Cat No; 03003248001, version 13.0) miktarlarının optimizasyonu gerçekleştirildi, Tablo 6. ve Tablo 7.'de verildi. Her bir primer ve prob final konsantrasyonu 2 µM olacak şekilde hazırlandı.

**Tablo 6 .** *ERCC 1* LC2.0 master mix PCR Bileşenleri ve Miktarları

| | **Miktar** |
|---|---|
| **PCR içeriği** | **[µl]** |
| $ddH_2O$ | 8.6 |
| MgCl2 | 2.4 |
| Primer Probe | 2 |
| Faststart DNA master Hybprobe | 2 |
| **Mix Toplam** | **15** |
| **cDNA** | **5** |
| **Genel Toplam** | **20** |

**Tablo 7 .** *G6PD* LC2.0 master mix PCR Bileşenleri ve Miktarları

| **cDNA** | **Miktar** |
|---|---|
| **PCR içeriği** | **[µl]** |
| $ddH_2O$ | 6.6 |
| MgCl2 | 2.4 |
| Primer | 2 |
| Probe | 2 |
| Faststart DNA master Hybprobe | 2 |
| **Mix Toplam** | **15** |
| **cDNA** | **5** |
| **Genel Toplam** | **20** |

Her bir CA çalışma grubu ve kontrolleri ile birlikte 6 tane G6PD standardı Roche LC2.0 light cycler cihazına yüklendi.

**Tablo 8 .** *ERCC 1* Gen ekspresyon tayininde LC2.0 light cycler cihazı PCR Programı

| Basamak | Sıcaklık | Zaman | Döngü sayısı |
|---|---|---|---|
| Denatürasyon | 95 °C | 10 dk | 1 |
| Niceleme | 95 °C | 10 sn | 45 |
| | 60 °C | 15 sn | |
| | 72 °C | 10 sn | |
| Eritme | 95 °C | 20 sn | 1 |
| | 40 °C | 20 sn | |
| | 85°C | 20 sn | |
| Soğutma | 40 °C | 30 sn | 1 |

RT-PCR sonunda; sistem kullanılmış olan G6PD standlarına göre bir standart curve eğrisi oluşturarak (Error; 0.0109, Efficiency; 2-2.3) her örneğin referans geni G6PD ve ERCC 1'ne ait konsantransyon değerlerini verdi. Her bir örneğin ERCC 1 konsantranyonunun referans gene oranı o örneğin Ratio olarak hesaplandı.

## İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Hastalardan elde edilen verilerin analizi SPSS (versiyon 18.0) programı kullanılarak değerlendirildi. Sürekli değişkenler icin ortalamalar ortalama ± Standard sapma, katerogik degişkenler için ise frekans ve yüzde olarak verildi. Dağılımı normal olan yaş değişkenin iki grup arasındaki karşılaştırmalarında

student t testi kullanıldı. Kategorik değişkenler için ise kikare testi kullanıldı. ERCC1 ekspressyon düzeyleri arasındaki korelasyon Spearman korelasyonu ile belirlendi. ERCC1 ekspresyonları ile hastaların yaşam süreleri arasındaki ilişkiyi saptamak için Kaplan Meier analizi kullanıldı. Düşük ve yüksek ekspresyon düzeyleri icin sağ kalım sürelerinin farklı olup olmadığı log rank testi kullanılarak analiz edildi. P değeri 0,05'ten küçük olan test sonuçları istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

# 4. BULGULAR

## 4.1 Hastaların özellikleri

Çalışmaya Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Medikal Onkoloji bilim dalı kliniği veya polikliniğinde, Aralık 2008 ile Aralık 2010 tarihleri arasında bronkoskopik ve tru-cut biyopsi ile küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) tanısı alan 20 ve endoskopik biyopsi ile özefagus kanseri tanısı konulan 20 hasta alındı. Hastaların hiçbirisi çalışmaya dahil edilmeden önce kemoterapi veya radyoterapi almamıştı.

Özefagus kanseri tanısı ile çalışmaya alınan 20 hastanın 10'u (%50) erkek, 10'u (%50) kadındı. Hastaların yaş ortalaması 60,5 (41-80)' idi. TNM evreleme sistemine göre hastaların 3'ü (% 15) evre II, 4'ü (% 20) evre III, geri kalan 13'ü (% 65) evre IV idi.

Özefagus kanseri tanısı ile çalışmaya alınan hastaların 13'ünün (% 65) histopatolojik tanısı yassıepitel hücreli karsinom, 6'sının (% 30) adenokarsinom, 1'inin (% 5) taşlı yüzük hücreli karsinom idi. Hastaların 8'inin (% 40) öz-soy geçmişinde malignite için bir risk faktörü bulunmaktaydı.

Çalışmaya alınan özefagus kanserli hastaların ortalama hemoglobin düzeyi 13.2 gr/dl (std± 2.2), ortalama lökosit sayısı 9100 $x10^3$/ml (std±6540), ortalama trombosit sayıları 277,000 x $10^6$/ml (std±116,000), ortalama eritrosit sedimentasyon hızları 39mm/saat (std±22), ortalama alanin amino transferaz serum düzeyleri 15.6 IU/ml (std±6.8), ortalama kreatinin düzeyleri 0.9 mg/dl (std± 0.32) olarak tespit edildi. Çalışmaya alınan özefagus kanserli hastalara ait demografik veriler Tablo 5 'de özetlenmiştir.

KHDAK tanısı ile çalışmaya alınan 20 hastanın 16'sı (%80) erkek, 4'ü (%20) kadındı. Hastaların yaş ortalaması 61,4 (31-79)' idi. TNM evreleme

sistemine göre hastaların 4'ü (% 20) evre I, 8'i (% 40) evre II, geri kalan 8'i (% 40) evre III idi.

**Tablo 5**: **Özefagus kanserli hastaların demografik verileri**

| Özellik | Alt grup (min) | Sayı(maks) | Yüzde | Ortalama (std) |
|---|---|---|---|---|
| Cinsiyet | Erkek<br>Kadın | 10<br>10 | 50<br>50 | |
| Evre | Evre II<br>EvreIII<br>Evre IV | 3<br>4<br>13 | 15<br>20<br>65 | |
| Histopatolojik Tanı | Adenokanser<br>Yassıepitel hücreli kanser<br>Taşlı-yüzük hücreli kanser | 6<br>13<br>1 | 30<br>65<br>5 | |
| Öz-soy geçmiş | Risk faktörü var<br>Risk faktörü yok | 8<br>12 | 40<br>60 | |
| Yaş | 41 | 80 | | 60.5 (std±10.8) |
| Hb | 9 | 17 | | 13.15 (std±2.2) |
| Lökosit | 2300 | 32000 | | 91005 (std±6540) |
| Trombosit | 88,000 | 544,000 | | 277,0005 (std±116,000) |
| Alaninamino transferaz | 6 | 26 | | 15.65 (std±6.8) |
| Albumin | 2.8 | 4.8 | | 3.95 (std±0.6) |

KHDAK tanısı ile çalışmaya alınan hastaların 12'sinin (% 60) histopatolojik tanısı yassıepitel hücreli karsinom, 8'inin tanısı (% 40) adenokarsinom idi. Hastaların 8'inin (% 40) öz-soy geçmişinde malignite için herhangi bir risk faktörü bulunmamaktaydı.

