

GİRİŞ VE AMAÇ

Çevresel etkilerle oluşan birçok hastalık, kişinin genetik yapısının özelliğine göre ortaya çıkan yanıtla yakından ilişkilidir. Son zamanlarda çevresel zararlı uyarıların akciğerlerde hastalık oluşturuıcı potansiyel etkileri konusunda giderek artan veriler vardır. Bu hastalıkların başında da akciğer kanseri gelmektedir. Günümüzde kadın ve erkeklerde önemli mortalite nedeni olan akciğer kanserinde 5 yıllık yaşam süresi yalnızca % 10-15 olarak bildirilmektedir (1). Akciğer kanserinin oluşmasında en önemli etken olan tütün dumanının inhalasyonu, solunum yolu epitelinde kalıcı değişikliklere yol açmaktadır. Akciğer kanserinin erken tanısına yönelik yapılan çalışmalar göstermiştir ki erken tanı ile sağkalımda iyileşme sağlanamamaktadır. Bunun nedeni klinik olarak küçük boyutta saptansa bile akciğer kanserinin erken dönemde metastaz yapmış olma olasılığıdır. Sonuç olarak akciğer kanserini daha preneoplastik evrede iken saptamak gerekmektedir (1). Klinik olarak tanı almış akciğer kanserinde meydana gelen genetik değişiklikleri araştıran değişik çalışmalar bronş epitelinde birtakım genetik değişikliklerin preneoplastik değişimin temelini oluşturduğunu düşündürmektedir.

Uzun süreli karsinojenlere maruz kalınması genetik yapıda hasar oluşturarak hücre çoğalmasını kontrol eden genlerde değişikliklere yol açmaktadır. Bu değişiklikler; DNA düzeyinde mutasyon, delesyon ve insersiyonlar ile RNA düzeyinde kanser ilişkili genlerdeki ekspresyonlardan oluşmaktadır (2). Mutasyonlar onkogenik genler (K-ras, siklinler gibi) ve/veya tümör baskılayıcı genlerde (p53, Retinablastom, p16 gibi) geliştiğinde tümör gelişimi için adım atılmış olur (3).

Genetik yapıda meydana gelen değişikliklerin belirli hastalıklarla yakın ilişkisi vardır. Bu nedenle, özel bazı genetik değişikliklerin olduğu hasta gruplarında hangi hastalıkların daha yüksek olasılıkla oluşabileceği öngörülebilir. Ancak bu değişikliklerin gösterilebileceği uygun örneklerin elde edilmesi her zaman mümkün olmamaktadır. Örneğin akciğer kanserinde, doğrudan akciğerleri temsil edebilecek doku örnekleri bronkoskopi gibi invaziv veya uyarılmış balgam gibi semi-invaziv yöntemlerle elde edilebilmektedir. Ekspirasyon havasının yoğunlaştırılmasıyla elde edilen sıvıda (yoğunlaştırılmış ekspirasyon havası, YEH; exhaled breath condensate, EBC) bakılan bazı biyolojik belirteçlerin, havayolu inflamasyonu değerlendirmedeki değeri konusunda son yıllarda giderek artan sayıda çalışma yayımlanmıştır. Yoğunlaştırılmış ekspirasyon havası (YEH)'ni ilginç kılan, materyali elde

etmenin tamamen noninvaziv olması ve hasta için herhangi bir rahatsızlık veya risk oluşturmamasıdır (4). Yoğunlaştırılmış ekspirasyon havasının akciğerlerde meydana gelen değişiklikleri gösteren bazı belirteçleri temsil edebilmesi nedeniyle, ekspirasyon havasının yalnızca su buharından oluşmadığı, bazı solubl ve nonsolubl maddeler için de taşıyıcı rol oynadığı düşünülmektedir. YEH'nı genetik inceleme açısından değerlendiren sınırlı sayıdaki çalışma umut vericidir (5, 6). Bu çalışmada, KHDAK olan ve kanser tanısı olmayan hasta gruplarında genetik açıdan YEH örneğinin araştırmaya yetecek düzeyde DNA içerip içermediğinin araştırılması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

Epidemiyoloji

Akciğer kanseri, 20. yüzyılın başlangıcında nadir görülen bir hastalık iken, 1950 yılından itibaren sıklığı belirgin olarak artmıştır (7). Bu artışta risk faktörlerinin yanı sıra, hem epidemiyolojik verilerin elde edilebilirliğinin artması, hem de ortalama yaşam süresinin artmasının etkili olduğu düşünülmektedir. Kadınlarda akciğer kanseri insidansı 1960 yılında 6/100000 iken, 1990 yılında bu oran > 40/100000 olarak bildirilmiştir (8). 2000 yılında, dünyada tanı koyulan akciğer kanserli olgu sayısının 1.2 milyon olduğu ve akciğer kanserli olguların tüm kanserli olguların % 12.3'ünü oluşturduğu rapor edilmiştir (9). Akciğer kanseri, Avrupa'da kadın ve erkekte en sık görülen ikinci kanserdir (10). Tüm dünyada da en çok ölüme yol açan kanser türüdür (11). Ülkemizde toplamda ve erkeklerde en sık görülen kanser tipi olup kadınlarda sıklık açısından 7. sıradadır (12). İleri yaş gruplarında akciğer kanserinin görülme sıklığı ve mortalitesi artmaktadır (13).

Birçok gelişmiş ülkede sigara içimi azalmasına rağmen Türkiye'de son 30 yıldır prevelansta artış vardır (14). Türkiye için sigara içiminin fazla ve akciğer kanserinin sık olduğu bilinmesine rağmen gerçek kanser insidansını belirten veriler bulunmamaktadır. Ancak ülkemizde yapılan bir çalışmada genel insidans 100.000'de 11,5 iken, yıllık insidans erkeklerde 100.000'de 61,6; kadınlarda 100.000'de 5,1 olarak bildirilmiştir (12, 15).

Edis ver ark 'nın çalışmasındaki verilere göre akciğer kanserinde maliyet üzerinde cinsiyet, yaş ve histopatolojinin etkisi yok iken hastalık evresi arttıkça direk tıbbi maliyetin de artmakta olduğu sonucuna varılmıştır. Her bir yaşam yılının doğrudan tıbbi maliyeti daha da arttırdığı saptanmıştır (16).

Etyoloji

Akciğer kanserinin %94'ünden tütün dumanının sorumlu olduğu ileri sürülmektedir ve akciğer kanserinden ölümlerin çoğu tütün dumanı ile ilişkili bulunmuştur (17). Sigara içenlerde akciğer kanseri riski içmeyenlerden 24-36 kat fazladır. Çevresel tütün dumanı maruziyeti de, aktif olarak içilme bile kanserojen etkiler arasında kabul edilmektedir. Pasif sigara maruziyetinde risk %3,5'tir (18). Sigara içen kişilerde akciğer kanseri gelişimini; kullanım süresi, başlama yaşı, tipi, günlük içilen miktar etkilemektedir. Sigara kullanım miktarı paket-yıl olarak belirlenir ve 20 paket-yıldan sonra risk belirgin olarak artar. Sigaranın bırakılması tamamen riski ortadan kaldırmasa da, riski azaltmaktadır. Puro içenlerde risk üç kat, pipo kullananlarda ise sekiz kat artmaktadır. Filtreli ya da düşük katran içeren light sigara içimi ile de risk azalmamaktadır. Aksine bu tür sigara kullananlarda adenokanser riski artmaktadır (17).

Sigara havayollarında sistemik ve lokal bağışıklığı azaltmaktadır. Kanser olmayan sigara içicilerin havayollarında, sigarayı bıraktıktan sonra bile uzun yıllar devam eden moleküler değişiklikler, akciğer kanserinde görülen değişikliklere benzemektedir. Sigaranın onkogenlerde artma ve tümör baskılayıcı genlerde azalmaya neden olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (3). Akciğer kanserinin sigara içen ve içmeyenlerde farklı patogenetik mekanizmalarla oluşması olasıdır. Sigara içenlerde daha yaygın ve farklı genetik hasarlar oluşmaktadır. p53 mutasyonu sigara içen akciğer kanseri hastalarında daha sık görülmektedir (sigara içenlerde %58; içmeyenlerde %10). p53 gen mutasyonu özellikle büyük hücreli ve skumöz hücreli akciğer kanserinde, adenokarsinomlara göre daha sıktır. Adenokarsinomlu hastaların da sigara içimi olanlarında sigara içmeyenlere göre p53 ve K-ras mutasyonu daha sık görülmektedir (19, 20). Sigara içmeyen hastalarda ise GuaninSitozin- AdeninTimin (GC-AT) transizyonu ve delesyonların daha sık olduğu ve akciğer kanserine neden olduğu gösterilmiştir (21). K-ras mutasyonu ve kromozomal kayıplar da sigara içenlerde daha fazla oluşmaktadır (21, 22).

Sigara dumanı 4000'den fazla kimyasal madde ve partikül içermektedir. Bunların başlıcaları doğrudan kanser ilişkisi olduğu bilinen radon, bizmut, polonyum gibi radyoaktif maddeler ve katrandır. Ülkemizde sigara kullanımı, 45-65 yaş aralığında, erkeklerde ortalama %54.5- 62.8; kadınlarda %24.8- 29 arasındadır (17). Kırsal bölgede yaşayan kadınlarda ise %8.9'dur. Toplumumuzdaki yüksek sigara tüketim oranlarını göz önüne aldığımızda,

günümüzde ve gerekli önlemler alınmazsa yakın bir gelecekte akciğer kanserinin önemli bir sağlık sorunu olacağını söylemek yanlış olmaz.

Pasif duman maruziyeti de akciğer kanseri için bir risktir. EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition) çalışmasında sigara içmemiş ve sigarayı bırakmış olan hastalarda akciğer kanseri gelişmesinde pasif sigara içiminin %16-24 oranında rol oynadığı, hava kirliliğinin %5-7 oranında olup, başlıca temasın işyeri ile ilgili temas olduğu belirtilmiştir (23). Sigara içen annelerin bebeklerinden alınan idrar örneklerinde adenokarsinom ile ilişkilendirilen bir madde olan 4-nitrozamin, 4-1 bütanon seviyelerinin yüksek bulunması nedeniyle, pasif sigara dumanı ile karşılaşmanın kanser riskini arttırdığı düşünülmektedir (24). Epidemiyolojik çalışmalar da bireyin sigara içmese bile, çocukluk dönemindeki pasif dumana maruz kalmasının kanser riskini arttırdığını desteklemektedir (23).

Akciğer kanseri gelişiminde sigara içimi ve pasif maruziyeti dışında yaş, ırk, cinsiyet, meslek, hava kirliliği, radyasyon, geçirilmiş akciğer hastalığı sekeli, diyet, viral infeksiyonların ve immunolojik faktörlerin de önemli etkilerinin olduğu bilinmektedir. Kadınlarda daha sık adenokarsinom gözlenmesi; Epidermal Growth Faktör Reseptörü (EGFR) ailesinin üyesi olan HER2 (EGFR2) 'deki mutasyonların daha sık görülmesi ile ilişkili olabilir (25). Ayrıca kadınların erkeklerden farklı olarak daha sıklıkla insan papilloma virüs gibi cinsiyete özgü viral infeksiyonları barındırmaları da rol oynayabilir (26).

Yedi Avrupa ülkesini içeren çok merkezli bir çalışmada, hiç sigara içmemiş olan hastalarda meslek ve akciğer kanseri ilişkisi değerlendirildiğinde demir dışındaki metal toz ve dumanları, silika ve organik çözücü maruziyetinin akciğer kanseri için risk oluşturduğu saptanmıştır (27). Bronş karsinomu etyolojisinde rol oynayan önemli bir mineral olan asbest, gerek endüstriyel olarak (gemi, izolasyon, otomatik sanayi gibi) gerekse çevresel maruziyet sonucunda etken olabilir. Asbest yurdumuzun çeşitli bölgelerinde bulunmakta olup, kırsal alanda sıva ve boya amacıyla kullanılmaktadır. Zeolit ise Kapodokya'da peri bacalarında yer alan mineraldir. Asbest enflamatuar olaylara yol açmasının yanısıra karsinojen gibi davranarak DNA zincirini kırmaktadır. Asbestle beraber bulunan eser miktardaki metallerin de bronş karsinomunda rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca, asbest hücre membranındaki permeabilityyi artırarak karsinojenik maddelerin hücre içine girmesini sağlamakta, böylece kromozomal bozukluklar yaratabilmektedir. Doğal öldürücü (Natural Killer) lenfositler, malign hücreleri tanıyan ve bunları imha eden hücrelerdir. Asbest işçilerinde, bu hücrelerin aktivitelerinin arttığı, ancak ileri asbestosis veya akciğer kanseri olgularında azaldığı

gösterilmiştir (28). Sigara içmeyen asbest işçisinde bronş karsinomu gelişme riski 5 kat artarken, asbest maruziyeti ile birlikte sigara da içiliyorsa risk 92 kat artmaktadır (29).

Diğer endüstriyel etkenler nikel ve nikel bileşenleri, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, radyasyon, krom, berilyum, kadmiyum ve formaldehiddir (18). Akciğerde skar gelişimine yol açabilen tüberküloz, interstisyel akciğer hastalığı, bronşektazi, pnömoni ve abse gibi hastalıklar akciğer kanseri gelişme riskini arttırmırlar. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı ya da silikozis varlığında da bu risk yükselmektedir (18, 30-33). Kuvartz maruziyeti ile ortaya çıkan silikozis ya da diğer fibrozis ile sonuçlanan hastalıklarda da skar zemininde kanser gelişme riski nedeniyle risk artmaktadır. İç ve dış ortam hava kirliliği, çevresel sigara maruziyeti, dizel yakıtların atıkları ile petrokimyasal atıklar akciğer kanseri gelişiminde rol oynayan en önemli çevresel faktörlerdir (18, 30, 34).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada il merkezinde yaşayanlarda malignite riskinin diğer değişkenlerden bağımsız olarak 2.19 kat fazla bulunması muhtemelen il merkezindeki hava kirliliği, egzoz dumanı gibi çevresel etkenlerle ilişkilidir (29). Nitekim, çevresel toz maruziyetinin sigaradan bağımsız olarak akciğer kanseri riskini arttırdığını gösteren çalışmalar vardır (35). Akciğer kanserinin yaklaşık %15'inin çevresel maruziyete bağlı olduğu ve etyolojik ajanların değişken olduğu (silika, asbestos, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, boya, maden gibi) belirtilmiştir (36). Kanser gelişiminde çevresel etkiler dışında, yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıkları da önemlidir (37). A vitamini ve Beta karotenden fakir, yağ içeriği açısından zengin diyetin akciğer kanseri riskini arttırdığı, E vitamini ve selenyumun azalttığı bildirilmiştir (18, 30).

