

Merkez sinir sistemi metastazı yapan küçük hücreli dışı akciğer tümörlerinde ezrin, Ki-67 ve CD34 ekspresyonunun prognostik önemi

Prognostic significance of ezrin, Ki-67 and CD34 expressions in non-small cell carcinoma of the lung metastazing to the central nervous system

İnanç Elif Gürer¹

İbrahim Cora¹

Fatma Ataman²

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya

¹ Patoloji Anabilim Dalı

² Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı

Özet

Amaç: Akciğer karsinomu en yaygın malignitelerden biridir ve biyolojik davranışı tam olarak tanımlanamamıştır. Prognostik faktörlerin bilinmesi en etkin sağaltımın seçilmesinde çok önemlidir. Bu amaçla, bilinen prognostik faktörlerden Ki-67 ve CD 34 ile daha az bilinen, malign hücrelerin invaziv davranışında önemli rol oynadığı düşünülen ezrinin, küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarındaki prognostik önemi araştırılmıştır.

Gereç ve yöntem: Çalışmanın materyalini 19'u merkez sinir sistemine (MSS) metastaz yapmayan toplam 35 küçük hücreli dışı akciğer karsinomu oluşturmaktadır. Her iki grupta tümör volümleri ve hasta sağkalımları ayrı ayrı değerlendirilirken, bunların ezrin, Ki-67 ve CD 34 immün reaktiviteleri ile korelasyonları araştırılmıştır.

Bulgular: İki grup arasında karşılaştırılan parametreler ve immün boyalar açısından anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Sonuç: Bulgularımız, çalışılan olgu sayısının nispeten az oluşuna bağlı olabilir. Ayrıca, seçilen materyallerin bir kısmı bronkoskopik biyopsi, bir kısmı ise rezeksiyon materyalidir. Küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında tümör içi heterojenite önemli bir özelliktir ve bronkoskopik biyopsiler tümörün tamamını temsil etmez. Yine özellikle ezrin ile ilgili çok az kaynak bilgisi olup, çelişkili sonuçlara ulaşılmıştır.

Daha ileri çalışmalarda, verilerin standart tutulması ve geniş dizilerde çalışılması, sonuçların daha güvenilir olmasına katkıda bulunacaktır.

Anahtar sözcükler: Ezrin, Ki-67, CD 34, prognoz, akciğer karsinomu

Summary

Aim: Pulmonary carcinoma is one of the frequent malignancies and its biological behaviour is not yet clear. Prognostic factors are of importance in the choice of the most effective therapeutic modality.

In this study prognostic values of the factors Ki-67, CD 34 and less known ezrin which is thought to have influence on the invasiveness of the malignant cells in the non small cell carcinoma were studied.

Materials and methods: Material of this study are 35 non - small cell lung carcinoma cases, 19 of whom had no central nervous system (CNS) metastases. Tumor volume and survival times are considered in each group and their correlation with ezrin, Ki-67 and CD 34 are investigated.

Results: Our results did not reveal a significant correlation between these parameters and immunostains.

Conclusion: This irrelevance may be due to the limited number of cases. One other probable reason may be the heterogeneity of the specimens; some were resection materials and some were bronchoscopic biopsies. The intratumoral heterogeneity is an important property of non-small cell lung carcinoma and bronchoscopic biopsies do not reveal this feature completely. There are a few reports about ezrin revealing controversial results.

Further investigations are required to find dependable standards and results.

Key words: Ezrin, Ki - 67, CD 34, prognoses, lung carcinoma

Akciğer karsinomu son 50 yıl boyunca artan bir sıklıkla izlenmektedir. Erkeklerde kanserden ölümlerin yaklaşık 1/3'ünden, her iki cinsde de tüm ölümlerin % 7'sinden sorumludur (1).

Küçük hücreli dışı (KHD) akciğer karsinomu, tüm akciğer karsinomlarının % 70-80'ini oluşturur ve 5 yıllık sağkalım oranı yaklaşık % 15'dir (2). Birçok faktörün patogenezi rolü vardır (3,4).

Tümör progresyonu ve metastazla ilgili olduğu düşünülen birçok gen izole edilmiştir (5). Bu genlerden ezrin, aktine bağımlı 3C12 yapısında Moesin ve Radixin'i de içeren ve ERM ailesinden bir grup intrasellüler proteinin üyesidir (6-16). Ezrin, plasma membranı altında, mikrovilluslar, membran katlantıları ve hücreler arasındaki birleşim yerlerinde birikim gösterir. Bu proteinin fonksiyonu, hücre membranı ile aktine bağımlı hücre iskeleti arasındaki bağlantıyı sağlamaktır. Bu nedenle hücre morfolojisinin kontrolünde çok önemlidir.