Çalışmaya alınan KHDAK hastaların ortalama hemoglobin düzeyi 13.3 gr/dl (std± 2.2), ortalama lökosit sayısı 10500 x$10^3$/ml (std±3560), ortalama trombosit sayıları 274,000 x $10^6$/ml (std±66,000), ortalama eritrosit sedimentasyon hızları 46 mm/saat (std±37), ortalama alanin amino transferaz serum düzeyleri 25 IU/ml (std±15.9), ortalama creatinin düzeyleri 1 mg/dl (std± 0.62) olarak tespit edildi.

Çalışmaya alınan KHDAK tanılı hastalara ait demografik veriler Tablo 6 ‘da verilmiştir.

**Tablo 6: KHDAK hastaların demografik verileri**

| Özellik | Alt grup (min) | Sayı(maks) | Yüzde | Ortalama (std) |
|---|---|---|---|---|
| Cinsiyet | Erkek<br>Kadın | 16<br>4 | 80<br>20 | |
| Evre | Evre I<br>EvreII<br>Evre III | 4<br>8<br>8 | 20<br>40<br>40 | |
| Histopatolojik Tanı | Adenokanser<br>Yassıepitel hücreli kanser | 8<br>12 | 40<br>60 | |
| Öz-soy geçmiş | Risk faktörü var<br>Risk faktörü yok | 12<br>8 | 60<br>40 | |
| Yaş | 31 | 79 | | 61.4 (std±10.3) |
| Hb | 10 | 17 | | 13.3 (std±2.2) |
| Lökosit | 5500 | 16000 | | 10560 (std±3560) |
| Trombosit | 150,000 | 366,000 | | 274,000 (std±66,000) |
| Alaninamino transferaz | 8 | 60 | | 25 (std±15.9) |
| Albumin | 2.7 | 4.5 | | 3.81 (std±0.56) |

### 4.2. RT-PCR ile ölçülen ERCC1 geninin kantitatif sonuçları ve dağılımları

Özefagus kanserli hastaların tümör dokusunda RT-PCR ile kantitatif olarak ölçülen ERCC1 geninin referans gene oranı 0,1 ile 2,81 arasında değişmekteydi. Ortalama değer 0,71±0,85 olarak hesaplandı. Özefagus kanserli hastaların 3’ünde (% 15) ERCC1 amplifikasyonu pozitif 17’sinde (%85) ise negatifti (Tablo 6).

KHDAK tanılı hastaların tümör dokusunda RT-PCR ile kantitatif olarak ölçülen ERCC1 geninin referans gene oranı 0,1 ile 2,51 arasında değişmekteydi.

Ortalama değer 0,62±0,78 olarak hesaplandı. KHDAK tanılı i hastaların 3'ünde (% 15) ERCC1 amplifikasyonu pozitif 17'sinde (%85) ise negatifti (Tablo 7).

**Tablo 7: RT-PCR ile ölçülen ERCC1 geninin Kantitatif Sonuçları ve Dağılımları**

| | | n | % | Min | Max |
|---|---|---|---|---|---|
| Özefagus kanserli hastalar | Pozitif | 3 | 15 | 2,01 | 2,81 |
| | Negatif | 17 | 85 | 0,01 | 1,31 |
| KHDAK tanılı hastalar | Pozitif | 3 | 15 | 2,0 | 2,51 |
| | Negatif | 17 | 85 | 0,01 | 1,32 |

Çalışmada özefagus kanserli hastaların TNM evrelemesi ($p>0,05$), WHO sınıflaması ($p>0,05$), hasta yaşı ($p>0,05$), hastanın cinsiyeti ($p>0,05$), albumin düzeyi ($p>0,05$), Hb düzeyi ($p>0,05$) ile ERCC1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı. Çalışmada istatistiksel bir ilişki görülmemesine rağmen, ERCC1 pozitif olan 3 vakanın yassıepitel hücreli özefagus kanseri olması dikkati çeken bulgular arasındaydı. Hastaların tümör çapı ile ERCC1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edildi ($p<0,05$)

Çalışmaya alınan KHDAK hastalarının tümör çapı ($p>0,05$), TNM evrelemesi ($p>0,05$), WHO sınıflaması ($p>0,05$), Hb düzeyi ($p>0,05$), eritrosit sedimenatasyon hızı ($p>0,05$), albumin düzeyi ($p>0,05$), hasta yaşı ($p>0,05$) ile ERCC1 pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı.

## 5. TARTIŞMA

Sık görülen solid tümörlerde "*Excısıon repaır cross complementatıon group-1"* **(**ERCC1) ekspresyonunu araştırmaya yönelik olarak yaptığımız bu çalışmaya 20 özefagus kanserli hasta ve 20 küçük hücre dışı akciğer kanseri (KHDAK) hastası alındı. Çalışmada hastaların ERCC1 ekspresyonları patolojik tanıda kullanılan bloklardan elde edilen DNA'dan RT-PCR yöntemi ile tespit edildi. Çalışma sonunda özefagus kanserli ve KHDAK hastalarda ERCC1 ekspresyonu sırasıyla %15 ve %15 hastada yüksek olarak tespit edildi. Çalışma sonunda özefagus ve KHDAK hastalarında hastaların TNM evresi, *"world health organisation"* (WHO) sınıflaması, hasta yaşı, hastanın cinsiyeti, albumin, hemoglobin düzeyleri ile ERCC1 ekspresyonları arasında anlamlı bir ilişki tespit edilemedi ($p>0.05$). Yalnızca özefagus kanserli hastalarda tümör çapı ile ERCC1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edildi ($p<0,05$).

*Nucleotide excision repair (NER)* yolağı, genomdaki DNA hasarlarının uzaklaştırılarak DNA tamirinde rol almaktadır. NER yolağı yüksek oranda polimorfik olup bu yolaktaki edinsel ve kalıtsal genetik bozuklukların kansere yatkınlıktaki rolleri araştırılmaktadır [72]. ERCC1, NER yolağında yer alan DNA tamir genlerinden en önemlilerinden bir tanesidir.

ERCC1 ekspresyonunun malignite ile ilişkisini inceleyen Nunez F ve ark. (70) yapmış olduğu preklinik bir çalışmada ERCC1 knockout farelerin dışarıdan DNA hasarı yapacak bir ajan verilmeden takip edildiklerinde de spontan mutasyonlar nedeniyle oluşan DNA hasarının p53 varlığında bile tamir edilemediği ve ERCC1 knockout farelerin ERCC1 ve p53 knockout farelerden daha uzun sürveylerinin olmadığı gösterildi. Bu çalışmada ERCC1 knockout farelerin karaciğerlerinde büyüme ve karaciğer hücrelerinin replikasyonunun G2 fazında duraksama olduğu, ERCC1 eksikliğinde binükleasyonun daha az olduğu ve hasarlı DNA'ya sahip hücrelerin çekirdeklerinin daha büyük olduğu tespit edildi. Fizyolojik enzim yolaklarının merkezi konumunda olan ve bakteri, ilaç, diğer oksidleyici maddelerin çokça bulunduğu karaciğerde dışarıdan DNA hasarı yapan

bir uyarı olmadan da ERCC1 eksikliğinin kümülatif DNA hasarında artış ve surveyde azalma ile birlikteliği gösteridi [70].