Sosyoekonomik durumu kötü olanlarda akciğer kanseri riski 2-6 kat fazladır ve bu muhtemelen etyolojideki yer alan kanserojen faktörlere daha fazla maruz kalınması ile ilişkilidir. Tedavi amaçlı uygulanan bazı girşimler de akciğer kanseri riskini artırabilir. Kadınlarda meme kanseri tedavisinde uygulanan radyoterapi ile aynı tarafta akciğer kanseri gelişme riski 2 kat artmıştır ve bu risk radyoterapiden 10 yıl sonra başlamaktadır. Aynı zamanda hasta sigara içiyorsa risk 40 kata kadar artmaktadır (38). Non-Hodgkin lenfoma hastalarında da akciğer kanser sıklığı radyoterapiden 5 yıl sonra başlayarak 1.5 kat artmıştır. Hodgkin lenfoma hastalarının 30 yıl izlendiği çalışmada akciğer kanseri riski 2.9 kat artmış olduğu bulunmuştur (39) .Bu durum hastaya uygulanan girşimlerle ilişkili olabileceği gibi, kişilerin genetik açıdan kanser gelişme yatkınlığı ile de açıklanabilir.

Nitekim, benzer düzeyde risk faktörüyle karşılaşmalarına karşın, kanserin bireylerin tümünde ortaya çıkmaması, ayrıca kanserli bireylerin ailesel öykülerinde de kanser olaylarının 2.4 kat daha sık olduğunun bildirilmesi genetik yatkınlığın önemli olduğunu düşündürmektedir (17, 18, 30). Her ne kadar aynı çevrede yaşamaları nedeniyle aile bireylerinin, aynı çevresel kanserojen maddelerle karşılaşma riski söz konusu olsa da, tek başına çevresel risk faktörlerinin hastalık fenotipini belirlemede yetersiz kalacağı açıktır.

Uzun süreli karsinojenlere maruz kalınması genetik yapıda hasar oluşturarak hücre çoğalmasını kontrol eden genlerde değişikliklere yol açmaktadır. Mutasyonlar onkogenik genler ve/veya tümör baskılayıcı genlerde geliştiğinde tümör gelişimi için adım atılmış olur. Epidermal büyüme faktörü reseptörünü (EGFR) kodlayan ERBB1 geni ve RAS protoonkogenleri daha çok küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde oluşan mutasyonlardan sorumludur. Tümör baskılayıcı genlerden p53 geni; DNA hasarına cevap olarak hücre siklusunu, DNA sentezi ve onarımını, hücre differansiyasyonunu ve apoptozisi kontrol eden genleri düzenleyen proteini kodlar. KHAK'ların % 90'ı ve KHDAK'lerinin %50'sinden fazlasında p53 mutasyonu saptanmıştır (1).

Tarama ve Erken Tanı

Asemptomatik akciğer kanserli olguların erken evrede olduğunun düşünülmesi, risk gruplarında tarama yapılmasını gündeme getirmiştir. Amerika Birleşik Devletleri Mayo klinik, Memorial- Sloan- Kettering kanser merkezi, John Hopkins hastanesi ve Çekoslovakya çalışmalarında; sigara içen erkeklerde balgam sitolojisi ve akciğer radyografisinin erken tanıdaki etkileri araştırılmış ve akciğer kanserine bağlı mortaliteyi azalttığı gösterilememiştir (40-43). Semptomsuz hastalarda kitle tarama testi olarak seri akciğer radyografisi ya da balgam sitolojisi önerilmemektedir. Düşük doz spiral BT ile yapılmış yeterli randomize çalışmanın olmaması nedeniyle, risk gruplarının taranmasında BT tetkikinin rutin olarak önerilmesi de uygun görünmemektedir (44-46). Floresan bronkoskopi, endobronşial ultrason yardımcı transbronşial iğne aspirasyonu gibi invaziv girişimler akciğer kanseri evrelemede oldukça duyarlı ve özgül olmalarına karşın, erken tanı için tarama amacıyla kullanılmaları uygun değildir (47). 2009 yılı Ulusal Genel Kanser Ağı (NCCN- National Comprehensive Cancer Network) rehberine göre de yakınması olmayan risk grubundaki bireylerin rutin olarak taranması önerilmemektedir (48).

Akciğer kanserlerinde kandaki biyolojik belirteçlerin duyarlılığının %58- 86,9 ,özellüğünün %75,5- 85,7 arasında olduğu, ekspirasyon havası ile yapılan çalışmalarda elde edilen bulguların da, kandaki sonuçlarla kıyaslanabilir düzeyde olduğu bildirilmiştir. Bu veriler ekspirasyon havasında bazı biyolojik belirteçlerin tanıda katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir (49). Klinik pratikte kullanılan soluk testleri ise güvenilir, non-invaziv ve ucuzdur. Akciğer kanseri tarama programında yüksek riskli hasta grubunda yapılan soluk testlerinde biyomarker düzeyi çalışıldığında; soluk testlerinin %84,6 duyarlılık, %80 özelliğe sahip olduğu belirtilmiştir. Bu sonuçlar meme kanserinde kullanılan mammografiye benzer veya daha yüksek anlamlılığa sahiptir (50). Mazzone ve arkadaşları da çalışmalarının sonucunda akciğer kanseri taramasında soluk testlerini klinik olarak faydalı bulmuşlardır (51).

Akciğer Kanserinde Tanı

Semptom ve Bulgular

Akciğer kanseri sıklığı yaşla birlikte artar, 60-70 yaşlarında pik yapar. Genç erişkinlerde sıklığı daha az (50 yaşın altında % 5- 10) olup aile öyküsü mevcuttur ve bu grupta en sık görülen tip adenokanserdir. Ülkemizde genel populasyonda en sık görülen kanser tipi ise skuamöz hücreli akciğer kanseridir (%45,4) (52). Akciğer kanserli olgular büyük oranda ileri (evre IV) veya lokal ileri (evre IIIA, IIIB) evrede saptanmaktadır. Toraks Derneği Akciğer ve Plevra Maligniteleri Çalışma Grubu çalışmasında olguların %86,7'sinin ileri evrede yer aldığı bildirilmiştir (18). Akciğer kanserinin klinik olarak sinsi seyri, belirgin klinik ve semptom vermemesi nedeniyle çoğu olgu tanı konulduğunda inoperabldır. Erken dönemde saptanan olgular genellikle başka nedenlerle çekilen göğüs grafilinde saptanan nodül veya kitle lezyonları ile tanınır. Klinik tablo tümörün lokalizasyonu, bölgesel yayılımı, metastaz yapması veya sistemik etkilerine bağlıdır. Santral yerleşimli lezyonlarda öksürük uyarıcı bir semptom olmakla birlikte kişilerin sıklıkla sigara içicisi olması nedeniyle önemsenmemektedir. Ancak öksürüğün karakter değiştirmesi, tedaviye dirençli olması veya hemoptizinin eşlik etmesi uyarıcı olmalıdır. Kanserin atelektaziye neden olması, büyüyerek kitlenin yer kaplaması ve büyük havayollarına, ana damarlara veya kalbe bası yapması nefes darlığına neden olabilir veya var olan nefes darlığını arttırabilir. Periferik yerleşimli lezyonlar ise genellikle daha az semptomla yol açarlar ve bu nedenden dolayı daha geç saptanırlar. Akciğer kanseri direkt genişleme veya lenfatik dolaşım yoluyla bölgesel olarak yayılarak sinir

(Brakial pleksus, rekürren laringeal sinir, frenik sinir başta olmak üzere), vena kava superior gibi ana damar, organ (perikard, myokard, plevra, özefagus), diyafragma ve göğüs duvarı tutulumuna yol açarak semptom ve bulgu verebilir (53).

Akciğer kanserli hastaların yaklaşık 1/3'ü başvuru sırasında ekstratorasik yayılıma bağlı yakınma ve bulgulara sahiptir. Uzak metastazların en sık olduğu bölgeler kemikler, karaciğer, beyin, surrenal, deri ve lenf bezleridir (53). Lokalize kemik ağrısı, serum kalsiyum ve alkalen fosfataz yüksekliği kemik metastazını düşündüren bulgulardır. Surrenal metastazını düşündürecek spesifik bir yakınma veya bulgu yoktur. Serum transaminaz düzeylerinde yükseklik, epigastrik bölgede hassasiyet ve ağrı, iştahsızlık varlığında karaciğer metastazı düşünülmelidir. Beyin metastazı, başvuru sırasında hastaların % 10'unda saptanır. Baş ağrısı, bulantı-kusma, kişilik değişiklikleri, fokal nörolojik bulgular, denge kusuru, konfüzyon beyin metastazlı hastalarda saptanan bulgu ve yakınmalardır. Kilo kaybı ve anemi gibi bulgular uzak organ metastazı düşündürecek diğer bulgulardır (53) (18). Otopsi serilerinde uzak metastaz sıklığı skuamöz hücreli kanserde %54, adenokanserde %82, büyük hücreli kanserde %86 olarak bildirilmiş (54). Kilo kaybı, iştahsızlık, ateş, halsizlik ve anemi ise akciğer için özgül olmayan metastaz bulgularıdır.

Paraneoplastik sendrom adı verilen, tümörün kendisinden veya metastazlarından uzak bölgelerde görülen ve kanserin oluşturduğu sistemik faktörlerin ürünleriyle meydana gelen endokrin (hiperkalsemi, uygunsuz ADH salınımı, Cushing Sendromu vb.), nörolojik (Lambert-Eaton Sendromu, ensefalomyelit, nöropati vb.), metabolik (hipoürisemi, hiperamilazemi vb.), renal (glomerülonefrit, nefrotik sendrom), hematolojik (trombositoz, lökositoz, eozinofili vb.), iskelet (hipertrofik osteoartropati, çomak parmak), kollajen-vasküler (dermatomyozit, vaskülit, Sistemik Lupus Eritematozus, polimiyozit), cilt (Sweet Sendromu, Bazex Sendromu, hipertrikoz, eritrodermi vb.), koagülopati (DIC, tromboflebit vb.), diğer (ateş, kaşeksi vb.) sistemleri etkileyen bulgular ile de hasta başvurabilir. Akciğer kanserli hastaların %10'undan fazlasında görülür (18, 53, 55). Akciğer kanserli hastalarda saptanan yakınma ve bulguların sıklığı tablo I'de özetlenmiştir (53).

Tablo I. Akciğer kanserli hastalardaki yakınma ve bulguların sıklığı

Yakınma- bulgu	Sıklık %
Öksürük	8-75
Kilo kaybı	0-68
Nefes darlığı	3-60
Göğüs ağrısı	20-49
Hemoptizi	6-35
Kemik ağrısı	6-25
Çomak parmak	0-20
Ateş	0-20
Kas güçsüzlüğü	0-10
Vena kava superior sendromu	0-4
Disfaji	0-2
Wheezing ve stridor	0-2

Radyolojik İnceleme

Akciğer kanserinde radyolojik görüntülemenin amaçları, tümör tanısının konulması ve tümörün evrelendirilmesidir. Akciğer kanserinden şüphelenildiği zaman ilk istenilecek tetkik iki yönlü akciğer grafisidir. Akciğer grafisinde direkt (kitle, nodül veya infiltratif lezyonlar) veya indirekt bulgular (tedaviye cevap vermeyen pnömoni veya atelektazi, tek taraflı hava hapsi, plevral efüzyon, diyafragma felci gibi) saptanabilir. Akciğer grafisinde saptanan nodüllerin BT ile değerlendirilmesi ile nodülün lokalizasyonu, dansitesi, kontrastla boyanma paterni ve morfolojisi değerlendirilir. BT'nin negatif prediktif değeri %99,4- %99,9 olup pozitif prediktif değeri ise %2,7- 18'dir (56, 57). Nodülün dansitesini ölçmek için dinamik BT kullanılabilir. Bu tekniğin duyarlılığı %89, özgüllüğü %79, pozitif prediktif değeri %80, negatif prediktif değeri %89'dur (58).

PET noninvaziv olarak nodül veya kitlenin malign- benign ayrımında faydalı olabilecek bir yöntemdir. Malign nodüllerde duyarlılığı %96,8, özgüllüğü %77,8 olup benign nodüllerde duyarlılığı %96, özgüllüğü %88'dir. Bronkoalveolar karsinom, karsinoid tümörler, müsinöz adenokarsinomlarda yanlış negatiflik; bazı infeksiyöz (tüberküloz ve mikozlar) ve

inflatuar hastalıklarda (romatoid nodül, sarkoidoz gibi) yanlış pozitif sonuçlar verebilmektedir (59).

Tanı Yöntemleri

Akciğer kanserinin patolojik tanısında kullanılan tanı yöntemleri, primer tümöre yönelik yöntemler ve metastaz bölgesine yönelik yöntemler olarak gruplandırılabilir. Balgam sitolojisi, fiberoptik bronkoskopi ve transtorasik iğne aspirasyonu primer tümöre yönelik başlıca tanısal yöntemlerdir. Torasentez, kapalı plevra biyopsisi, torakoskopi, lenf bezi ve cilt biyopsisi metastatik lezyona yönelik tanısal girişimler olarak sayılabilir (18, 60).