Hücre adezyon molekülleri de metastaz oluşumunda önemlidir. Ezrin, adezyon molekülleri E-cadherin ve Beta-cateninlerle etkileşerek hücre-hücre ve hücre-matriks adezyonunu regüle eder ve kanser hücrelerinin adeziv ve invaziv davranışlarının kontrolünde önemli rol oynayabilir (9). Ezrin ayrıca CD 43, CD 44, ICAM-1 ve ICAM-2 gibi hücre migrasyonu ve metastazla ilgili olan adezyon moleküllerine de bağlanır (9, 11, 17-20).

Ezrinin malign hücrelerin motilite ve invaziv davranışı ile olan ilişkisi gösterilmiştir. Örneğin, ezrin immün reaktivitesi (IR) astrositik tümörlerde malignitenin artışına paralel olarak artar (6).

Endometrium karsinomu ve pankreatik karsinomlarda da metastatik potansiyel ile artmış ezrin ekspresyonu vardır (21).

Bu çalışmaların aksine, kolorektal kanser hücrelerinde, ezrin ekspresyonunun inhibisyonu sonucu, bu hücrelerin adhezivitesinde azalma ile birlikte motilitelerinin arttığı ve invaziv davranış gösterdiği bildirilmiştir (9). Stromaya invazyon yapmış akciğer adenokarsinomuna ait tümör hücrelerinin büyük bir kısmında ezrin kuvvetle pozitif bulunmuştur (10).

Kontrolsüz hücre proliferasyonu malign tümörlerin davranışını belirleyen önemli bir prognostik faktördür (22-25). Akciğer tümörlerinin proliferatif aktivitesini belirlemek için Ki-67 antikoruna ile immün boyama yöntemi sıklıkla kullanılmaktadır (26). Ki-67 nükleer antijen siklus halindeki hücrelerde bulunur. Bundan dolayı çoğalan ve çoğalmayan hücreler arasında ayırım yapmak için kullanılabilir (27).

Tümörlerin büyümesini etkileyen faktörlerden birisi de angiogenezdır. Angiogenez sadece tümör büyümesi için değil, metastaz için de gereklidir (28-30). Mikrodamarların görüntülenmesinde çeşitli antikorlar kullanılabilir. CD 34 tutarlı boyanma gösterir ve daha spesifiktir (31, 32). Değişik tümörlerde anti CD 34 antikoruna ile yapılan birçok çalışma olmasına karşın, akciğer karsinomunda vaskülaritenin bu antikorla değerlendirilmesi konusunda daha az bilgi vardır (31,32).

Bu çalışmanın amacı, Merkez sinir sistemine (MSS) metastaz yapmış ve yapmamış KHD akciğer karsinomunda ezrin, Ki-67 ve CD 34'ün prognostik önemi ve tümör volümü ile hasta sağkalımları arasındaki korelasyonu değerlendirmektir.

Gereç ve yöntem

Çalışmanın materyalini, 3 yıllık dönemde Anabilim Dalımızda, primer KHD akciğer karsinomu nedeniyle opere edilmiş, formalinde işleme alınıp, parafine gömülü olarak arşivde saklanan 19'u MSS'e metastaz yapmayan, 16'sı MSS'e metastaz yapan toplam 35 KHD akciğer karsinom olgusu oluşturmaktadır.

Her iki grup da, Radyasyon Onkolojisi Kliniği'nde sağaltım uygulanmış, Evre III ve Evre IV hastalardır. Radyasyon Onkolojisi ile birlikte her iki grubun tümör volümleri Bilgisayarlı Tomografi (BT) ile saptandı. Arşiv kayıtları incelenerek hasta sağkalımları ile ilgili bilgiler elde edildi. Kaynaklara uygun olarak, hastalısız sağkalım, cerrahi girişim ile relaps ya da eksitus tarihi arasındaki zaman olarak tanımlandı (2,33).

Parafin bloklardan hazırlanan kesitler ezrin (Neomarkers, monoklonal MS-661-R7), Ki-67 (Neomarkers, monoklonal M1006-R7) ve CD 34 (Neomarkers, monoklonal MS-363-R7) immün dokü kimyasal (IDK) boyaları ile ve peroksidaz-anti peroksidaz (PAP) yöntemi ile boyandı. Değerlendirme ışık mikroskopunda semikantitatif olarak yapıldı.

Ezrin IR, hücre membranı ve sitoplazmik boyanma, şiddeti ve yüzdesi dikkate alınarak, ışık mikroskopunda X20 büyütmede semikantitatif olarak değerlendirildi (Resim 1). Boyanma yoğunluğu negatif, hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak belirtildi. Boyanma yüzdesi her biyopside pozitif boyanan % alan olarak subjektif değerlendirildi.