DNA tamir genlerinin özefagial skuamoz hücreli kanserdeki rolünü araştırmak amacı ile Wen-Jing Ma. ve ark. [73] yapmış olduğu bir çalışmada 122 özefagus kanserli hasta ve 326 sağlıklı kontrol grubundan alınan biyopsi örneklerinde ERCC1 ve diğer bazı DNA tamir genleri ile birlikte aldehit dehidrogenaz, alkol dehidrogenaz, sitokrom P450 gibi bazı enzimlerin ölçümü yapılarak karşılaştırıldı. Bu çalışmada ERCC1 ekspresyonu biyopsi örneklerinde PCR tekniği ile tespit edilmiş. Çalışma sonunda ERCC1 ve incelenen diğer genler ile skuamoz hücreli kanser riskinde bir artış tespit edilememiş. Bunun aksine benzer bir amaçla Pan J. ve ark.[72] yapmış olduğu çalışmada 387 özefagus kanserli hasta ve 462 sağlıklı kontrol grubunda özefagus kanser riski ile genetik yatkınlığı değerlendirmek için çevresel kandan alınan örneklerde NER yolağına ait 8 gen incelendi. Çalışmada genetik inceleme PCR yöntemi ile yapıldı. Çalışma sonunda ERCC1 3′ untranslated region (UTR) geni taşıyanların özefagus kanseri için yüksek riskli bulunması ile birlikte aynı genin TT genotipini taşıyanların özefagus kanseri için düşük riskli olduğu bildirildi. Aynı çalışmada NER yolak enziminde birden fazla potansiyel fonksiyonel gen taşıyanlarda daha yüksek özefagus kanseri riski olduğu bildirildi. Bu iki çalışmada ERCC1 gen ekspresyonun özefagus kanseri için risk faktörü olduğuna dair çelişkili sonuçlar elde edilmiş olunması ile birlikte Pan J. [72] yapmış oldukları çalışmalar ERCC1'in genetik polimorfizmi nedeniyle farklı genotiplerin farklı risk oluşturduğunun gösterilmesi, elde edilen farklı sonuçları izah edebilir.

ERCC1 ekspresyonu ve özefagus kanserinin sürveyine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada neoadjuvan kemoradyoterapi sonrası cerrahi eksizyon uygulanan 99 özefagus kanseri hastasının tedaviler öncesinde elde edilen biyopsi preperatlarından elde edilen genetik materyal ile PCR yöntemi ile ERCC1, glutathione S-transferaz π (GSTP1) ve timidilat sentetaz 1(TS1) genleri incelenmiş. Bu çalışmada ERCC1>3.0 olan hastalarda surveyin ERCC1<3.0 olan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu, buna ilaveten ERCC1>3,0 olması halinde nüks riskinin yaklaşık 2 kat arttığı bildirildi. Bu çalışmada sonuç olarak tanısal amaçlı alınan

biyopsilerde ölçülen gen ekspresyonlarının kemorezistans ile ilişkili olduğu ve hastaların tedaviye cevap ve surveyleri hakkında yararlı birer parametre olarak kullanılabileceği yorumu yapılmış [74]. Bu çalışmayı destekleyen başka bir çalışmada Wei J. ve ark.[75] ileri evre gastrik kanserli 76 hastada tedavi öncesi, tanıda kullanılan biyopsi örneklerinden elde edilen DNA ile ERCC1 ve TS gen ekspresyonlarını inceleyerek sürvey ile olan ilişkisini değerlendirmiş. ERCC1 için çalışmada cutoff değeri 0,47 olarak alınmış ve %19,7 hastada ERCC1 yüksek olarak kabul edilmiş. Çalışma sonunda ERCC1 seviyesi yüksek olan grupta ortalama survey ERCC1 seviyesi düşük olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede kısa bulunmuş (6,2 ay ve 15,8 ay). Çalışma sonunda ERCC1 mRNA ekspresyon düzeyinin survey açısından bağımsız bir prediktör olduğu bildirilmiş. Çalışmada da ERCC1 ekspresyonu %15 hastada cut off değerimiz daha yüksek olmasına rağmen yüksek olarak bulunmuştu.

ERCC1 ekspresyonunun özefagus kanserinde tedavi modalitesinin tercihi üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada Min Kyoung Kim. ve ark.175 özefagus kanserli hastadan tedavi öncesi elde edilen biyopsi örneklerinde ERCC1 pozitifliğini immünhistokimyasal yöntemlerle değerlendirmiş. Çalışmada ERCC1 pozitifliği özefagus kanserli hastalarda % 47 oranında saptanmış. Çalışmada sadece cerrahi tedavi uygulanan hastalar ve neoadjuvan kemoradyoterapi sonrası cerrahi uygulanan hastalar ERCC1 pozitifliğine göre survey açısından karşılaştırılmış. Çalışma sonunda ERCC1 negatif hastalardan neoadjuvan kemoradyoterapi uygulananlarda genel sağkalım ve hastalıksız sağkalımın sadece cerrahi uygulananlara göre anlamlı olarak daha uzun bulunurken (59,2 ay ve 25,4 ay) ERCC1 pozitif özefagus kanserli hastalarda bu farkın olmadığı tespit edilmiş. Çalışmada sonuç olarak ERCC1 negatif ve cerrahi şansı olan hastalarda preoperatif kemoradyoterapi ile sadece cerrahiye göre daha iyi bir sağkalım elde edilebilecği bildirilmiştir [76]. Bu çalışma, ERCC1 pozitifliğinin ölçüm metodunun immünhistokimyasal olması yönüyle çalışmamızdan farklılık arzetmektedir.

Bir önceki çalışmaya benzer bir planda yapılan ancak ERCC1 ekspresyonun yine biyopsi örneklerinden elde edilen materyalde PCR yöntemi ile değerlendirilmiş. Bu çalışmada lokal ileri evre, cerrahi şansı olan daha önce

herhangi bir tedavi almamış 52 özefagus kanserli hastaya pilatin bazlı neadjuvan kemoradyoterapi sonrası standart cerrahi rezeksiyon uygulanmış. Cerrahi rezeksiyon ile elde edilen dokudan PCR tekniği ile ERCC1 gen allellerinin ekspresyonu ölçülerek hastaların survey ve tedaviye cevap oranları arasındaki ilişki araştırılmış. Çalışma sonuçlarında ERCC1 genetik polimorfizminin tedaviye cevap için prediktif değeri olduğu, TT genotipinde kemoradyoterapiye %80 oranında cevapsızlık varken heterojen C/T grubunda major yanıt oranı %70 olarak bulunmuş. CC genotipinin ise prediktif bir değerinin olmadığı bildirilmiş. Çalışma sonunda ERCC1 polimorfizminin özefagus kanserli hastalarda pilatin bazlı tedaviye cevabın tahmininde bağımsız prediktif değerinin olduğu yorumu yapılmış [2]. Bu çalışmada ERCC1 ölçümü bizim çalışma ile benzer olarak biyopsi örneklerinden PCR yöntemi ile çalışılmış olsa da hastalardaki ölçümlerin kemoradyoterapi sonrası yapılan cerrahideki örnekten olması, olası DNA hasarının sonuçları etkileyebileceği şüphesini akla getirmektedir.