Balgam Sitolojisi

Akciğer kanseri tanısında kullanılan noninvaziv bir tanı yöntemidir. Tanı için en az 3 örnek alınması önerilmektedir. Yöntemin duyarlılığı %42- 97, özgüllüğü %66- 100 olarak bildirilmektedir. Balgamda bronş epitel hücre yüzdesinin azlığı veya hazırlama tekniklerinin yetersizliği nedeniyle duyarlılığı düşüktür. Ortalama duyarlılık değeri, santral lezyonlarda %71, periferik lezyonlarda %49 olarak rapor edilmiştir. Tanı oranı tek örnek için %68, iki örnek için %78 ve üç örnek için %85 olarak bulunmuştur (60).

İndükte balgam ise spontan çıkarılan balgama göre değerlendirme açısından daha uygundur. İnce preparat tekniği ile tanısal değeri daha da artar. Yanlış negatiflik oranı yaklaşık %30'dur (61).

Balgam sitometri

Bilgisayar yardımcı DNA analiz metodu ile preinvaziv veya invaziv kanserli olguların balgamına dökülmüş hücrelerin nükleusundaki DNA'da malignite ilişkili değişikliklerin varlığı araştırılabilir. Palsic ve ark. erken evre skuamöz hücreli kanser ve adenokarsinomda balgam sitometriyi balgam sitolojisi ile kombine ettiklerinde, tek başına balgam sitolojisine göre duyarlılığın arttığını göstermişlerdir (62). Avrupa çalışmasında indükte balgam kullanılarak balgam sitometrisinin sensitivitesi, skuamöz hücreli akciğer kanserinin tüm evrelerinde %100; balgam sitolojisinin ise %10 olarak bulunmuştur (63).

Şiddetli displazi veya sitolojik bakıda DNA’da grade II veya daha yüksek gradeli değişikliklerde sitometrik değerlendirme için bronkoskopiye ihtiyaç vardır (61).

Bronkoskopi

Akciğer kanseri tanısında en sık kullanılan yöntemlerden biridir. Santral tümörlerin tanısında yüksek tanı değerine sahiptir. Bu tümörlerin tanısında kullanılan işlemler bronşiyal yıkama, fırçalama, bronkoskopik biyopsi ve bronkoskopik iğne aspirasyonudur. Santral tümörlerin tanısında bronkoskopik işlemlerin duyarlılığının değerlendirildiği bir meta analizde duyarlılık değeri; endobronşiyal biyopsi için %74, fırçalama için %59 ve bronşiyal yıkama için %48 olarak saptanmıştır. Bronkoskopik iğne aspirasyonu için %23 ile %90 arasında değişen duyarlılık değeri bildirilmiştir (60). Bir başka çalışmada ise duyarlılıkları; bronkoskopik biyopsi için %82.7, fırçalama için %68.4, endobronşiyal iğne aspirasyonu için %68.6 ve bronşiyal yıkama için %31.6 olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada tanısal işlemler kombine edildiğinde bronkoskopinin tanı değeri %89.8 olarak bulunmuştur (64). Periferik lezyonların tanısında kullanılan yöntemler transbronşiyal biyopsi, fırçalama, bronkoalveolar lavaj veya bronşiyal yıkama ve transbronşiyal iğne aspirasyonu olup bu işlemler için bildirilen ortalama duyarlılık değeri sırasıyla %46, %52, %43 ve %67’dir. Bu yöntemler birlikte uygulandığında duyarlılık %69 olarak bulunmuştur (60).

Otofloresan bronkoskopi ise beyaz ışık bronkoskopi ile otofloresan görüntülemenin birleştirilmesi olup preneoplastik lezyon ve karsinoma insitu saptanma sıklığını arttırmaktadır. Lezyonun boyut ve sınırlarının daha iyi değerlendirilmesini sağlamanın yanı sıra endobronşial tedaviye uygun olan santral akciğer kanserinin evrelendirilmesinde de kullanılmaktadır. Normal ve displastik bronş epitelinin absorpsiyon özellikleri ve floresanın spektrum farklılığı yöntemin esasını oluşturmaktadır. Normal alan yeşil, anormal alanlar kırmızı- kahverengi görülür. Otofloresan bronkoskopi ile erken lezyonları saptamada duyarlılık artar, özgüllük azalır (61).

Transtorasik İğne Aspirasyonu ve Kesici Biyopsi

Çeşitli radyolojik yöntemlerin rehberliğinde uygulanan bu yöntemler, özellikle periferik lezyonların tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu iki yöntemin tanı değerinin kıyaslandığı çalışmalarda benzer duyarlılık değerleri bildirilmiştir (60). Arslan ve arkadaşları ince iğne aspirasyonunun malign lezyonlardaki tanı değerini %88, yanlış pozitif tanı oranını %0 olarak bildirmişlerdir (65).

Metastatik Bölgelerden Biyopsi

Plevral efüzyon, akciğer kanserli olguların yaklaşık %50'sine eşlik eden bir bulgudur. Torasentez ve plevra biyopsisi, plevral efüzyonların tanısında kullanılan tanı yöntemleridir. Torasentez ve plevra biyopsisi için bildirilen tanı değerleri sırasıyla %50- 60 ve %46 olarak bildirilmektedir (18). Cilt ve lenf bezi gibi diğer metastaz bölgelerinden yapılan biyopsiler de akciğer kanseri tanısında kullanılmaktadır (18, 60).

Akciğer Kanserinun Histolojik Sınıflandırılması

Akciğer tümörlerinin histolojik sınıflaması Dünya Sağlık Örgütü tarafından 2004 yılında yeniden düzenlenmiştir (66). Aşağıda malign epitelyal tümörlerin sınıflaması verilmiştir (Tablo II).

Tablo II. Akciğer kanserinin histolojik sınıflaması

<p>Skvamöz hücreli karsinom</p> <p>Papiller</p> <p>Berrak hücreli</p> <p>Küçük hücreli</p> <p>Bazaloid</p> <p>Küçük hücreli karsinom</p> <p>Kombine küçük hücreli karsinom</p> <p>Adenokarsinom</p> <p>Adenokarsinom, miks subtip</p> <p>Asiner adenokarsinom</p> <p>Papiller adenokarsinom</p> <p>Bronkoalveoler karsinom</p> <p> Müsinöz</p> <p> Nonmüsinöz</p> <p> Mikst</p> <p>Müsin salgılayan solid adenokarsinom</p> <p> Fetal</p> <p> Kolloid</p> <p> Müsinöz kistadenokarsinom</p> <p> Taşlı yüzük adenokarsinom</p> <p> Berrak hücreli adenokarsinom</p> <p>Preinvaziv lezyonlar</p> <p>Skvamöz hücreli insitu karsinom</p> <p>Atipik adenomatöz hiperplazi</p> <p>Diffüz idiyopatik pulmoner</p> <p>Nnöroendokrin hücre hiperplazisi</p>	<p>Büyük hücreli (BH) karsinom</p> <p>BH Nöroendokrin karsinom</p> <p>BH Kombine nöroendokrin karsinom</p> <p>Bazaloid karsinom</p> <p>Lenfoepitelyoma benzeri karsinom</p> <p>Berrak hücreli karsinom</p> <p>Rabdoid fenotipinde BH karsinom</p> <p>Tükrük bezi tipindeki karsinomlar</p> <p>Mukoepidermoid karsinom</p> <p>Adenoidkistik karsinom</p> <p>Epitelyal-miyoepitelyal karsinom</p> <p>Sarkomatoid karsinom</p> <p>Pleomorfik karsinom</p> <p>İğ hücreli karsinom</p> <p>Dev hücreli karsinom</p> <p>Karsinosarkom</p> <p>Pulmoner blastom</p> <p>Adenoskuamöz karsinom</p> <p>Karsinoid tümör</p> <p>Tipik karsinoid</p> <p>Atipik karsinoid</p>
---	--

Evreleme

Akciğer kanserinin tanıyı takiben uygun bir şekilde evrelendirilmesi tedavi yönteminin seçilmesi ve prognoz açısından önemlidir. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinin evrelemesinde TNM sistemi kullanılmaktadır. Bu sistemde T primer tümörü, N bölgesel lenf bezlerini ve M uzak metastazı tanımlar. Günümüzde, 1996 yılında tanımlanan ve daha sonra bazı revizyonlar yapılan sınıflama yerine prognoza göre yeniden geliştirilen sınıflama kullanılmaktadır (Tablo III) (67, 68).

TNM SINIFLAMASI

PRİMER TÜMÖR (T)

TX: tümör durumunun değerlendirilememesi

Tis : insitu tümör

T0 : primer tümör belirtisi yok

T1

En geniş çapı ≤ 3 cm, akciğer ve visseral plevra ile çevrili, bronkoskopik olarak lob bronşundan daha proksimale invazyon göstermeyen tümör

T1a: tümör çapı 2 cm'den küçük

T1b: tümör çapı 2-3 cm aralığında

T2

Tümörün en geniş çapı > 3 cm veya ana bronşa invaze fakat ana karinaya uzaklığı ≥ 2 cm veya visseral plevra invazyonu varsa veya hiler bölgeye uzanan ancak tüm akciğeri kapsamayan atelektazi veya obstrüktif pnömoni varlığı

T2a: tümör çapı 3-5 cm

T2b: tümör çapı 5-7cm

T3

Tümörün herhangi bir büyüklükte olup göğüs duvarı (superior sulkus tümörleri dahil), diyafragma, mediastinal plevra, pariyetal perikard gibi yapılardan birine direkt invazyon göstermesi veya karinaya 2 cm'den daha yakın olup karinayı tutmayan ana bronştaki tümör veya bütün bir akciğeri kapsayacak atelektazi veya obstrüktif pnömoni ile birlikte olan tümör veya 7cm'den büyük tümör çapı veya aynı lob içinde satellit nodüller

T4

Tümörün herhangi bir büyüklükte olup mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, özafagus, vertebral kolon, karına gibi yapılardan birini invaze etmesi veya tümörden farklı lobda olup ipsilateral olan nodüller

BÖLGESEL LENF BEZLERİ (N)

Nx Bölgesel lenf bezlerinin değerlendirilememesi

N0 Bölgesel lenf bezi metastazı yok

N1

Aynı taraf peribronşiyal ve/veya aynı taraf hiler lenf bezlerine metastaz ve primer tümörün direkt yayılması ile intrapulmoner bezlerin tutulması

N2

Aynı taraf mediastinal ve/veya subkarinal lenf bezlerine metastaz

N3

Karşı taraf mediastinal ve/veya hiler, aynı veya karşı taraf supraklaviküler veya skalen lenf bezlerine metastaz

UZAK METASTAZ (M)

Mx Uzak metastaz varlığının değerlendirilememesi

M0 Uzak metastaz yok

M1 Uzak metastaz var

M1a: kontralateral lobda nodüller veya plevral nodüller veya malign plevral yayılım

M1b: uzak metastaz varlığı

*T1s: trakea veya ana bronş duvarı ile sınırlanmış, herhangi boyutta yüzeysel yayılmış tümör

Tablo III. TNM sistemine göre evreleme

EVRE IA	T1a,b	N0	M0
EVRE IB	T2a	N0	M0
EVRE IIA	T2b T1ab T2a	N0 N1 N1	M0 M0 M0
EVRE IIB	T2b T3	N1 N0	M0 M0
EVRE IIIA	T1-3 T3 T4	N2 N1 N0-1	M0 M0 M0
EVRE IIIB	T4 T1-4	N2 N3	M0 M0
EVRE IV	Herhangi bir T Herhangi bir N M1a,b		

Noninvaziv ve İnvaziv Evreleme

KHDAK'ın evrelemesinde noninvaziv ve invaziv yöntemler kullanılmaktadır (69, 70). Akciğer grafisi, bilgisayarlı tomografi (BT), MR ve PET bu amaçla kullanılan noninvaziv yöntemlerdir. BT, bu amaçla en yaygın kullanılan yöntemdir (69). Spiral BT, primer lezyonun saptanmasını ve bu lezyonun özelliklerinin değerlendirilmesini sağlar. BT hiler ve mediastinal lenf bezlerinin değerlendirilmesinde de kullanılmaktadır. Patolojik lenf bezi tanımı için farklı kriterler önerilmekle birlikte, BT'de lenf bezinin kısa çapının 1 cm'den büyük olması bu kriterler arasında en yaygın kullanılanıdır (18, 69). Dales ve arkadaşlarının 42 çalışmayı içeren meta analizinde BT'nin duyarlılığı %83, özgüllüğü %81 olarak bildirilmiştir (71).

Mediastinal lenf bezlerinin değerlendirilmesinde PET incelemenin değeri daha yüksektir. Bir çalışmada BT ve PET için sırasıyla duyarlılık %57 ve %84, özgüllük %82 ve %89, pozitif prediktif değer %56 ve %79, negatif prediktif değer %83 ve %93 olarak bulunmuştur (72).

Mediastinal invazyonun değerlendirilmesinde BT ve MR benzer duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir (9, 18). Göğüs duvarı invazyonunun değerlendirilmesinde BT'nin duyarlılığı %38- 87, özgüllüğü %40- 90, MR'ın duyarlılığı %63- 90, özgüllüğü %84- 86 olarak bildirilmektedir (73). MR incelemenin özellikle superior sulkus tümörlerinde ve

vertebra invazyonunun saptanmasında daha yüksek etkinliğe sahip olduğu kabul edilmektedir (18, 69).

Uzak metastaz, KHDAK'lı olgularda sık saptanan bir bulgudur. Beyin, karaciğer, surrenal ve kemik en sık metastaz saptanan bölgelerdir (18). Uzak metastaz araştırmasının hangi olgularda yapılması gerektiği tartışılan bir konudur. ACCP (American College of Chest Physicians) rehberi, metastaz düşündürülen yakınma ve bulguların varlığında rutin olarak uzak metastaz araştırmasının yapılmasını önermektedir. Bu araştırmanın beyin BT, batin BT ve kemik sintigrafisi incelemeleri ile yapılması yaygın kabul gören bir yaklaşımdır (69). Beyin için BT yerine MR kullanılabilir. PET incelemenin kullanımı ile uzak metastazların araştırılmasında PET-BT ve beyin MR kullanımı yeni yaklaşım olarak uygulanmaktadır (73).