Yine az sayıda hastanın alındığı başka bir çalışmada bir önceki çalışmanın aksine tedaviye alınan cevap kemoterapi veya radyoterapiye maruz kalmamış dokularda araştırılan ERCC düzeyi ile karşılaştırılmış. Bu çalışmaya 38 lokal ileri evre özefagus adenokanser tanılı hasta alınmış. Çalışmada hastalardan elde edilen dokuda ölçülen ortalama ERCC 1,33 (0,64-6,35) olarak bulunmuş. Bu çalışmaya alınan hastalarda ERCC1 pozitifliği % 15 oranıda tespit edilmiş. Çalışma sonunda tedaviye cevap veren ve vermeyen grupta ölçülen ERCC1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadığı bildirilmekle birlikte ortanca ERCC düzeyinin tedaviye cevap veren grupta daha yüksek olduğu, survey ile ERCC ekspresyonu arasında bir korelasyon bulunamadığı bildirilmiş [77]. Çalışmaya alınan hastalardaki ERCC1 pozitifliği % 15 idi. Biz çalıştığımız hastalarda aynı oranda ERCC1 pozitifliği tespit ettik. Bu yönüyle çalışmamızda bulduğumuz sonuçlar literatür sonuçları ile uyumlu idi.

Fareed KR (ve ark.), çalışma kapsamına 142 neoadjuvan kemoterapi almamış gastrik/gasroosefajial kanserli hasta ve 103 preoperatif neadjuvan kemoradyoterapi almış gastrik/gastroözefajial kanserli hastayı aldılar. Tedavi öncesi tanısal amaçlı alınan biyopsi örneklerinden elde edilen DNA materyalinde

immünhistokimyasal yöntemler ile ERCC1 ekspresyonları ölçerek elde ettikleri ERCC1 düzeyleri ile histopatolojik cevap, genel sağkalım, hastalığa özel sağkalım oranları ile korelasyonuna baktılar. Tedavi almış grupta, ERCC1 pozitifliğini %50.8, sadece cerrahi uygulanmış grupta ise % 73.4 olarak buldular. Çalışma sonuçlarında ERCC1 ekspresyonunun neoadjuvan kemoterapiye histopatolojik cevapsızlık, daha kötü hastalığa özel sağkalım ve daha kötü genel sağkalım oranları ile korele olduğunu tespit ettiler. Sonuç olarak, immün histokimyasal yöntemle elde edilen ERCC1 ekspresyon oranlarının, platin bazlı neoadjuvan kemoterapi alan gastro-özofajial kanser hastalarında ümit verici prediktif değere sahip olduğunu bildirdiler [3].

Cerrahi şansı olmayan KHDAK'inde genel olarak pilatin bazlı kemoterapilerle gemsitabin, vinorelbin veya taksanların ilave edilmesi ile yapılan tedavilerde elde edilen yanıt oranı % 30 ila 60 arasında değişmektedir. Bunun yanında adjuvan kemoterapiler surveyde % 15 gibi bir artış sağlanmaktadır [78,79]. ERCC1 enzimi (NER) yolağında anahtar bir rol oynamakla birlikte kemoterapide kullanılan cisplatin tarafından oluşturulan DNA eklerinin uzaklaştırılmasını da gerçekleştirmektedir. ERCC-1'in overekspresyonu, KHDAK'lerinde kemoterapi planlamada ve survey üzerine etkisi son yıllarda çokça araştırılan konulardan biri olmuştur [80]. Biz yaptığımız bu çalışmada, KHDAK hastalarında ERCC-1 overekspresyon oranını RT-PCR ile araştırdık. ERCC-1 pozitifliğini hastaların tümör dokularında %15 oranında bulduk.

Preklinik çalışmalar sayesinde, hücrelerin çoğalmasında yeralan sinyal yolakları ve biyolojik mekanizmalar rahatlıkla anlaşılabilir bir hale gelmektedir. Klinik faz çalışmalarında da bu bilgiler ışığında neoplastik dönüşümün ve kontrolsüz çoğalmanın özel alt basamaklarını hedefleyen ve yeni ajanlar denenmektedir. Bununla birlikte bu çalışmaların çoğunda denenmekte olan ilaçlar sitotoksik kemoterapötik ajanlarla birlikte seçilmemiş hasta gruplarında denendiğinden neredeyse tamamı olumsuz sonuçlar vermekteydi [81-83]. Farmakogenomiğin onkolojik ilaçlara uygulanması ile birlikte kanserli hastalarda uygulanabilecek geniş tabanlı bireyselleştirilmiş kemoterapi programları geliştirilebilir. Gerek akciğer kanserinde, gerekse özefagus kanserinde elde edilen

preklinik araştırma sonuçlarının klinik pratikte uygulanabilmesinin önünde çok sayıda ve güçlü engeller bulunmaktadır. Bunlar arasında, tanısal amaçlı kullanılan doku miktarlarının çoğu vakada kısıtlı olması, laboratuvarlar arasında standardize edilmiş kalite kontrol mekanizmalarının olmaması gibi nedenlerle hasta seçiminin kontrolsüz olması yer almaktadır.

ERCC1 ekspresyonunun değerlendirilmesinde kullanılan yöntem ile elde edilen sonuçların etkilendiğine dair verilerde bulunmaktadır. Taillade ve ark. yaptığı çalışmada 34 KHDAK hastasından alınan bronşial biyopsi örneklerinin dokularında ERCC1 ekspresyonunu araştırılmış. Bu çalışmada akciğer kanserli hastalarda ERCC1 ekspresyonu % 7 oranında yüksek olarak bulunmuştur. Çalışmanın sonucunda yazarlar bronş biyopsilerinin ERCC1 ekspreyonu ve çıkarılan tümör tipleri arasında korelasyon bulunduğunu, bazı vakalarda farklı biyopsi örneklerinde de uyumsuzluk olduğunu vurgulamıştır [84]. Gomez ve ark. yaptıkları çalışmada ise 49 hastanın tümör ve metastaz örnekleri ile yaptıkları çalışmada ise metastaz dokularında tümör dokusuna göre anlamlı olarak, ERCC1 ekspresyonunun istatistiksel olarak daha yüksek olduğu vurgulanmıştır [85]. Çalışmamızda ERCC1 ekspresyonu sadece tümör dokularında bakıldığından ERCC1 ekspresyonu olduğudan daha düşük tespit edilmiş olabilir.

Şu ana kadar yapılmış olan farklı klinik ve preklinik çalışmalarda ERCC-1 ekspresyonu ile cisplatin tarafından over kanseri, kolorektal kanser, primer mide kanseri, özefagus kanseri gibi farklı kanser hücrelerinde oluşturulan DNA hasarının tamiri arasındaki ilişki gösterilmiştir. KHDAK örnekleri ile yapılan çalışmalarda ERCC-1 ekspresyonunun tedavi almış ve almamış hastalarda prognostik önemi olabileceğini vurgulayan çalışmalar bulunmaktadır [86].

Prognoz açısından KHDAK'inde tümörün evresi en kuvvetli ve yaygın olarak kabul gören prediktif bir parametredir. Birçok moleküler belirteç prognoz tayini için kullanılmıştır ancak tedavi kararını etkileyecek bir kriter elde mevuct değildir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada [87] KHDAK nedeniyle küratif amaçla opere 51 hastadan elde edilen tümor dokularında ERCC1 ekspresyon seviyleri tespit edilmiş. Hastaların surveyi ile ERCC1 seviyeleri arasında istatistiksel olarak

anlamlı ilişki bulunmuş. ERCC1 seviyesi yüksek olanların surveyleri daha uzun bulunmuş. Bu istatistiksel ilişki ERCC1 seviyeleri düşük ve yüksek gruplar yerine düşük, orta ve yüksek olarak üç grupta incelendiğinde de devam ediyormuş. Çalışmada yapılan alt grup analizinde adenomatöz ve yassı epitel hücreli tümörler ERCC1 seviyeleri açısından karşılaştırılmış; yassı epitelyum hücreli kanser tipinde ERCC1 ekspresyonu anlamlı olarak adenomatoz tipten daha düşük bulunmuş. Bu durumunun skuamoz hücreli tümörlerin (baş, boyun, özefajial, anal ve KHDAK) pilatin bazlı kemoterapilere iyi cevap verirken adnokarsinomlarda tespit edilen yüksek ERCC1 ekspresyon seviyesininde pilatin bazlı kemoterapilere gösterilen tedavi direncini açıklamakta kullanılabileceği ifade edilmiş. Tümör evresi ile ERCC1 ekspresyon oranı arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiş. Çalışmamızda KHDAK hastalarının tümör tipi ve tümör evresi ile ERCC1 ekspresyon düzeyi arasında bir ilişki bulunamadı. Tümör tipi ile ERCC1 düzeyi arasındaki ilişkinin tespit edilememesi alt grup sayılarının düşük olmasından kaynaklanmış olabilir.

Yapılan başka bir çalışmada ERCC-1 düzeyi yüksek olan hastalarda düşük olanlara göre daha kısa sağ kalım oranları tespit edildiği bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada akciğer kanserli hastalarda ERCC1 ekpresyonu % 44 hastada yüksek olarak bulunmuştur. Yine bu çalışmada ERCC-1 ekspresyon seviyesinin yalnızca ileri evre hastalarda ve cisplatin bazlı kemoterapi ile tedavi edilen hastalarda önemli prediktif değerinin olduğu, cisplatin bazlı kemoterapi almayan , evre III ve daha düşük evrede olan hastalarda ERCC1'in istatistiksel olarak prediktif bir değerinin olmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmadada ERCC1'in düşük evreli grupta prediktif değerinin olmaması hasta sayısının düşüklüğüne bağlanmıştır [66]. Başka bir çalışmada ise 118 KHDAK hasta çalışmaya alınarak değerlendirilmiş. Bu çalışmada ise ERCC1 ekspresyon seviyesi yüksek olan hastaların surveylerinin ERCC1 ekspresyonu düşük olanlara göre daha uzun oluğu tespit edilmiş. Bu çalışmada ERCC1, KHDAK hastalarında survey için bağımsız prediktif değere sahip olduğu vurgulanmıştır [88]. Bizim çalışma düzenimizde hastaların sürveyleri değerlendirilemediğinden bu konuda bir yorumda bulunulmadı.

IALT (The International Adjuvant Lung Cancer Trial) çalışmasının bir alt grubu olarak 1024 KHDAK hastanın alındığı çok merkezli bir çalışmada ERCC1 ekpresyonu immünhistokimyasal yöntemlerle bakılmıştır. Bu çalışmada IALT çalışmasına alınan 1867 hastadan patoloji blokları temin edilerek, tek merkezde çalışılabilen 867 patoloji bloku incelenmiş. Bunlardan 824 tanesinde çalışma için yeterli doku bulunmuş. Yeterli doku bulunan bloklar incelenerek 783 tanesi çalışmaya alınmış. ERCC1 pozitifliği boyamadaki pozitif ve negatif çekirdekli hücre sayısı ve boyamanın derecesine göre belirlenmiş. Sonuç olarak ERCC1 ekspresyonu ile yaş, histolojik tip ve plevral invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuş. ERCC1 ekspresyonu skuamoz hücreli kanserlerde adenomatoz kanserlere göre, 55 yaş üzerinde olan hastlarda daha genç hastalara göre ve plevral efüzyonu olanlarda olmayanlara göre daha sık pozitif olarak belirlenmiş. Bu çalışmada ERCC1 pozitifliği ortalama 56 aylık takipte prognoz arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiş. Aynı çalışmada kemoterapi almayan kontrol grubu ile kemoterapi alan grup ERCC1 açısından karşılaştırıldığında ERCC1 negatif tümörlü kemoterapi alan grupta ortalama sağ kalımın istatistiksel olarak daha uzun olduğu (kontrol grubundan 14 ay daha uzun), kemoterapi sonrası hastalıksız sağkalım süresinin de kemoterapi alan ERCC1 negatif grupta daha uzun olduğu tespit edilmiş. Aynı çalışmada ERCC1 pozitif hastalar kendi içlerinde değerlendirildiğinde kemoterapi alan ve almayan grup arasında survey açısından anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiş. Çalışma sonunda, genel istatistik yorumda ise ERCC1 pozitifliğinin survey üzerinde istatistiksel olarak önemli olduğu belirtilmiş. Kemoterapi almayan kontrol grubu, ERCC1 pozitif ve negatif olanlar olarak karşılaştırıldığında ise 5 yıllık sağkalımın ERCC1 pozitif hastalarda negatif olanlara göre anlamlı olarak daha uzun olduğu tespit edilmiş [78]. Bizim yaptığımız çalışmada hastaların yaşları, tümör evreleri ile ERCC1 ekspresyonu arasında bir ilişki bulunamadı. Elde edilen farklı sonuçların nedeni ERCC1 ekspresyonunun tayini için kullanılan yöntemlerin farklı olmasından ve yine çalışmaya alınan hasta sayısının farklı olmasından kaynaklanabilir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda ERCC1'in artmış ekspresyonun KHDAK'nın genel sağ kalımında daya iyi bir prognozla birlikteliği olduğu yorumları yapılmıştır. Bunun aksine diğer bazı çalışmalarda ise ERCC1'in artmış

ekspresyonunun platin bazlı kemoterapilere artmış direnç ile birlikteliğinin olduğu yorumları yapılmaktadır. ERCC1 ekspresyonunun platin bazlı kemoterapilere alınan cevap oranlarına etkisinin araştırıldığı çalışmaların incelendiği bir metaanalizde 17 çalışma incelenmiş. Bu çalışmalarda ERCC1 varlığı immünhistokikmyasal testlerle değerlendirilmiş. Bu derlemede ele alınan 11 çalışmada platin bazlı kemoterapilerle tedavi edilen hastalardan ERCC1 negatif hastaların pozitif olanlara oranla istatistiksel olarak anlamlı daha iyi survey sonuçları olduğu belirtilmiş. Yine bu derlemede ele alınan birkaç çalışmada, düşük ERCC1 seviyesine sahip hastaların istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, daha olumlu sürvey elde ettikleri yorumu yapılmıştır. Geri kalan 4 çalışmada ise sürvey açısından bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışmalar genel olarak ele alındığında, ERCC1 durumu ile platin bazlı kemoterapilerle tedavi edilen hastaların surveyleri arasında açık bir ilişki varlığı görülmekte ise de, bu çalışmaların çoğusunda ERCC1 ekspresyonu ile tedaviye cevap oranları arasında net bir istatistiksel ilişki varlığı gösterilememiştir yorumu da yapılmış. Aynı metaanalizde ERCC1 ekspresyon düzeyinin prognostik bir faktör olarak kullanılıp kullanılamayacağını inceleyen 7 çalışmada ele alınmış. Bu yedi çalışmamın 5 tanesinde yüksek ERCC1 ekspresyon düzeyinin genel olarak düşük ekspresyona sahip hastalara oranla daha uzun sağkalımı olduğu ve prognostik bir faktör olarak kullanılabileceği, bunun aksine daha önce ele alınan 17 çalışmadan 11 tanesinde de düşük ERCC1 düzeyine sahip olan hastaların platin bazlı kemoterapilerle yüksek olanlara göre daha uzun surveye sahip oldukları sonucuna ulaşılmış. Sonuç olarak, bu derlemede ERCC1'in kemoterapi rejimi belirlenmesinde ve dolayısı ile elde edilen tedavi sonuçlarının iyileştirilmesinde, potansiyel öneme sahip bir test olduğu vurgulanmıştır [86].