KHDAK'lı olguların invaziv evrelemede kullanılan başlıca yöntemler transbronşiyal iğne aspirasyonu (TBİA), endoskopik veya endobronşiyal ultrasonografi eşliğinde iğne aspirasyonu (EUS-İA, EBUS-İA), transtorasik iğne aspirasyonu (TTİA), mediastinoskopi, mediastinotomi, video yardımcı torakoskopik cerrahi (VATS) olarak sayılabilir (18, 70). Mediastinoskopi ile 2R, 2L, 4R, 4L ve 7 (anterior grup) nolu lenf bezi istasyonlarından örnek alınabilir. Aorta-pulmoner lenf bezlerinden örnek almak için genişletilmiş servikal mediastinoskopi veya mediastinotomi kullanılır. VATS ise 5, 6, 7, 8 ve 9 nolu lenf bezlerinden örnek alma olanağı sağlar. TBİA'nın mediasten evrelemedeki ortalama duyarlılığı %76, özgüllüğü %96 ve negatif prediktif değeri %71; TTİA için bildirilen duyarlılık ve negatif prediktif değerleri ise sırasıyla %91 ve %78'dir. EUS-İA için en fazla tercih edilen lenf bezi grupları inferior pulmoner ligament, aorta-pulmoner ve subkarinal lenf bezleridir (70). EUS-İA için %88 duyarlılık, %91 özgüllük, %99 pozitif prediktif ve %77 negatif prediktif değerleri bildirilmiştir (72).

Klinik ve Patolojik Evre

Klinik evre, tedavi öncesi yapılan klinik değerlendirme ile görüntüleme yöntemleri ve endoskopik incelemelerle sağlanan bulgulara dayanılarak yapılan evrelemeyi tanımlar. BT, klinik evrelemede en yaygın kullanılan görüntüleme yöntemidir. Son yıllarda klinik evreleme için PET incelemesi kullanılmaya başlanmıştır. Endoskopik yöntemlerin başında bronkoskopi gelmektedir. Bazı olgularda mediastinoskopi de bu amaçla uygulanmaktadır. Patolojik evre ise cerrahi işlem süresince elde edilen bulgular ile cerrahi

materyalin patolojik incelemesinin sonuçlarına göre yapılan evrelemeyi tanımlamaktadır (70, 74). KHDAK'inde evrelere göre sağkalım oranları Tablo IV'de gösterilmiştir (75).

Tablo IV. Evrelere göre sağkalım oranları (aylara göre yüzdeler)

<u>Klinik evre</u>	<u>12 ay</u>	<u>24 ay</u>	<u>36 ay</u>	<u>48 ay</u>	<u>60 ay</u>
Evre I	70-90	54-79	46-71	41-67	38-61
Evre II	59-79	41-49	33-38	26-34	24-34
Evre IIIA	50	25	18	14	13
Evre IIIB	34	13	7	6	5
Evre IV	19	6	2	2	1

Yoğunlaştırılmış Ekspirasyon Havası

Hastalıkların tanısında kullanılan biyolojik belirteçler, çeşitli biyolojik materyallerde moleküler veya hücresele anlamda bazı süreçleri göstermede yardımcıdır. Bu nedenle değişik nedenlere bağlı etkilenmeyi, duyarlılığı ve maruziyet durumunu yansıtabilir. Akciğerlerde oluşan lokal inflamasyon belirteçlerinin değerlendirilmesi hızlı fonksiyonel kayıp yönünden riskli hastaların saptanmasında da yararlı olabilir. İdeal biyolojik belirteçte şu özelliklerin olması istenir:

- 1- İnflamasyon ve oksidatif stresin ağırlığını belirlemesi,
- 2- Hastalığın fizyopatolojinin daha iyi anlaşılmasına yardım etmesi,
- 3- Ayırıcı tanıya katkı sağlaması,
- 4- Hastalığın alevlenme riskini önceden belirleyebilmesi,
- 5- İlaç tedavisinin etkilerinin gözlenmesi,
- 6- Hastalığa daha duyarlı olan bireylerin tanımlanması,
- 7- Ucuz ve tekrarlanabilir olması,
- 8- İnvaziv olmaması,
- 9- Prognostik değerinin olması.

Kan ve/veya idrar örneklerinde belirteçlerin incelenmesi kolay ve tekrarlanabilir olmasına rağmen akciğerdeki olayları yansıtmada yeterli değildir (76).

Akciğer kanserindeki biyolojik belirteçler tümör tarafından yapılan veya en azından tümör varlığı ile yakından ilişkili maddelerdir. Bugüne kadar yalnızca akciğer tümörlerine özgü bir belirteç izole edilememiştir. Biyolojik belirteçler kanda, vücut sıvılarında (BAL, balgam, plevra sıvısı, ...) ve tümör dokularında ölçülebilirler. Biyolojik belirteçler kanser biyolojisinin araştırılmasında, kanser tanısında, tiplendirmede, prognozda ve rekürrens göstermede, tedavi seçiminde, tedaviyi düzenlemede ve tedaviye yanıtı belirlemede yardımcı olabilirler. Karsinoembriyonik antijen (CEA), karaciğer metastazı gelişimi ile yakından ilişkilidir. Nöron spesifik enolaz (NSE) özellikle küçük hücreli kanserli hastalarda hem serum hem de plevra sıvılarında yüksektir (77). Erken tanıda elde edilecek materyaller için bronş biyopsisi, akciğer biyopsisi, bronkoalveoler lavaj gibi invaziv yöntemlerin kullanılması, maruziyet düzeyini yansıtmada ve bazı olgularda hastalığın tanısında değerli olmakla beraber, özellikle ağır hastalarda ve çocuklarda uygulanmaları ve tekrarlanabilirlikleri zordur. Uyarılmış balgam örnekleri akciğerlerde inflamatuvar hücrelerin, mikroorganizmaların ve inflamatuvar mediatörlerin varlığı hakkında bilgi sağlayabilir. Ancak bu yöntemin uygulanması, zaman gerektirir ve ağız sekresyonları da örneğe karışabilir. Bir diğer dezavantajı, hipertonic solüsyonun bronkokonstrüksiyona, oksijen desatürasyonuna ve havayolu inflamasyonunda artışa yol açabilmesidir. İnvaziv yöntemlerin kendilerine ait inflamasyon oluşturuvcu etkileri, klinik ve epidemiyolojik araştırmalarda izlem amacıyla kullanımlarını kısıtlamaktadır (76).

Uçucu olmayan maddelerin konsantrasyonlarının tespit edilebildiği yöntemler başlıca uyarılmış balgam ve BAL ile sınırlı iken, ekspirasyon havasının yoğunlaştırılmasıyla elde edilen sıvıda (yoğunlaştırılmış ekspirasyon havası, YEH; exhaled breath condensate, EBC) bakılan bazı biyolojik belirteçlerin, havayolu inflamasyonu değerlendirmedeki değeri konusunda son yıllarda giderek artan sayıda çalışma yayımlanmıştır. YEH'ni ilginç kılan, materyali elde etmenin tamamen noninvaziv olması ve hasta için herhangi bir rahatsızlık veya risk (havayolu inflamasyonu veya bronkokonstrüksiyon gibi) oluşturmamasıdır (76, 78).

Akciğerler geniş bir yüzey alana sahiptir ve ekshalasyonla günde yaklaşık 500 mL sıvı buharlaşma şeklinde atılır. Bazı damlacıkların hava yolu yüzeylerinden kaynaklandığı ve tüberküloz gibi infeksiyöz etkenlerin yayılmasından sorumlu olduklarının anlaşılması rağmen, yakın zamana kadar dışarı verilen havanın genel olarak yalnızca respiratuar

yüzeylerden buharlaşarak oluşan gaz yapısındaki suyu içerdiği kabul edilmekteydi. Bu sıvının tamamen solunum yüzeyinden buharlaşma yoluyla geldiği, bu nedenle buharlaşmayan maddeleri içermeyeceği düşünülürken, nefesle verilen sıvının bir bölümünü solunum yollarından kaynaklanan damlacıkların oluşturduğu gösterilmiştir (76). Suda eriyen uçucu bileşikler yanı sıra, proteinler, elektrolitler ve üre dahil olmak üzere uçucu olmayan maddelerin de bulunması, YEH'nin küçük bir kısmının nefes alıp verme sırasındaki iletici güçler ile solunum yüzeylerinden gelen damlacıklardan kaynakladığını göstermektedir. Dolayısıyla elde edilen YEH aslında solunum yollarından gelen uçucu olmayan maddeler için bir çözgen olarak değil, daha çok bu maddeleri taşıyıcı bir araç olarak kabul edilebilir. YEH'ını oluşturan sıvı cihaz ile alveol arasındaki anatomik yapılardan (ağız, üst solunum yolları ve nazal kavite, alt solunum yolları, alveoller) kaynaklanmaktadır (76).

YEH örneklerinde saptanan uçucu olmayan inflamatuvar araçların konsantrasyonundaki herhangi bir artış iki olaydan biri ile açıklanabilir: (1) hava yollarını örten sıvıdaki bu araçların konsantrasyonlarında gerçek bir artış veya (2) YEH'da toplanan su buharının hacmine bağlı olarak solunum damlacıklarının sayısında veya hacminde artışlar. Hava yolu salgılarında ve türbülansında artışlar nedeniyle, respiratuvar obstrüksiyonunun herhangi bir formu bulunan hastalarda bu damlacıkların sayısında veya ortalama hacminde artışlar beklenebilir (76).

Tidal solunum sırasında saptanan partiküllerin sayısı 0.1- 4 partikül/cm³ arasında ve ortalama 0.3µm'den küçüktür. Nefesteki aerosol damlacıkların türbülant akımla ekstrasellüler yüzey sıvı tabakasından kaynaklandığı kabul edilmektedir ve bronkoalveolar yüzey sıvısının bileşimini yansıtabilir (76).

Nefesle verilen hava içindeki su buharı, kendi ısısından daha soğuk bir yüzeye temas ettiğinde yoğunlaşarak sıvı hale geçer. Elde edilen sıvının miktarı ventilasyon durumu (dakika ventilasyonu), ekspiriyum havasının ısı ve nem oranı ile ilişkilidir. Oral, üst solunum yolu ve tükürük kontaminasyonu, toplayıcı kabın yüzey ve ısı YEH sonuçlarını etkiler (79). İşlem sırasında hasta tidal solunum yaptığı için YEH, havayolunun gerçek durumunu yansıtmada duyarlıdır. YEH örnekleri hastalara 5 dakikadan 1 saate kadar soğutulmuş bir kondansatörün içine doğru tek yönlü bir kapakçık aracılığı ile soluk verdirilerek toplanır. Beş-onbeş dakikalık bir sürede 1 ml'ye kadar su toplanabilir. Bu hacim; total ekspiratuvar hava volumü, kondansör materyali, ısı ve türbülansı ile ilişkilidir (80). Gerektiği kadar tekrarlanabilen bu işlemin hiçbir riski de yoktur. Bu işlem ciddi hastalığa sahip hastalarda bile

basit, efordan bağımsız, tekrarlanabilen, kısa sürede gerçekleştirilebilen bir yöntemdir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda YEH'nin incelenmesi ile astım, KOAH, kistik fibrozis, bronşektazi, akut akciğer hasarı ve akut sıkıntılı solunum sendromu (ARDS) başta olmak üzere birçok solunum yolu hastalığının takip ve tedavisinde yararlı olabileceği ileri sürülmektedir.

Akciğer Hastalıklarında YEH'nda saptanan inflamatuvar mediatörler (81)

Sigara içenlerde	H2O2, 8- isoprostan
KOAH	H2O2, 8- isoprostan, serotonin, sitokinler (IL-1, solubl IL-2 Reseptör, TNF-alfa)
Astım	H2O2, 8-isoprostan, nitrotirosin, tiobarbitürik asit- reaktif ürünler, lökotrienler, pH
Kronik bronşit	Lökotrienler
Bronşektazi	H2O2
Kistik fibrozis	H2O2, nitrit, 8-isoprostan, IL-8
ALI/ARDS	H2O2, 8-isoprostan, PGE2

Yoğunlaştırılmış ekspirasyon havasında çeşitli inflamatuvar mediatörler ve/veya oksidatif stres göstergeleri (8-isoprostan, lökotrienler, prostaglandinler, H2O2 ve 3-nitrotirosin vb), ağır metal veya toksik metaller gösterilmiş olmakla birlikte, genetik incelemelerin yapıldığı sınırlı sayıda çalışma vardır (82, 83). Akciğer kanseri olan hastalarda YEH'da günümüze kadar çalışılmış olan markerler (78);

- Oksidatif stress markerleri (hidrojen peroksit)
- Lipid peroksidasyonu (nonspesifik lipid peroksidasyon ürünleri)
- DNA, protein ve peptidler (3p mikrosatellit değişiklikler, p53 mutasyonu, Endotelin-1, Leptin)
- Sitokinler (IL-2, IL-6, TNF- α)
- Diğer (krom)

Küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında ve alfa-1 antitripsin eksikliğine bağlı amfizemli olgularda yapılan YEH'de genetik çalışmalar mevcut olup bunlarda YEH'de DNA'nın da saptanabileceğini bildirmiştir (5, 6). Moleküler genetik teknikleri ile DNA veya RNA'daki değişiklikler saptanabilir. DNA moleküler analiz için uygun materyal olup PCR

(polimeraz zincir reaksiyonu) teknolojisi ile çoğaltılabilir (84). Kansere oluşum sürecinde önemli rolleri olan ve YEH'da çalışılan genlere baktığımızda; Ras proteinleri 11p15.5'de yerleşmiş bir gen tarafından kodlanır ve hücre zarından sinyal iletiminin düzenlenmesi, hücre büyüme ve farklılaşmasında görev yapmaktadır. K-ras onkogenindeki mutasyonlar KHDAK'da %15-20, adenokarsinom alt grubunda %20-30 sıklıkta görülmektedir. KHDAK metastazlarında, dokularda daha yüksek oranlarda K-ras mutasyonu (%80) izlenmektedir (2). Küçük hücreli akciğer kanserinde ise nadiren saptanmaktadır (85).

p53 tümör supresör geni 17. kromozomun kısa kolunda lokalizedir. KHDAK'de %50, KHAK'da %80 oranında saptanmakta olup KHDAK'da özellikle skuamöz hücreli akciğer kanserinde displazinin erken evrelerinde izlenebilmektedir (2). Mikrosatellitler ise genom içinde dağılmış tekrar eden kısa DNA baz segmentleridir ve daha çok kodlanmayan DNA bölgelerinde bulunmaktadır. Tekrarlayan birimlerin delesyonu veya insersiyonu sonucunda segment uzunluğunun değişmesine mikrosatellit değişiklikleri denilmektedir. Tümör supresör genlerdeki mikrosatellit değişiklikleri de KHDAK'da tanımlanan diğer değişikliklerdendir (6).