Sonuç olarak çalışmamızda bölgemizdeki özefagus ve KHDA kanseri hastalarında kemoradyoterapi öncesi elde edilen biyopsi örneklerinde RT-PCR yöntemi ile ERCC1 ekspresyonu araştırıldı. Hastaların tümör dokularında ERCC1 pozitifliği %15 oranında bulundu. Özefagus kanseri veya KHDAK tanısı konulan hastalarda henüz standardize edilmiş tedavi protokolleri bulunmamaktadır. Platin bazlı kemoterapi protokolleri tedavilerin ilk seçenekler arasıda yeralmaktadır. ERCC1, NER yolağı üyesi bir gen olup; preklinik ve klinik çalışmalarda prognoz,

tedaviye cevap, nüks, genel sağkalım açısından bağımsız prediktif değeri olduğuna kuvvetli deliller bulunmaktadır. Bu nedenle ERCC1'in tedavi öncesi bakılmasının tedaviyi yönlendirmede etkili olabileceği düşünüldü. Kemoterapi öncesi ERCC1 gen ekspresyon düzeyine bakılması ile, hasta profili daha net olarak belirlenebilecektir. Böylece hastalara toksik etkileri fazla fakat cevap oranı daha düşük olan kemoterapi protokolleri uygulanmayacaktır. Bunun yanında ERCC1 bakılması hekimin hastanın prognozunu tahmin etmesine katkı sağlayabilecektir

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Özefagus ve küçük hücre dışı akciğer kanserlerinde (KHDAK) ERCC1 ekspresyonun araştırıldığı bu çalışmada sonuç olarak:

1. Çalışmaya alınan 20 özefagus kanserli vakanın % 15'inde ve yine 20 KHDAK vakanın % 15'inde ERCC1 pozitifliği saptandı.
2. Çalışmamıza alınan özefagus kanserli hastaların TNM evrelemesi ($p>0,05$), WHO sınıflaması ($p>0,05$), hasta yaşı ($p>0,05$), hastanın cinsiyeti ($p>0,05$), albumin düzeyi ($p>0,05$), Hb düzeyi ($p>0,05$) ile ERCC1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı.
3. Çalışmamızda istatistiksel bir ilişki görülmemesine rağmen ERCC1 pozitif olan 3 vakanın yassıepitel hücreli özefagus kanseri olması dikkati çeken bulgular arasındaydı. Hastaların tümör çapı ile ERCC1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edildi ($p<0,05$).
4. Çalışmaya alınan KHDAK hastalarının tümör çapı ($p>0,05$), TNM evrelemesi ($p>0,05$), WHO sınıflaması ($p>0,05$), Hb düzeyi ($p>0,05$), Eritrosit sedimenatasyon hızı ($p>0,05$), Albumin düzeyi ($p>0,05$), hasta yaşı ($p>0,05$) ile ERCC1 pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı.
5. Bölgemizdeki özefagus ve KHDAK hastalarında ERCC1 pozitifliğinin ( %15 ) oranı göz önüne alındığında, bu hastaların tedavi protokollerinin bireyselleştirilmesi ve prognozlarının daha iyi tahmin edilebilmesi açısından ERCC1 eskpresyonunun araştırılmasının uygun olacağı düşünüldü.

## 7. KAYNAKLAR


1. Peter B, Bernard L (eds), Ketayun D, Miklòs K, Twalib N, Luis Pinillos A, Tuncer M, Ping Z (regional eds). WHO cancer report 2008, Lyon: IARC,2008:338-343.
2. Ute W, Daniel V, Hakan A, Fabian K. Georg L, Elfriede B, et al. ERCC1 and XRCC1 gene polymorphisms predict response to neoadjuvant radiochemotherapy in esophageal cancer. J Gastrointest Surg 2009; 13:1411–1421.
3. Fareed KR, Al-Attar A, Soomro IN, Kaye PV, Patel J, Lobo DN, Parsons SL, Madhusudan S. Tumour regression and ERCC1 nuclear protein expression predict clinical outcome in patients with gastro-oesophageal cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. Brit J of Cancer 2010; 102: 1600-1607.
4. Yüksel C, Karabörk A, Ökten İ. Özefagus kanserinde helicobacter pylori ve barret özefagus'un rolü. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2009; 62(2):79-82.
5. Özçelik MF. Özefagus kanseri: Tanı ve Cerrahi Tedavi. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, İstanbul 2001; 241-251.
6. Memik F, Gülten M, Nak G, Dolar E, et al. The epidemiology of gastrointestinal cancer in Turkey: A review of our accumulated experience. Journal of Environmental Pathology,Toxicology and Oncology (JETPO) 1996;15(2-4):209-13.
7. Koruk M, Onuk MD, Gürsan N, Polat G, Yılmaz A. Özöfagus kanseri: klinik, endoskopik ve histopatolojik Özellikleri. Endoskopi 2000;11( 1): 1-5.
8. Semnani SH, Besharat S, Abdolahi N, Kalavi KH, Fazeli SA, et al. Esophageal cancer in northeastern Iran. Indian J Gastroenterol 2005;24: 224-224.
9. Türkdoğan MK, Kırgın A, Yağcıoğlu A. Van'da erkeklerde birinci kadınlarda ikinci sırada yer alan mide ve özefagus kanserleri. İçinde Tuncer AM (ed.) Türkiyede Kanser Kontrolü: Ankara, Onur Matbaacılık 2007: 507-510.

10. Mayer RJ. Gastrointestinal tract cancer. In Fauci As, Braunwald E, Kasper DL, hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo JL. (eds) 17th Edition Harrison's Principles of internal medicine. USA: Mc Graw Hill Comp. 2008:570-57.
11. Lu JB, Sun XB, Dai DX, Zhu SK, Chang QL, et al. Epidemiology of gastroenterologic cancer in Henan Province, China. World J Gastroenterol 2003;9: 2400-2403.
12. Gammon MD, Schoenberg JB, Ahsan H, Risch HA, Vaughan TL, et al. Tobacco, alcohol, and socioeconomic status and adenocarcinomas of the esophagus and gastric cardia. J Natl Cancer Inst 1997;89:1277-84.
13. Lagergren J, Bergstrom R, Lindgren A, Nyren O. Symptomatic gastroesophageal reflux as a risk factor for esophageal adenocarcinoma. N Engl J Med 1999;340:825-31.
14. Wu AH, Wan P and Bernstein L. A multiethnic population-based study of smoking, alcohol and body size and risk of adenocarcinoma of the stomach and esophagus (United States). Cancer Causes Control 2001;12: 721-32.
15. Cameron AJ. Barrett's esophagus and adenocarcinoma: from the family to the gene. Gastroenterology 1992;102:1421-4.
16. Spechler SJ. Clinical practice: Barrett's esophagus. N Engl J Med 2002;346:836-42.
17. Altorki NK, Oliveria S, Schrump DS. Epidemiology and molecular biology of Barrett's adenocarcinoma. Semin Surg Oncol 1997;13:270-80
18. Ye W, Held M, Lagergren J, Nyren O, McLaughlin JK and Blot WJ. Helicobacter pylori infection and gastric atrophy: risk of adenocarcinoma and squamous-cell carcinoma of the esophagus and adenocarcinoma of the gastric cardia. J Natl Cancer Inst 2004;96: 388-96.
19. Larsson SC, Giovannucci E, Wolk A. Folate intake, MTHFR polymorphisms, and risk of esophageal, gastric, and pancreatic cancer: a meta-analysis. Gastroenterology 2006;131:1271-83.