Akciğer karsinomunda sık görülen moleküler genetik değişiklikler (86);

<u>Genler</u>	<u>Anormallikler</u>	<u>Sıklık (KHDAK)</u>	<u>Sıklık (KHAK)</u>
FHIT	Delesyon/mutasyon	%40	%80
K-RAS	Mutasyon	%20	Nadir
ERBB1/EGFR	Aşırı yapım	%60	-
ERBB2/HER2/NEU	Aşırı yapım	%20	-
MYC ailesi	Aşırı yapım	%5-10	%15-30
BCL-2	Aşırı yapım	%10-35	%75-95
Siklinler	Aşırı yapım	?	?
P1bINK4α	İnaktivasyon	%70	Nadir
Retinablastom	İnaktivasyon	%15-30	nadir
P53	İnaktivasyon	%50	%80-90

GEREÇ VE YÖNTEM

Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Göğüs Hastalıkları polikliniği ve servisinde çalışmaya katılım için bilgilendirilmiş onam formu alınan, ayaktan ve/veya yatarak yapılan tetkikleri sonucunda küçük hücreli dışı akciğer kanseri tanısı konulan 26 erkek hasta ile aynı yaş grubundan akciğer kanseri veya başka organ kanseri olmayan 20 erkek olgu çalışmaya dahil edildi. Akciğer kanseri tanısı bronkoskopik biyopsi, transtorasik akciğer biyopsisi ve bazı hastalarda da nodülün rezeksiyonu amacıyla uygulanan cerrahi sonrasında konuldu. Bronkoskopik bulgular: endobronşial lezyonun direkt izlenmesi ve mukozal bulgulara (normal, hiperemi, infiltrasyon, dıştan itilme) göre gruplandırıldı. Akciğer kanserinin evrelendirilmesinde kranial BT/MR, kemik sintigrafisi ya da PET-CT kullanıldı. Bronkoskopik evrelemede ise TNM evrelendirmesi kullanıldı.

Hastalara yapılacak işlem hakkında cihaz başında bilgi verildikten sonra, YEH toplama işlemi için olgular oturur pozisyonda, burunları burun mandalı ile kapalı şekilde, yaklaşık 10-15 dakika süreyle, tidal volümde nefes alıp verirken Eco Screen- Jaeger cihazı ile yapıldı. YEH toplama işlemi sırasında hastaların öksürmemesi, sık ve derin nefes alıp vermemeleri, tükürük salgılarından bulaş olmaması amacıyla ihtiyaç duyduklarında ağızlarını cihazdan ayırarak yutkunabilecekleri anlatıldı. Toplanan YEH'da invitek doku spin- colum DNA izolasyon kiti ile DNA izole edildi.

Yoğunlaştırılmış Ekspirasyon Havasından invitek ile DNA izolasyonu

Elution Buffer D, 55 C'de 110 µl konulur, YEH'den 400 µl örnek alınır. Alınan örnek epandorf tüpe konur, üzerine 400 µl lysis buffer G ve 40 µl Proteinaz K eklenir, 5-10 sn vortekslenir. 55 C'de thermal shaking'de 60 dk inkübe edilir. Maksimum hızda 2 dk santrifuj edilir. Supernatan kısmı yeni 1.5 µl Epandorf tübe transfer edilir. 200 µl Binding Buffer T eklenir ve 10 sn vortekslenir. Fitlerli tüp 2.0 receiver tüp içine yerleştirilir. Lysate filtreli tüp içine transfer edilir ve oda sıcaklığında 2 dk inkübe edilir. 13000 x g'de 2 dk santrifuj edilir. Filtratı atıp, filtreli tüpü aynı 2.0 receiver tüpe koyup filtre tüpe 550 µl Wash buffer eklenir. 13000 x g' de 1 dk santrifuj edilir, filtratı atıp filtreli tüp aynı tüpe yerleştirilir. 550 µl Wash Buffer eklenir. 13000 x g 'de 1 dk santrifuj edilir. Filtratı atıp, filtreli tüp aynı tüpe yerleştirilir. 13000 x g'de 2 dk santifuj edilir. Filtreli tüp 1.5 ml receiver tüpe yerleştirilir. 50 µl elution

buffer D (55 C) eklenir. Oda sıcaklığında 5 dk inkübe edilir, 8500 x g de 2 dk santrifüj edilir. 50 µl elution buffer D (55 c) eklenir, 8500 x g de 2 dk santrifüj edilir.

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 14,0 programı kullanıldı. Sonuçlar ortalama \pm SD olarak verildi. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar Mann-Whitney U nonparametrik yöntemle, değişkenler arasındaki ilişkinin araştırılması Pearson korelasyon veya gerekli durumlarda nonparametrik Spearman korelasyon yöntemleri kullanılarak değerlendirildi.



Resim 1. Eco Screen- Jaeger cihazı

BULGULAR

Çalışmaya alınan hastalar 38-79 yaş aralığında ve yaş ortalaması $64,30 \pm 8,76$ yıl olup kanser grubunda yaş ortalaması $63,96 \pm 10,07$; kanser olmayan grupta $64,75 \pm 6,92$ idi ($p > 0,05$). Sigara yükü, akciğer kanseri olmayanlarda ortalama $37,55 \pm 17,87$ (10-84 paket-yıl); akciğer kanseri grubunda ortalaması $43,65 \pm 12,20$ (20-67 paket-yıl) idi ($p < 0,05$) (Tablo V).

Tablo V. Demografik veriler

	Akciğer kanseri grubu	Kontrol grubu	p
Yaş	63,96± 10,07	64,75± 6,92	0,920
Sigara başlama yaşı	18,65± 6,28	20,65± 7,78	0,455
Sigara yükü (paket- yıl)	43,65± 12,20	37,55± 17,87	0,043

26 kanser tanılı olgunun yapılan bronkoskopilerinde yalnızca 9'unda endobronşiyal lezyon izlenirken, kalan 17 olgunun 8'inde (%47,1) mukoza normal; 5'inde (%29,4) dıştan itilme bulgusu; 1'inde (%5,9) mukozal hiperemi; 3'ünde (%17,6) mukozal infiltrasyon gözlemlendi. Endobronşiyal lezyon izlenen hasta grubunun YEH verileri Tablo X'da, bronkoskopik bulgulara göre elde edilen DNA miktarının dağılımı Tablo XI'de, kanser grubu ile kontrol grubunun YEH verileri Tablo XIII ile Tablo XIV'de gösterilmiştir.

Kanser grubunda endobronşiyal lezyon gözlenmeyen olgularda bronkoskopik bulgulara göre sınıflandırma yapıldığında;

- Mukozası normal olanlarda; tümü bronkoskopik olarak evrelendirildiğinde T1, DNA miktarı ortalama 79,38±60,68 µg/ml bulundu (Tablo VI). Bu hastaların tanıları; 2 hastada bronkoskopik biyopsi (karina küntlüğü mevcut), 4 hastada transtorasik biyopsi ve 2 hastada nodülün rezeksiyonu amacıyla uygulanan cerrahi sonrasında konuldu.
- Dıştan itilme bulgusu olanlarda; tümü bronkoskopik olarak evrelendirildiğinde T1, DNA miktarı ortalama 81,00±69,92 µg/ml bulundu (Tablo VII). Bu hastaların tanıları; 2 hastada bronkoskopik biyopsi, 3 hastada transtorasik biyopsi ile konuldu.
- Mukozal hiperemi olanlarda; 1 hasta mevcut olup bronkoskopik olarak T1, DNA miktarı ortalama 103,10 µg/ml; tanı yöntemi ise transtorasik biyopsiydi (Tablo VIII).
- Mukozal infiltrasyon olanlarda; tümü bronkoskopik olarak T1; DNA miktarı ortalama 67,50±66,14 µg/ml; tanı yöntemleri de tüm olgularda bronkoskopik biyopsiydi (Tablo IX).

Tablo VI. Mukozası normal olanlar;

	ortalama± sd	min	max
DNA miktarı (µg/ml)	79,38± 60,68	20,00	157,50
YEH örneği (ml)	2,60± 0,86	1,80	4,10
YEH hacmi*(L)	172,20± 62,99	112,30	311,90

*YEH toplanması sırasındaki hastanın yapmış olduğu ekspirasyon havası hacmi

Tablo VII. Dıştan itilme olanlar;

	ortalama± sd	min	max
DNA miktarı (µg/ml)	81,00± 69,92	25,00	157,50
YEH örneği (ml)	2,04± 0,44	1,70	2,80
YEH hacmi (L)	154,60± 30,77	121,00	191,80

Tablo VIII. Mukozal hiperemi olan;

DNA miktarı (µg/ml)	20
YEH örneği (ml)	1,70
YEH hacmi (L)	103,10

Tablo IX. Mukozal infiltrasyon olanlar;

	ortalama± sd	min	max
DNA miktarı (µg/ml)	67,50± 66,14	17,50	142,50
YEH örneği (ml)	1,93± 0,15	1,80	2,10
YEH hacmi (L)	119,20± 4,15	115,00	123,30

Tablo X. Endobronşial lezyon olanlar;

	ortalama± sd	min	max
DNA miktarı (µg/ml)	59,44± 52,96	20,00	160,00
YEH örneği (ml)	2,12± 0,50	1,70	3,00
YEH hacmi (L)	139,83± 34,24	101,20	209,40

Tablo XI. KHDAK hastalarının bronkoskopik sınıflaması ve elde edilen DNA miktarları

Bronkoskopik bulgular (n)	DNA miktarı (µg/ml)
Normal (n=8)	79,38± 60,68
Dıştan itilme (n=5)	81,00± 69,92
Hiperemi (n=1)	20
İnfiltrasyon (n=3)	67,50± 66,14
Endobronşial lezyon (n=9)	59,44± 52,96

Bronkoskopik olarak endobronşial lezyonu olan 9 hastanın 8'inde bronkoskopik biyopsi ile, bir hastada beyin metastazına yönelik operasyonda tanı konuldu. Hastaların tümünde akciğer grafisinde santral lezyon izlendi. 1 hastada kranial, 2 hastada kemik metastazı saptandı. 1'i evre IA; 2'si evre IIIA; 2 'si Evre IIIB;4 'ü Evre IV KHDAK olarak evrelendirildi.

Bronkoskopik olarak endobronşial lezyon izlenmeyen 17 hastanın 8'inde transtorasik biyopsi, 7 hastada bronkoskopik biyopsi, 2 hastada da nodülün cerrahi rezeksiyonu için yapılan operasyonla tanı konuldu. Hastaların 8'inde akciğer grafisinde santral yerleşimli, 9'unda periferik yerleşimli kitle görünümü izlenmişti. 3 hastada beyin, 1 hastada kemik metastazı gözlemlendi. 1'i Evre IA, 1'i Evre IB, 3'ü evre IIIA, 6'sı Evre IIIB ve 6'sı Evre IVB KHDAK olarak evrelendirildi. Endobronşial lezyonu olan ve olmayan tüm akciğer kanseri olgularının evrelendirilmesi Tablo XII'de gösterilmiştir.

Tablo XII. Kanser grubunda evreleme verileri;

	Hasta sayısı (%)
Evre IA	2 (%7,7)
Evre IB	1 (%3,8)
Evre IIIA	5 (%19,2)
Evre IIIB	8 (%30,8)
Evre IV	10 (%38,5)

Akciğer kanseri grubunda 19 hastanın (%73,1) soygeçmişinde malignite öyküsü yoktu. Hastaların 7'sinde (%26,9) ise soygeçmişlerinde akciğer, mide, meme ve kolon kanseri öyküsü vardı. 6 hastada (%23,1) başvuru semptomu yokken; geri kalan 20 hastada (%76,9) nefes darlığı, öksürük, balgam, sırt ve yan ağrısı, bacak ağrısı başlıca semptomlardı.

Tablo XIII. KHDAK grubunda Yoğunlaştırılmış Ekspirasyon Havası verileri:

n=26	Ortalama	minimum	Maksimum
YEH hacmi (L)	148,84± 45,15	101,20	311,90
YEH örneği (ml)	2,22± 0,63	1,70	4,10
İşlem süresi (dk)	12,17± 3,60	7,36	24,32
DNA miktarı (µg/ml)	69,13± 57,03	17,50	160,00

Tablo XIV. Kanser olmayan grupta Yoğunlaştırılmış Ekspirasyon Havası verileri:

n=20	ortalama	minimum	Maksimum
YEH hacmi (L)	205,21± 41,98	143,70	314,00
YEH örneği (ml)	3,15± 0,44	2,40	4,00
İşlem süresi (dk)	16,32± 2,85	10,30	22,25
DNA miktarı (µg/ml)	32,63± 9,12	15,00	55,00

Çalışmaya katılan tüm olgularda ortalama DNA miktarı (µg/ml) ile hastalardan toplanan YEH örneği miktarı (ml) ($r = -0.43$; $p = 0.003$), hastaların işlem süresi (dk) ($r = -0.33$; $p = 0.025$) ve bu süre içinde yapmış oldukları ekspirasyon hacmi (L) ($r = -0.447$; $p = 0.002$) arasında anlamlı negatif ilişki saptandı. YEH DNA miktarı ile yaş, sigara yükü, sigaraya başlama yaşı arasındaki ilişki araştırıldığında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Kanser grubunda DNA miktarı ile YEH toplama süresi, miktarı, ekspirasyon hacmi, sigara yükü arasında ilişki araştırıldığında anlamlı değildi. Kanser olmayan grupta ise, DNA miktarı ile işlem süresi arasında anlamlı pozitif ilişki bulundu ($r = 0.499$, $p = 0.025$).

Tablo XV. Kanser olan ve olmayan grupların karşılaştırılması

	KHDAK (n:26)	Kanser olmayan (n:20)	P
Yaş	63,96± 10,07	64,75±6,92	0,920
Sigara başlama yaşı	18,65± 6,28	20,65±7,78	0,455
Paket-yıl	43,65± 12,20	37,55±17,87	0,043
YEH hacmi (L)	148,84± 45,15	205,21±41,98	0,001
YEH miktarı (ml)	2,22± 0,63	3,15±0,44	0,001
İşlem süresi (dk)	12,17± 3,61	16,31±2,85	0,001
DNA miktarı (µg/ml)	69,13± 57,03	32,63±9,12	0,096

Tablo XVI. Kanser grubunda endobronşial lezyon olan ve olmayan alt grupların karşılaştırılması

	Endobronşial lezyonu olanlar (n: 9)	Lezyonu olmayanlar (n: 17)	p
DNA miktarı (µg/ml)	59,44± 52,96	74,26±60,00	0,766
YEH miktarı (ml)	2,12± 0,50	2,26±0,70	0,586
YEH hacmi (L)	139,83± 34,24	153,61±50,29	0,483
İşlem süresi (dk)	12,14± 4,95	12,18±2,85	0,258

TARTIŞMA

Akciğer kanserli olguların tanı konulduğunda genellikle ileri evrede oldukları gözlenmektedir. Bizim çalışmamızda da, literatürle uyumlu şekilde en sık Evre IV, daha sonra sırasıyla Evre IIIB ve IIIA olarak bulundu (sırasıyla %38,5, %30,8 ve %19,2). Türkiye’de Türk Toraks Derneği Akciğer ve Plevra Maligniteleri grubu tarafından bildirilen akciğer kanseri sıklığı Evre IV, IIIB ve IIIA için sırasıyla %40,4 % 32,1,% 14.2 şeklindeydi (17). Bunun nedeni sıklıkla hastalar tarafından semptomların sigara ile ilişkili düşünülmesi ve hekime başvurulmamasıdır. Nitekim kanserli grupta 6 hastada (%23,1) başvuru semptomu yokken; geri kalan 20 hastada (%76,9) nefes darlığı, öksürük, balgam, sırt ve yan ağrısı, bacak ağrısı başlıca semptomlardı. Beckles ve ark. çalışmasında da başlıca semptomlar öksürük, kilo kaybı, dispne, hemoptizi, göğüs ağrısı olarak belirtilmiştir (53).

Hastalarımızın yaş dağılımına bakıldığında 38-79 yaş aralığında bulunmakla birlikte, akciğer kanserinin yaşla sıklığının arttığı bilinmektedir ve en sık gözleendiği yaşlar 50-70 arasındadır. (87). Ülkemizde yapılan bir çalışmada 46-65 yaş aralığında kanser insidansı %56,7, 66 yaş sonrasında %31,6 olarak bulunmuştur (17).

Akciğer kanseri için en önemli risk faktörü sayılan sigaranın başlama yaşı, içme süresi, içilen sigara miktarı kanser gelişiminde önemli kriterlerdir (88). Çalışmamızda akciğer kanseri saptanan grupta sigara yükü daha fazla bulundu ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlıydı. Sigara başlama yaşı kanserli grupta daha küçük yaşta olmakla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Akciğer kanseri grubunda 19 hastada (%73,1) soygeçmişinde malignite öyküsü yokken 7'sinde (%26,9) sıklık sırasına göre akciğer (%7,6), mide (%7,6), meme (%7,6) ve

kolon kanseri (%7,6) öyküsü vardı. Arınç ve ark. çalışmasında da akciğer kanseri olan hastaların akrabalarında en sık gastrointestinal ve meme kanseri varlığı bildirilmiştir (89).

Sıvı halde elde edilen YEH örneğinin miktarı, ekspirasyon ile çıkarılan hacim ile orantılıdır. Elde edilen örnek yalnızca su buharının yoğunlaştırılması ile elde edilen sıvı olmayıp, alt solunum yollarından gelen erimiş gaz ve partiküller için taşıyıcı rol oynadığı düşünülmektedir.

Bazı solubl mediatörler, protein, oksidasyon ve nitrasyon ürünleri gibi uçucu olmayan moleküllerin YEH'da ölçülebilmesi nedeniyle, YEH örnekleri havayolu hastalıklarının ayırıcı tanısında ve tedavi izleminde kullanılabilir (90). Oksidatif stress biomarkerlerinden özellikle endotelin-1 ve interlökin-6 akciğer kanseri olan hastaların YEH'da yüksek olarak saptanmıştır. YEH'da oksidatif stress biomarkerleri ve sitokinler tümör rezeksiyonu sonrasındaki takip sürecinde rekürrensi göstermede yardımcı olabilir (91). KHDAK hastalarında YEH'da hidrojen peroksit (H₂O₂) düzeylerinde artış, antioksidan kapasitede azalma saptanmıştır. Bu sonuç akciğer kanserindeki oksidan- antioksidan düzeyleri arasında oksidanlar lehine olan dengesizliğin göstergesidir. Oksidatif stresin bu göstergesi, akciğer kanserinde erken tanıya yönlendirecek bir belirteç olabilir (92).

Akciğer kanseri olan hastaların YEH ve serumunda vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), 8-isoprostan ve TNF-alfa düzeyleri karşılaştırıldığında YEH'da VEGF düzeyleri T3-4'de T1-2 olan gruba göre daha yüksek olarak saptanmış ve serum ile YEH düzeyleri arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bulunmuştur. TNF-alfanın da akciğer kanseri olan hastalarda YEH'da daha yüksek düzeylerde olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular gelecekte YEH'da bazı belirteçlerin hastaların takibinde değerli olabileceğini düşündürmektedir (93).

Akciğer kanseri olan hastalarda YEH'da tümör belirteçleri de çalışılmıştır. Sitokeratin 19 (CYFRA 21-1) ve CEA akciğer kanseri olan hastalarda YEH'da daha yüksek düzeyde saptanmıştır (94). Bronkoalveolar lavaj ve YEH'da biyomarkerlerin karşılaştırıldığı bir çalışmada YEH'da elde edilen biyomarker değerleri (hidrojen peroksit, nitrik oksit, 8-isoprostan gibi) BAL'dan daha yüksek olarak bulunmuş. Bunun nedeni ise; BAL yapılırken kullanılan izotonik sıvı nedeniyle biyomarkerler dilüe olmaktadır. Ayrıca işlem sırasında oluşan kanama ve irritasyon nedeniyle inflamasyon oluşmakta, bu da sonuçları etkilemektedir (95).

Bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar, hem kanser grubunda, hem de kontrol grubunda sıvı içinde saptanabilir düzeyde DNA olduğunu göstermektedir. Kanser grubunda elde edilen sıvının miktar olarak daha az olması muhtemelen, kanser grubunda YEH toplama süresinin kontrol grubuna kıyasla daha kısa süreli olması ile ilişkili olabilir. Diğer yandan YEH'da saptanan ortalama DNA düzeyi kontrol grubundan, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemekle birlikte, DNA düzeyi kanser olmayan gruptan yaklaşık 2 kat daha fazla bulunmuştur (Tablo XV). Muhtemelen bu durum kanser gelişme sürecinde akciğerlerde hücresele düzeyde meydana gelen patolojik değişikliklerle açıklanabilir. Bununla birlikte, kanser olmayan grupta YEH hacminin daha fazla olmasından kaynaklanan göreceli bir azalmadan da kaynaklanabilir. Kanserli olan olgularda ise, endobronşiyal lezyon olan ve olmayan gruplar karşılaştırıldığında, beklenenin aksine, endobronşiyal lezyonu olanlarda DNA miktarı daha az olarak bulunmuştur (Tablo XVI). Bu durum YEH'da gözlenen DNA miktarının hastalardaki tümörün lokalizasyonundan ziyade, havayollarına dökülen hücrelerden açığa çıkan DNA düzeyi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Gerçekten kanser gelişme sürecinde, çevresel zararlı gaz ve partiküllere karşı oluşan inflamatuvar yanıt, yalnızca tümörün ortaya çıktığı alanda değil tüm akciğer alanlarında gerçekleşmektedir. Nitekim KOAH'lı hastalardan elde edilen patolojik örneklerde, KOAH'ın progresyonuna paralel olarak akciğerlerdeki inflamatuvar olayların da arttığının gösterilmesi bu hipotezi desteklemektedir (96).

Kanser grubunda DNA miktarı ile YEH toplama süresi, toplanan örnek miktarı ve ekspirasyon havası hacmi arasında da ilişki saptanmaması bu görüşü desteklemektedir. Diğer taraftan kanser olmayan grupta, DNA miktarı ile YEH toplama süresi arasında pozitif ilişki bulunmuştur. O halde, YEH'daki DNA kaynağının temel olarak akciğerlerde lokalize lezyonlardan ziyade, yaygın inflamatuvar yanıtla bağlı patolojik değişiklikler olduğu düşünülebilir.

Akciğer karsinomunda p53 ve K-ras mutasyonları gibi moleküler markerler yüksek riskli kişilerde kanser gelişimini gösterebilir. p53 mutasyonu KHDAK hastaların %50-80'inde saptanır (2) ve premalign lezyonları belirler (97). Genetik mutasyonlar dokuda saptanabilir ancak bronşial biyopsiler bronkoskopi gerektireceği için taramada uygun değildir. YEH ise yaklaşık 10 dk normal solunumla elde edilen non- invaziv bir tetkiktir. Soğutulmuş kondansörden geçerek toplanır ve çoğunluğu sudur. Düşük konsantrasyonlarda hava yolu

yüzey sıvısı ve alveollerden kaynaklanan farklı moleküller de içerir (81, 83). YEH'nın hava yollarında kanser gelişme süreciyle ilgili bilgi verebileceği düşünülmektedir.

Gessner ve ark. çalışmasında KHDAK hastaları ve sağlıklılarından elde edilen YEH'de PCR ile DNA amplifiye edilmiş ve p53 mutasyonu araştırılmıştır. Hastaların %36.4'ünde mutasyon saptanırken sağlıklılarda hiç mutasyon saptanmamıştır. p53 mutasyonu hem periferik hem de santral lezyonları olanlarda gösterilmiştir. Adenokanser ve skuamöz hücreli kanserde benzer oranlarda bulunmuştur (5). İlginç bir bulgu da YEH'da p53 mutasyonu saptananlarda tümör dokusundaki DNA'da aynı mutasyon gösterilememiş olmasıdır. Bu, neoplastik süreçte farklı genetik profillerin bulunabileceği görüşü ile açıklanabilmektedir (78).

Akciğer kanserli hastalarda YEH'sında K-ras gen mutasyonları da araştırılmış bu mutasyonların varlığı gösterilmiştir (98). Benzer şekilde KHDAK hastalarında kontrol grubuna göre daha yüksek oranda mikrosatellit instabilite gösterilmiştir (99, 100). Tümör supresör genlerde meydana gelen mikrosatellit değişiklikler tümör oluşumunda önemli rol oynamaktadır. YEH'dan elde edilen DNA'daki mikrosatellit değişikliklerin KHDAK hastalarında prognoz ile çok güçlü korelasyon gösterdiği saptanmıştır (6). KHDAK hastalarında ve sağlıklılarda YEH ve tam kanda 3p mikrosatellit değişikliklerin karşılaştırıldığı çalışmada; Mikrosatellit değişiklikler KHDAK grubunda YEH DNA'sında %53, kan DNAsında %10 saptanmış ($p < 1/1000000$). Sağlıklı grupta ise YEH DNA'sında %13, kan DNA'sında %2 değerleri elde edilmiştir. KHDAK hastalarında YEH-DNA' sında mikrosatellit değişikliklerin sayısı ile sigara içimi direkt ilişkili bulunmuştur. Sonuç olarak mikrosatellit değişikliklerin saptanmasında YEH-DNA yüksek duyarlı olarak saptanmış olup akciğer karsinomu tarama ve erken tanı programlarında kullanılabileceği düşünülmüştür (99).

Carpagnano ve ark başka bir çalışmasında da YEH, kan ve akciğer dokusunda 3p mikrosatellit değişiklikler karşılaştırılmış. YEH'deki DNA profilinin dokudaki DNA'yı yansıttığı ve KHDAK grubunda YEH-DNA'daki mikrosatellit değişikliklerin sağlıklılara göre daha sık olduğu gösterilmiştir (100). Carpagnano ve ark. KHDAK'da YEH'da saptanan mikrosatellit değişikliklerin sayısının artmasının hastalar için kötü prognostik faktör olabileceği sonucuna varmışlardır (6).