20. Mayne ST, Risch HA, Dubrow R, Chow WH, Gammon MD, et al. Nutrient intake and risk of subtypes of esophageal and gastric cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2001;10:1055-62.
21. Blot WJ.(1994) Esophageal cancer trends and risk factors. Semin Oncol 1994;21: 403-10.
22. Nıkhıl K. Cancer of the Esophagus and Stomach. Mayo Clin Proc. 2008;83(6):712-722.
23. Örmeci N. Özefagus kanserinde tanı yöntemleri, Derleme Türkiye Klinikleri Cerrahi Dergisi 2000;5(1):136-43.
24. Iwaya T, Maesawa C, Ogasawara S, Tamura G. Tylosis esophageal cancer locus on chromosome 17q25.1 is commonly deleted in sporadic humanesophageal cancer. Gastroenterology 1998;114:1206-10.
25. Hiyama T, Yoshihara M, Tanaka S, Chayama K. Genetic polymorphisms and esophageal cancer risk. Int J Cancer 2007;121:1643-58.
26. Peters JH, DeMeester TR. Esophagus and diaphragmatic hernia. In: Schwartz SI, Shires TG, Spencer FC et al, (ed) Principles of Surgery. 7. ed. McGraw-Hill, 1999; 1081-1180.
27. Kenneth RM. Esophageal cancer. In McPhee SJ, Papadakis MA (eds). Current Medical diagnosis and Treatment. (49th edition) New York: McGrraw Hill 2010:1465-70.
28. Wolfsen HC, Crook JE, Krishna M, Achem SR, Devault KR, Bouras EP, et al. Prospective, controlled tandem endoscopy study of narrow band imaging for dysplasia detection in Barrett's Esophagus. Gastroenterology 2008;135:24-31.
29. Van Westreenen HL, Westerterp M, Bossuyt PM, Pruim J, Sloof GW, van Lanschot JJ, et al. Systematic review of the staging performance of 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in esophageal cancer. J Clin Oncol 2004;22:3805-12.
30. Blanchard P, Quero L, Hennequin C. Prognostic and predictive factors of oesophageal carcinoma. Bull Cancer. 2009;96(4):379-89.

31. Alidina A, Gaffar A, Hussain F, Islam M, Vaziri I, Burney I, et al. Survival data and prognostic factors seen in Pakistani patients with esophageal cancer Annals of Oncology 2004;15: 118–122.
32. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer Statistics, 2007. CA Cancer J Clin 2007; 57:43-66.
33. T.C. Sağlık Bakanlığı. Kanser İstatistikleri. Erişim:www.saglık.gov.tr
34. Eser SY. Türkiye'de kanser insidansı içinde Tuncer MA (ed).Türkiyede Kanser Kontrolü. Ankara:Onur matbaacılık, 2007;17-46.
35. Alberg AJ, Ford JG, Samet JM. Epidemiyology of lung cancer;ACCP Evidence-based clinical practice guidilines (2nd edition). Chest 2007; 132:29-55.
36. Boffetta P. Epidemiology of environmental and occupational cancer, Oncogene 2004;23: 6392–6403.
37. Köktürk N, Öztürk C, Kırışoğlu CE. Sigara ve Akciğer Kanseri. Solunum 2003;5 (3): 139-145.
38. Engstrom PF, Clapper ML, Schnol RA. Prevention of Tobacco-Related Cancer in Holland-Frei Cancer Medicine, 6th edition Edited by Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, Bast RC, Gansler TS, Holland JF, Frei E. (eds), 2003, BC Decker Inc http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK20866/
39. Müsellim B. Akciğer Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etyolojisi. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Sempozyum Dizisi 2007;58(l):.113-118.
40. Rushton L, Hutchings S. The burden of occupational cancer in Great Britain. Her Majesty's Stationery Office Norwich 2007;36-62.
41. Matakidou A, Eisen T, Houlston RS. Systematic review of the relationship between family history and lung cancer risk . Br J Cancer 2005; 93:825-833.
42. Bailey –Wilson JE, Amos CI, Pinney SM, Petersen GM, Andrade M, Wiest JS, et al. A major lung cancer susceptibility locus maps to chromosome 6q23-25. Am J Hum Genet 2004; 75:460-474.

43. Spiro SG, Ford JG, Samet JM. Initial evaluation of the patient with lung cancer: Symptoms, sign, laboratory tests, and paraneoplastic syndromes: ACCP Evidence-based clinical practice guidilines (2nd edition). Chest 2007; 132:149-160.
44. Aydın G. Akciğer kanserinde sık görülen semptomlar ve tedavi yaklaşımları. Solunum 2005; 7(2):85-94.
45. Şen F. Küçük Hücreli akciğer kanseri içinde Aydıner A, Can G (editörler).Akciğer Kanserinde Tedavi ve Bakım. İpomet matbaacılık İstanbul 2010;41-52.
46. Akciğer kanseri tanı ve tedavi rehberi. Toraks Dergisi. 2006; 7: 1-37.
47. Beckles MA, Spiro SG, Colice GL, Rudd RM. Initial evaluation of the patients with lung cancer: symptoms, signs, laboratory tests and paraneoplastic syndromes. Chest Supplement 2003;123:97-104.
48. Köktürk N, Kırışoğlu CE, Öztürk C. Akciğer kanseri moleküler biyolojisi. Solunum 2003; 5:127-138.
49. Riely GJ, Marks J, Pao W. KRAS Mutations in non–small cell lung cancer. Proc Am Thorac Soc 2009;6: 201–205.
50. Fong KW, Sekido Y, Minna JD. Molecular pathogenesis of lung cancer. J Thorac Cardiovasc Surg 1999; 118:1136-1152.
51. Lawson MH, .Rassl DM, Vowler SL, Cummings NM, Howat WJ, G Murphy, et al. Is Bcl-2 important in small cell lung cancer? Thorax 2010;65:A43 doi:10.1136/thx.2010.150938.44.
52. Melamed MRG, Flehinger BJ, Zaman MB et al. Screening for early lung cancer: results of the Memorial Sloan-Kettering Study in New York. Chest 1984;86:44-53.
53. Tockman MS. Survival and mortality from lung cancer in screened population: The John Hopkins Study. Chest 1986;89:324S.
54. Spiro SG, JC Porter. Lung Cancer- Where are we today? Current advances in staging and nonsurgical treatment. Am J Respir Crit Care Med 2002; 166:1166-1196.