Sonuç olarak, YEH örneklerinin genetik incelemeleri yapabilecek düzeyde DNA materyali içermesi nedeniyle, risk gruplarında tarama amaçlı ve/veya tanı konulmuş olguların izleminde ve prognozunun değerlendirmesinde katkı sağlayabilecek yararlı, noninvaziv bir

yöntem olduğu düşünülmüştür. Gelecekte YEH'nın birçok inflamatuvar ve genetik belirteci aynı anda saptayabilecek şekilde geliştirilmesi durumunda, solunum fonksiyon testine benzer biçimde hastalıkların tanı ve izleminde sıklıkla başvurulabilecek bir yöntem haline gelebilir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

YEH örnekleri hastalara 5 dakikadan 1 saate kadar soğutulmuş bir kondansatörün içine doğru tek yönlü bir kapakçık aracılığı ile soluk verdirilerek toplanır. Beş - onbeş dakikalık bir sürede 1 ml'ye kadar su toplanabilir. Gerektiği kadar tekrarlanabilen bu işlemin hiçbir riski de yoktur. Bu işlem ciddi hastalığa sahip hastalarda bile basit, efordan bağımsız, tekrarlanabilen, kısa sürede gerçekleştirilebilen bir yöntemdir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda YEH'nın incelenmesi ile astım, KOAH, kistik fibrozis, bronşektazi, akut akciğer hasarı ve akut solunumsal zorluk sendromu (ARDS) başta olmak üzere birçok solunum yolu hastalığının takip ve tedavisinde yararlı olabileceği ileri sürülmektedir.

Yoğunlaştırılmış ekspirasyon havasında çeşitli inflamatuvar mediatörler ve/veya oksidatif stres göstergeleri (8-isoprostan, lökotrienler, prostaglandinler, H₂O₂ ve 3-nitrotirosin vb), ağır metal veya toksik metaller gösterilmiş olmakla birlikte, genetik incelemelerin yapıldığı sınırlı sayıda çalışma vardır. Biz de bu amaçla yola çıkarak KHDAK olan ve olmayan hasta gruplarında YEH'da DNA'nın elde edilebilirliğini araştırdık.

Çalışmamızda KHDAK grubunda YEH toplama süresi daha kısa olduğu için volum de orantılı olarak daha az saptanmıştır. YEH'da elde edilen ortalama DNA miktarı, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, kanser olmayan gruptan yaklaşık 2 kat daha fazla bulunmuştur. Muhtemelen bu durum kanser gelişme sürecinde akciğerlerde hücresel düzeyde meydana gelen patolojik değişikliklerle açıklanabilir. Bununla birlikte, kanser olmayan grupta YEH hacminin daha fazla olmasından kaynaklanan göreceli bir azalmadan da kaynaklanabilir. Kanserli olan olgularda ise, endobronşiyal lezyon olan ve olmayan gruplar karşılaştırıldığında, beklenenin aksine, endobronşiyal lezyonu olanlarda DNA miktarı daha az olarak bulunmuştur. Bu durum YEH'da gözlenen DNA miktarının hastalardaki tümörün lokalizasyonundan ziyade, havayollarına dökülen hücrelerden açığa çıkan DNA düzeyi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Gerçekten kanser gelişme sürecinde, çevresel zararlı gaz ve partiküllere karşı oluşan inflamatuvar yanıt, yalnızca tümörün ortaya çıktığı alanda değil tüm akciğer alanlarında gerçekleşmektedir.

Kanser grubunda DNA miktarı ile YEH toplama süresi, toplanan örnek miktarı ve ekspirasyon havası hacmi arasında da ilişki saptanmaması bu görüşü desteklemektedir. Diğer taraftan kanser olmayan grupta, DNA miktarı ile YEH toplama süresi arasında pozitif ilişki bulunmuştur. O halde, YEH'daki DNA kaynağının temel olarak akciğerlerde lokalize lezyonlardan ziyade, yaygın inflamatuvar yanıtı bağlı patolojik değişiklikler olduğu düşünülebilir.

Gelecekte akciğer kanseri için riskli olan gruplarda, tarama amaçlı olarak YEH'nda DNA analizleri yapılarak, akciğer kanserini henüz preneoplastik evrede iken saptamak mümkün olabilir. Böylelikle erken tanı konulabilir, hastalık ilerlemeden tedavi edilmesi sağlanabilir, genetik tedaviler geliştirilebilir.

ÖZET

Uzun süreli karsinojenlere maruz kalınması genetik yapıda hasar oluşturarak hücre çoğalmasını kontrol eden genlerde değişikliklere yol açmaktadır. Mutasyonlar onkogenik genler ve/veya tümör baskılayıcı genlerde geliştiğinde tümör gelişimi için adım atılmış olur.

Mutasyonların erken dönemde saptanması için kullanılacak materyallerden biri olan YEH tamamen noninvaziv ve hasta için herhangi bir risk oluşturmayan bir teknikte toplanır. YEH'ında genetik incelemelerin yapıldığı sınırlı sayıda çalışma vardır. Bu çalışmada, KHDAK olan ve kanser tanısı olmayan hasta gruplarında genetik açıdan YEH örneğinin araştırmaya yetecek düzeyde DNA içerip içermediğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya küçük hücreli dışı akciğer karsinomu tanısı konulan 26 erkek hasta ve akciğer kanseri olmayan 20 erkek hasta alınması amaçlandı. YEH toplama işlemi yaklaşık 10-15 dakika süreyle, tidal volümde nefes alıp verirken Eco Screen- Jaeger cihazı ile yapıldı. Toplanan YEH'da invitak doku spin-colum DNA izolasyon kiti ile DNA izole edildi.

KHDAK grubunda sürenin kısa olmasına rağmen DNA miktarı kanser olmayan gruba göre 2 kat daha fazla bulundu ($p>0,05$). Kanserli olan olgularda ise, endobronşiyal lezyon olan ve olmayan gruplar karşılaştırıldığında, endobronşiyal lezyonu olanlarda DNA miktarı daha az olarak bulunmuştur ($p>0,05$). Kanser grubunda DNA miktarı ile YEH toplama süresi, toplanan örnek miktarı ve ekspirasyon havası hacmi arasında da ilişki

saptanmamasına karşın; kanser olmayan grupta DNA miktarı ile YEH toplama süresi arasında pozitif ilişki bulunmuştur.

Bu durum kanser gelişme sürecinde akciğerlerde hücresel düzeyde meydana gelen patolojik değişikliklerle açıklanabilir. Bununla birlikte, kanser olmayan grupta YEH hacminin daha fazla olmasından kaynaklanan göreceli bir azalmadan da kaynaklanabilir. YEH'daki DNA kaynağının temel olarak akciğerlerde lokalize lezyonlardan ziyade, yaygın inflamatuvar yanıtla bağlı patolojik değişiklikler sonucu olduğu düşünülebilir. YEH örnekleri genetik incelemeleri yapabilecek düzeyde DNA materyali içermesi nedeniyle, risk gruplarında tarama amaçlı ve/veya tanı konulmuş olguların izleminde ve prognozunu değerlendirmede katkı sağlayabilecek yararlı, noninvaziv bir yöntem olarak düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: KHDAK, yoğunlaştırılmış ekspirasyon havası, DNA

SUMMARY

DNA INVESTIGATION IN THE EBC IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER

Long-term exposure to carcinogens may lead to changes in the genes which control cell proliferation by the way of impairment in the genetic structure. When mutations develop on the oncogenic and/or tumor suppressor genes, it would be an initial step in the tumor development.

EBC, one of the materials which is used to detect mutations in the early period, is collected by completely non-invasive a technique which has no risk for the patient. There are limited study which investigated the genetic examinations in the EBC. We aimed to investigate whether EBC samples are suitable for the detection of DNA or not in NSCLC and control patients.

26 NSCLC patients and 20 male patients who had no lung cancer were included in the study. EBC procedure was performed by the help of Eco Screen- Jaeger device in 10-15 minutes during breathing at the tidal volume. DNA was isolated invitak tissue spin-column DNA isolation kit in the collected EBC.

DNA amount was two fold high in the NSCLC group than non-cancer patients in spite of short time ($p > 0,05$). However, in cancer group, when comparing the groups which had endobronchial lesion or hadn't, DNA amount was found lower in patients who had endobronchial lesions than hadn't ($p > 0,05$). Although, there was no relationship between DNA amount and EBC collection time, collected sample amount and volume of expiration air volume in the cancer group, there was a positive relationship between DNA amount and EBC collection time in the non-cancer group.

This may be explained by the pathological changes which occur at the cellular level in the lungs during cancer development process. However, it may also result from relative decrease which develops from redundancy of EBC volume in the non-cancer group. It may be considered that DNA source in EBC is the pathological changes of the systemic inflammatory response other than localized lesion in the lungs. Since detectable level of DNA is found to be in EBC samples, EBC may be considered as a non-invasive method in screening the risk groups and/or the follow-up prognosis in diagnosed patients.

Key words: NSCLC, Exhaled Breath Condensate, DNA

KAYNAKLAR

1. Hastürk S, Yüksel M. Akciğer Kanserinin Moleküler Biyolojisi. Hastürk S. Akciğer Kanseri. İstanbul: Bilmedya grup, 2000: 1- 27
2. Fleischhacker M, Beinert T, Possinger K. Molecular genetic characteristics of lung cancer useful as 'real' tumor markers? Lung Cancer 1999; 25: 7– 24
3. Niklinski J, Niklinska W, Laudanski J, Chyczewska E, Chyczewski L. Prognostic molecular markers in non-small cell lung cancer. Lung Cancer 2001; 34: 53– 58
4. Hunt J. Exhaled breath condensate: an evolving tool for noninvasive evaluation of lung disease. J allergy clin immunol. 2002; 110; 28- 34
5. Gessner C, Kuhn H, Toepfer K, Hammerschmidt S, Schauer J, Wirtz H. Detection of p53 mutations in exhaled breath condensate of non small cell lung cancer patients. Lung Cancer 2004; 43: 215– 222
6. Carpagnano GE, Spanevello A, Carpagnano F, Palladino G, Prato R. Prognostic value of Exhaled Microsatellite alterations at 3p in NSCLC patients. Lung Cancer. 2009; 64 (3): 334- 340
7. Loeb LA, Ernster VL, Warner KE, Abbotts J, Laszio J. Smoking and lung cancer: An overview. Cancer Research 1984; 44: 5940- 58
8. Rivera MP, Stover DE. Gender and lung cancer. Clin Chest Med 2004; 25: 391- 400
9. Ginsberg MS, Grewal RK, Heelan RT. Lung cancer. Radiol Clin North Am 2007; 45: 21- 43
10. Janssen ML, Coerbergh JW. The changing epidemiology of cancer in Europe. Lung Cancer 2003; 41: 245- 58
11. Parkin GM, Pisanani P, Ferlay J. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 1999; 49: 33- 64
12. Fidaner C, Eser SY, Parkin DM. Incidence in Izmir in 1993-1994: first results from Izmir Cancer Registry. Eur J Cancer 2001; 37: 83- 92
13. TC. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü Başkent Üniversitesi Ulusal Hastalık Yüğü ve Maliyet-etkililik projesi Hastalık Yüğü Final rapor Aralık – 2004
14. Turkish Health Ministry: Smoking habits and Attitudes of Turkish Population towards smoking and antismoking campaign Ankara Piar 1988

15. Turkish Health Ministry: Cancer Registry Report of Turkey 1993-94. Ankara Ministry of Health Department of cancer control 1997
16. Çakır Edis E, Karlıkaya C. The cost of lung cancer in Turkey. *Tüberküloz ve Toraks* 2007; 55 (1): 51- 8
17. Turkish Thoracic Society, Lung and Pleural Malignancies Study Group, Pattern of Lung Cancer in Turkey, 1994– 1998; *Respiration* 2002; 69: 207– 210
18. Akciğer ve Plevra Maligniteleri Çalışma Grubu. Akciğer kanseri tanı ve tedavi rehberi. *Toraks Dergisi* 2006; 7 (2): 1- 37
19. Ahrendt SA, Chow JT, Yang SC, Wu L, Zhang MJ, Jen J, Sidransky D. Alcohol consumption and cigarette smoking increase the frequency of p53 mutations in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2000; 60 (12): 3155- 9
20. Ahrendt SA, Decker PA, Alawi EA, Zhu Y, Cespedes MS, Yang SC, Haasler GB. Cigarette smoking is strongly associated with mutation of the K-ras gene in patients with primary adenocarcinoma of the lung. *Cancer* 2001; 92: 1525- 1530
21. Marchetti A, Pellegrini S, Sozzi G, Bertacca G, Gaeta P, Buttitta F, Carnicelli V, Griseri P, Chella A, Angeletti C. A, Pierotti M, Bevilacqua G. Analysis of lung tumors of non-smoking subjects: p53 gene mutations are constantly associated with loss of heterozygosity at the *FHIT* locus. *Br. J. Cancer*, 1998; 78: 73–78
22. Sozzi G, Sard L, De Gregorio L, Marchetti A, Musso K, Buttitta F, Tornielli S, Pellegrini S, Veronesi M. L, Manenti G, Incarbone M, Chella A, Angeletti C. A, Patorino U, Huebner K, Bevilacqua G, Pilotti S, Croce C. M, and Pierotti M. A. Association between cigarette smoking and *FHIT* gene alterations in lung cancer. *Cancer Res.*, 1997; 57: 2121– 2123
23. Vineis P, Hoek G, Krzyzanowski M, Veglia F, Airoidi L, Overvad K, Lung cancers attributable to environmental tobacco smoke and air pollution in nonsmokers in different European countries: a prospective study. *Environ Health* 2007; 6: 7
24. Lackman GM, Salzberger U, Tollner U, Chen M, Carmella S, Hecht S. Metabolites of tobacco- specific carcinogen in urine from newborns. *J Natl Cancer Inst* 1999 ; 91: 459- 465
25. Shigematsu H, Takahashi T, Nomura M, Majmudar K, Suzuki M, Lee H, Wistuba I, Fong K, Toyooka S, Shimizu N, Fujisawa T, Minna J, Gazdar A. Somatic Mutations of the HER2 Kinase Domain in Lung Adenocarcinomas. *Cancer Res* 2005; 65 (5) 1642-6

26. Cheng Y, Chiou H, Sheu G, Hsieh L, Chen J, Chen C, Su J, Lee H. The Association of Human Papillomavirus 16/18 Infection with Lung Cancer among Nonsmoking Taiwanese Women. *Cancer Research* 2001; 61, 2799– 2803
27. Zeka A, Mannetje A, Zaridze D, Lissowska J, Fabia'nova E. Lung cancer and occupation in nonsmokers. A multicenter case-control study in Europe .*Epidemiology* 2006; 17: 615-23
28. Polatlı M. Balata Fabrikasında Çalışanlarda Asbestozis Riski. Uzmanlık Tezi, İzmir: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Göğüs Hastalıkları Bölümü, 1994
29. Kömüş N, Albayrak S, Ellidokuz H, Çımrın A.H. Occupational and environmental exposures and relations with pulmonary health. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2008; 56 (3): 275- 282
30. Alberg AJ, Samet JM. Epidemiology of lung cancer. *Chest* 2003; 123: 21- 49
31. Kreuzer M, Heinrich J, Kreienbrock L, Rosario AS, Gerken M, Wichmann HE. Risk factors for lung cancer among nonsmoking women. *Int J Cancer* 2002; 100: 706- 13
32. Boschetto P, Quintavalle S, Miotto D, Cascio N, Zeni E, Mapp CE. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and occupational exposures. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology* 2006; 1: 1- 6
33. Jaen A, Zock JP, Kogevinas M, Ferrer A, Marín A. Occupation, smoking and chronic obstructive respiratory disorders: A cross sectional study in an intrustrial area of Catalonia, Spain. *Enviromental Health: A Global Access Science Source* 2006; 5: 1- 7
34. Alberg AJ, Brock MV, Samet JM. Epidemiology of lung cancer: looking to the future. *J Clin Oncol* 2005; 23: 3175- 85
35. Hernandez-Garduno E, Brauer M, Perez Neria J, Vedal S. Wood smoke exposure and lung adenocarcinoma in nonsmoking Mexican women. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004; 8: 377- 83
36. Porru S, di Carlo AS, Placidi D. Occupational cancer. The role of the occupational physician in systematic search and aetiological diagnosis of lung cancer. Analysis of a case list. *Med Lav* 2006; 97: 565-80
37. Lüleci NE, Keskin Y. Manisa'nın iki kasabasında kanser olguları ile sigara içme ve beslenme alışkanlıklarının ilişkisi. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni* 2006; 5: 326- 31
38. Zablotska LB, Neugut AI. Lung carcinoma after radiation therapy in women treated with lumpectomy or mastectomy for primary breast carsinoma. *Cancer* 2003; 97: 1404- 11

39. Zablotska LB, Angevine AH, Neugut AI. Therapy-induced thoracic malignancies. *Clinics in Chest Medicine* 2004; 25: 217- 224
40. Fontana RS, Sanderson DR, Taylor WF. Early lung cancer detection: results of the initial (prevalence) radiologic and cytologic screening in the Mayo Clinic Study. *Am Rev Respir Dis* 1984; 130: 561- 5
41. Melamed MRG, Flehinger BJ, Zaman MB, Heelan RT, Perchick WA. Screening for early lung cancer: results of the Memorial Sloan- Kettering Study in New York. *Chest* 1984; 86: 44- 53
42. Tockman MS. Survival and mortality from lung cancer in screened population: The John Hopkins Study. *Chest* 1986; 89: 324
43. Kubik A, Parkin DM, Khlat M. Lack of benefit from semiannual screening for cancer of the lung: follow-up report of a randomized controlled trial on a population of high-risk males in Czechoslovakia. *Int J Cancer* 1990; 45: 26- 33
44. Topal U. Akciğer kanseri taraması, *Türk Toraks Dergisi* 2007; 8(2): 115- 118
45. Bach PB, Silvestri GA, Hanger M, Jett JR. Screening for lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd Edition). *Chest* 2007; 132 (3): 69– 77
46. Black WC. Computed tomography screening for lung cancer review of screening principles and update on current status. *Cancer* 2007; 110: 2370– 2384
47. Stanzel F. Fluorescent bronchoscopy: contribution for lung cancer screening? *Lung Cancer* 2004; 45 (2): 29– 37
48. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. <http://www.nccn.org>.18.11.2009
49. I. Horvath, Z. Lazar, N. Gyulai, M. Kollai and G. Losonczy. Exhaled biomarkers in lung cancer. *Eur Respir J* 2009; 34: 261– 275
50. Phillips M, Altorki N, Austin JH. Prediction of lung cancer using volatile biomarkers in breath. *Cancer Biomark* 2007; 3: 95– 109
51. Mazzone PJ. Analysis of volatile organic compounds in the exhaled breath for the diagnosis of lung cancer. *J Thorac Oncol* 2008; 3: 774– 780
52. II. Mesleki Gelişim Kursu . http://www.toraks.org.tr/mesleki_gelisim_kursu/ 28-09-2009
53. Beckles MA, Spiro SG, Colice GL, Rudd RM. Initial evaluation of the patient with lung cancer. *Chest* 2003; 123: 97- 104
54. Kvale PA. Lung Cancer.in ACCP Pulmonary Board Review. Continuing medical education course syllabus, USA, 2002; 35- 50

55. Collins GL, Haines C, Perkel R, Enck RE. Lung cancer: Diagnosis and management. *Am Fam Physician* 2007; 75: 56- 63
56. Diederich S, Thomas M, Semik M. Screening for early lung cancer with low-dose spiral computed tomography: results of annual follow-up examinations in asymptomatic smokers. *Eur Radiol* 2004; 14: 691– 702
57. Sone S, Li F, Yang Z, Honda T, Maruyama Y, Takashima S, Hasegawa M, Kawakami S. Results of three-year mass screening programme for lung cancer using mobile low-dose spiral computed tomography scanner. *Br J Cancer* 2001; 84: 25– 32
58. Lee K, Kim S, Chung M, Kim H, Kim, Lee Y, Yi C, Jeong S, Jeong Y. Solid or Partly Solid Solitary Pulmonary nodules; *Chest* 2007; 131: 1516- 1525
59. Soubani AO. The evaluation and management of the solitary pulmonary nodule. *Postgrad Med J.* 2008; 84 (995): 459- 66
60. Schreiber G, McCrory DC. Performance characteristics of different modalities for diagnosis of suspected lung cancer. Summary of published evidence. *Chest* 2003; 123: 115- 128
61. McWilliams A, Lam B, Sutedja T. Early proximal lung cancer diagnosis and treatment. *Eur Respir J* 2009; 33: 656– 665
62. Palcic B, Garner DM, Beveridge J, Sun XR, Doudkine A, MacAulay C, Lam S, Payne SW. Increase of sensitivity of sputum cytology using high-resolution image cytometry: field study results. *Cytometry* 2002; 50: 168– 176
63. Xing S, Khanavkar B, Nakhosteen JA, et al. Predictive value of image cytometry for diagnosis of lung cancer in heavy smokers. *Eur Respir J* 2005; 25: 956– 963
64. Karahalli E, Yilmaz A, Turker H, Ozvaran K. Usefulness of various diagnostic techniques during fiberoptic bronchoscopy for endoscopically visible lung cancer: Should cytologic examinations be performed routinely?. *Respiration* 2001; 68: 611- 4
65. Arslan S, Yilmaz A, Bayramgurler B, Uzman O, Unver E, Akkaya. E. CT-guided transthoracic fine needle aspiration of pulmonary lesions: Accuracy and complications in 294 patients. *Medical Science Monitor* 2002; 8: 493- 7
66. Travis WD, Brambilla E, Muller-Mermelink HK, Harris CC. Pathology and genetics of tumours of the lung, pleura, thymus and heart. *IARC basımevi.* 2004; 10: 1- 344
67. Mountain CF. Revisions in the international system for staging long cancer. *Chest* 1997; 111: 1710- 17

68. Detterbeck F, Boffa D, Tanoue L The New Lung Cancer Staging System. CHEST 2009; 136: 260– 271
69. Silvestri GA, Tanoue LT, Margolis ML, Barker J, Detterbeck F. The noninvasive staging of non-small cell lung cancer. The guidelines. Chest 2003; 123: 147- 156
70. Detterbeck FC, DeCamp MM, Kohman LJ, Sivestri GA. Invasive staging. The guidelines. Chest 2003; 123: 167- 75
71. Dales RA, Stark RM, Raman S. Computed tomography to stage lung cancer: approaching a controversy using meta-analysis. Am Rev Respir Dis 1990; 141: 1096- 101
72. Toloza EM, Harpole L, McCrory DC. Non-invasive staging of nonsmall cell lung cancer: a review of the current evidence. Chest 2003; 123: 137- 146
73. Munden RF, Bruzzi J. Imaging of non-small cell lung cancer. Radiol Clin North Am 2005; 43: 467- 80
74. Lopez-Encuentra A, Garcia-Lujan R, Rivas JJ et al. Comparison between clinical and pathologic staging in 2,994 cases of lung cancer. Ann Thorac Surg 2005; 79: 974- 9
75. Göksel T. Akciğer Kanseri. <http://www.toraks.org.tr/kisokulu4-ppt-pdf>. 28/09/2009
76. Polatlı, M. Yoğunlaştırılmış ekspirasyon havası (YEH) ölçümü. Türk Toraks Derneği Okulu 11. Yıllık Kongresi Kursları, Kurs Notları. Ankara: Poyraz Tıbbi Yayıncılık, 2008: 51-57
77. Akkoçlu A, Akciğer Kanserlerinde Tanı, Türk Toraks Derneği Kış Okulu, 2002
78. Chan H, Lewis C, Thomas P. Exhaled breath analysis: Novel approach for early detection of lung cancer. Lung Cancer 2009; 63:164– 168
79. Bayley DL, Abusriwil H, Ahmad A, et al. Validation of assays for inflammatory mediators in exhaled breath condensate. Eur Respir J 2008; 31: 943– 948
80. Hunt J, *Charlottesville V*. Exhaled breath condensate: An evolving tool for noninvasive evaluation of lung disease. J Allergy clin immunol 2007; 110, 1
81. Mutlu GM, Garey KW, Robbins RA, Danziger LH, Rubinstein I. Collection and analysis of exhaled breath condensate in humans. Am JR espir Crit Care Med 2001; 164: 731- 7
82. Horvath I, Hunt J, Barnes PJ, on behalf of the ERS/ATS TaskForce, Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. Eur Respir J 2005; 26: 523– 548
83. MontuschiP, BarnesP. Analysis of exhaled breath condensate for monitoring airway inflammation. TRENDS in Pharmacological Sciences 2002 (23): 5

84. Hirsch F.R, Niklinski J, Molecular approaches to lung cancer evaluation Lung Cancer 2002; 38: 9- 17
85. Minna JD, Sekido Y, Fong KM, Gazdar AF. Molecular biology of the lung. In: De Vita VD, Hellmann S, Rosenberg SA, editors. Principles and Practice of Oncology. Philadelphia,PA: Lippincott–Raven, 1997: 849– 57
86. Panani A, Roussos C. Cytogenetic and molecular aspects of lung cancer. Cancer Letters 2006; 239: 1– 9
87. Bozkurt B, Selçuk T, Fırat P. 1972-2002 döneminde Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Akciğer Kanseri Tanısı konulan Hastaların Histolojik ve Epidemiyolojik Değerlendirmesi Toraks Dergisi 2004; 5 (3): 148- 53
88. Halilçolar H, Tatar D, Ertuğrul G ve ark. Epidemiyoloji. In: Akkoçlu A, Öztürk C; eds. Akciğer Kanseri Multidisipliner Yaklaşım. Toraks Kitapları, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 1999: 17- 22
89. Arınç S, Özvaran M, Güngör N, Çelik O, Soğukpınar Ö, Çolak F, Baran R. Hastanemizde Tanı Alan Akciğer Kanserli olguların Epidemiyolojik ve Histolojik Özellikleri. Akciğer Arşivi 2005; 6: 149- 52
90. Kharitonov SA, Barnes PJ. Biomarkers of some pulmonary diseases in exhaled breath. Biomarkers. 2002; 7 (1): 1-32
91. Study on Systemic and Airway Cytokines and Oxidative Stress in Lung Cancer Patients Undergoing Surgery. <http://www.clinicaltrials.gov>. 07. 11. 2009
92. Chan HP, Tran V, Lewis C, Thomas PS. Elevated levels of oxidative stress markers in exhaled breath condensate. J Thorac Oncol. 2009; 4 (2): 172-8
93. Dalaveris E, Kerenidi T, Katsabeki-Katsafli A, Kiropoulos T, Tanou K, Gourgoulianis KI, Kostikas K. VEGF, TNF-alpha and 8-isoprostane levels in exhaled breath condensate and serum of patients with lung cancer. Lung Cancer. 2009; 64 (2): 219-25
94. Tran VH. Breath biomarkers associated with Lung Cancer. Yüksek Lisans Tezi. Medical Sciences, Faculty of Medicine, UNSW. 2009
95. Jackson AS, Sandrini A, Campbell C, Chow S, Thomas PS, Yates DH. Comparison of biomarkers in exhaled breath condensate and bronchoalveolar lavage. Am J Respir Crit Care Med. 2007;175(3): 222- 7).

96. Hogg J, Chu F, Utokaparch S, Woods R, Elliott M, Buzatu L, Cherniack RM, Rogers RM, Sciurba FC, Coxson HO, Paré PD. The Nature of Small-Airway Obstruction in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *N Engl J Med* 2004; 351(13): 1367
97. Liu MC, Gelmann EP. P53 gene mutations: case study of a clinical marker for solid tumors. *Semin Oncol* 2002; 29: 246- 57
98. Gessner C. Detection of mutations of the K-ras gene in condensed breath of patients with non small cell lung cancer (KHDAK) as a possible non-invasive screening method. *Pneumologie* 1998; 52: 426– 427
99. Carpagnano GE, Foschino-Barbaro MP, Mulé G. 3p microsatellite alterations in exhaled breath condensate from patients with non-small cell lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005; 172 (6): 738- 44
100. Carpagnano GE, Foschino-Barbaro MP, Spanevello A, Resta O, Carpagnano F, Mulé G, Pinto R, Tommasi S, Paradiso A. 3p microsatellite signature in exhaled breath condensate and tumor tissue of patients with lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177 (3): 246- 7