55. Erkilic S, Ozsarac C, Kullu S. Sputum cytology for the diagnosis of lung cancer: comparison of smear and modified cell block methods. Acta Cytol 2003; 47:1023-1027.
56. Riviera MP, Metha CA, Initial diagnosis of lung cancer: ACCP Evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition). Chest 2007; 132:131-148.
57. Aydın G. Akciğer Kanserinde Tanı Yöntemleri. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi 2007;(58l) 141-152.
58. Gerard A, Silvestri, Michael K, Gould, Mitchell L, Lynn T, et al. Noninvasive staging of non-smalll cell lung cancer: ACCP Evidence-based clinical practice guidilines (2nd edition). Chest 2007; 132:178-201.
59. Herder GJ, Golding RP, Hoekstra OS, Comans EF, Teule GJ. The performance of (18F)- fluorodeoxyglucose positron emission tomography in small solitary pulmonary nodules. Eur JNucl Med Mol Imaging 2004; 31:1231-1236.
60. Deterbeck FC, Falen S, Rivera MP, Halle JS, Socinski MA. Seeking a home for a PET: part 2. Defining the appropriate place for positron emission tomography imaging in the diagnosis of pulmonary nodules or masses. Chest 2004; 125:2294-2303.
61. Birim Ö, Kappetein AP, Stijnen T, Bogers JJC. Meta-Analysis of positron emission tomographic and computed tomographic ımaging in detecting mediastinal lymph node metastases in nonsmall cell lung cancer. Ann Thorac Surg 2005;79:375– 81.
62. Mountain CF. Revisions in the international system for staging lung Cancer. Chest 1997; 111:1710-7.
63. Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, Giroux DJ, Groome PA, Rami-Porta R, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification of malignant tumours. J Thorac Oncol 2007; 2:706-14.

64. Hoang T, Xu R, Schiller JH. Clinical model to predict survival in chemonaive patients with advenced non-small-cell lung cancer treated with third-generation chemotherapy regimens based on eastern coperative oncology group data. J Clin Oncol 2005; 23:175-83.
65. Ece T. Akciğer Kanserine genel bakış içinde Aydıner A, Can G (ed). Akciğer Kanserinde Tedavi ve Bakım İpomet matbaacılık İstanbul 2010;1-6.
66. Batty DP, Wood RD. Damage recognition in nucleotide excision repair of DNA Gene 241 (2000) 193–204.
67. Bepler G, MD, PhD, Begum M. Molecular analysis-based treatment strategies for non-small cell lung cancer. Cancer control 2008; 15(2):130-139.
68. Ceppi P, Volante M, Novello S, Rapa I, Danenberg KD, Danenberg PV, et al. ERCC1 and RRM1 gene expressions but not EGFR are predictive of shorter survival in advanced non-small-cell lung cancer treated with cisplatin and gemcitabine. Annals of Oncology 2006;17: 1818–1825.
69. Fruta T, Ueda T, Anue G, Sarasin A, Kraemer KH, Pammier Y. Transcription-coupled nucleotide excision repair as determinant of sisplatin sensitivity of human cells. Cancer Res 2002; 62:4899-49.
70. Nunez F, Chipchase MD, Clarke AR, Melton DW. Nucleotide excision repair gene (ERCC1) deficiency causes G(2) arrest in hepatocytes and a reduction in liver binucleation: the role of p53 and p21. Faseb J 2000; 14(9):1073-82.
71. Bepler G, Gautam A, Mclntyre LM, Beck AF, Chervinsky DS, Kim YC, et al. Prognostic significance of molecular genetic aberrations on chromosome segment 11p15.5 in non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol 2002; 20(5):1353-60.
72. Pan J, Jie L, Julie GI, Yang L, Jinliang X, Maosheng H, et al. Genetic susceptibility to esophageal cancer: the role of the nucleotide excision repair pathway Carcinogenesis 2009; 30:785–792.
73. Wen-Jing M, Guo-Dong L, Shu-Tao Z, Cong-Gai H, Qing L, et al DNA polymorphism and risk of esophageal squamous cell carcinoma in a

population of North Xinjiang, China. World J Gastroenterol 2010; 16(5): 641-647.

74. Mary-Beth MJ, Yoshinori S, Kathleen DD, Debbi HC, Dennis SS, James E. Et al. High Gene Expression of TS1, GSTP1, and ERCC1 are risk factors for survival in patients treated with trimodality therapy for esophageal cancer. Clinical Cancer Research 2005;11: 2215–2221.
75. J Wei1, Z Zou, X Qian, Y Ding, L Xie, JJ Sanchez, Y Zhao, J Feng, et al. ERCC1 mRNA levels and survival of advanced gastric cancer patients treated with a modified FOLFOX regimen. British Journal of Cancer 2008; 98:1398 – 1402.
76. Min Kyoung Kim, Kyung-Ja Cho, GuiYoung Kwon, Seung-I Park, Yong Hee Kim, Jong Hoon Kim, et al. Patients with ERCC1-Negative locallyadvanced esophageal cancersmay benefit from preoperative chemoradiotherapy. Clin Cancer Res 2008;14(13): 4225-4231.
77. Langer R, Specht K, Becker K, Ewald P, Bekesch M, Sarbia M, et al. Association of pretherapeutic expression of chemotherapy-related geneswith response to neoadjuvant chemotherapy in Barrett carcinoma. Clin Cancer Res 2005;11(20): 7462-69.
78. Olaussen KA, Mountzios G, Soria JC. ERCC1 as a risk stratifier in platinum-based chemotherapy for nonsmall-cell lung cancer. Curr Opin Pulm Med. 2007;13(4):284-9.
79. Mountzios G, Dimopoulos MA, Papadimitriou C. excision repair cross-complementation group 1 enzyme as a molecular determinant of responsiveness to platinum-based chemotherapy for non small-cell lung cancer. biomark ınsights. 2008; 17(3):219-226.
80. Osawa K. Gene polymorphisms and chemotherapy in non-small cell lung cancer. Chin J Lung Cancer 2009; 12: 837-40.
81. Herbst RS, Giaccone G, Schiller JN, Natale RB et al. Gefitinib in combination with paclitaxel and carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer: a phase III trial—INTACT 2. J Clin Oncol 2004; 22: 785–794.

82. Herbst RS, Prager D, Hermann R, Fehrenbacher L et al. TRIBUTE: a phase III trial of erlotinib hydrochloride (OSI-774) combined with carboplatin and paclitaxel chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol 2005; 23:5892–5899.
83. Giaccone G, Herbst RS, Manegold C, Scagliotti G et al. Gefitinib in combination with gemcitabine and cisplatin in advanced non-small-cell lung cancer: a phase III trial—INTACT 1. J Clin Oncol 2004; 22: 777–787.
84. Taillade L, Penault-Llorca F, Boulet T, Fouret P, Michiels S, Taranchon E, et al. Immunohistochemichal expression of biomarkers: a comparative study between diagnostic bronchial biopsies and surgical specimens of non-small-cell lung cancer. Ann Oncol. 2007;18(6):1043-50.
85. Gomez-Roca C, Raynaud CM, Penault-Llorca F, Mercier O, Commo F, Morat L, et al. Differential expression of biomarkers in primary non-small cell lung cancer and metastatic sites. J Thorac Oncol. 2009 ;4(10):1212-20.
86. Hawkins DA, Lea A, Levine S. ERCC1 Expression analysis to guide therapy in non-small cell lung cancer PLoS Curr. 2010 December 6; 2: RRN1202 doi: 10.1371/currents.RRN1202. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2998231/
87. George RS, Swati S, Alan C, Prudence S, Gerold B. ERCC1 expression ıs a predictor of survival in resected patients with non-small cell lung cancer. Chest 2005;127;978-983.
88. Zhengping D, Jie Z, Jinchen S. ERCC1 expression as a predictor of survival after operation in stage ı non-small cell lung cancer Patients Chin J Lung Cancer 2010;13(5):522-25.