Ki-67 için hücre çekirdeğindeki kahverengi boyanma pozitif olarak kabul edildi (Resim 2). Her örnek için,

randomize seçilen X40'lık objektifte 1000 hücre sayıldı, Ki-67 ile pozitif boyanan hücreler total hücre tümör sayısına bölünerek (1000 hücre), her olgu için Ki-67 proliferatif indeksi hesaplandı (23,24,26,34-39).

CD 34 ile mikrodamar yoğunluğu değerlendirildi (Resim 3). X20'lik büyütmede 10 alanda damar yapıları sayılarak, ortalaması damar proliferatif indeksi olarak hesaplandı. Kahverengi boyanan tek endotel hücresi ve endotel hücre grupları pozitif olarak kabul edildi (32,40-42).

Kalın müsküler duvarlı damarlar, çapları yaklaşık sekiz eritrositten daha büyük olan damarlar, sklerotik alanlar ve tümöre komşu parankim alanlarındaki mikrodamarlar sayılmadı (40,41,43).

İstatistiksel analiz için SPSS yazılımı kullanıldı. Değerlerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U, Ki-kare ve Pearson's testi ile Fisher's Exact testleri kullanıldı.

Bulgular

Her iki grupta tümör tipi histopatolojik dağılımı yapıldı (Tablo I) ve diğer özellikleri belirlendi (Tablo II-IV).

Metastatik grupta yaş ortalaması 54.4, metastatik olmayan grupta ise yaş ortalaması 65.6'dır.

Metastatik grupta ortalama sağkalım 9.3 ay, metastatik olmayan grupta ortalama sağkalım 6.4 aydır.

Her iki gruptaki ezrin boyanma şiddeti belirlendi (Tablo V).

Ezrin boyanma yüzdesi metastatik grupta ortalama %49.38±35.86, metastatik olmayan grupta ise ortalama

%57.22±33.04'dür ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (p=0.463).

Yine ezrin boyanma yüzdesi ile sağkalım arasında bir korelasyon izlenmedi (p= 0.563).

Ortalama Ki-67 proliferatif indeksi metastatik grupta % 28.06±19.31, metastatik olmayan grupta % 50.84±18.90'dır.

Tümör çapı 5 cm ve üzerinde olan olgularda ortalama Ki-67 PI % 41.06±22.79, tümör çapı 5 cm'den küçük olanlarda ortalama Ki-67 PI %33.01±22.4'dür. Çalışmamızda Ki-67 PI ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (p=0.854). Ayrıca Ki-67 PI ile tümör volümü arasında istatistiksel açıdan bir ilişki saptanmadı (p=0.656).

Metastatik grupta ortalama damar proliferasyon indeksi 35.54±17.62, metastatik olmayan grupta ortalama damar proliferasyon indeksi 38.41±23.10'dur.

Tümör çapı 5 cm ve üzerindeki olgularda ortalama damar proliferatif indeksi 40.73±22.07, tümör çapı 5 cm'den küçük olgularda ise ortalama damar proliferasyon indeksi 30.14±15.78'dir ve bu iki grup arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı (p= 0.221).

MSS'e metastaz yapan grupta tümör çapı ile sağkalım arasında ters bir ilişki vardı (r =-0.184) ancak bu ilişki anlamlı bulunmadı (p=0.495). MSS'e metastaz yapmayan grupta da tümör çapı ile sağkalım arasında ters ilişki vardı (r=-0.039), ancak bu ilişki de anlamlı bulunmadı (p=0.876).

Tablo I. Dizideki her iki kümede yer alan olguların histopatolojik türlere dağılımı ve yüzde dağılımı

Histolojik tanı	Metastatik olanlar		Metastatik olmayanlar	
	Sayı (n)	%	Sayı (n)	%
Yassı epitel hücreli karsinom	2	12.5	12	63.1
Adenokarsinom	10	62.5	6	31.5
Adenoskuamöz karsinom	3	18.7	-	-
Küçük hücreli dışı karsinom	1	6.2	1	5.2
Toplam	16		19	

Tablo II. Metastatik olmayan gruptaki olguların özellikleri (PI: Proliferatif indeks).

Olgu	Cins	Yaş (yıl)	Çap (cm)	Tanı	İzlem süresi (ay)	Evre	Ezrin % alan ve boyanma şiddeti	Ki-67 (PI)	CD34 X20'lik objektifde 10 mikroskopik alanda ortalama
1	E	80	5,0	YEH	9,0	IV	%5 (+)	47,5	24,0
2	E	44	6,0	YEH	12,0	IV	%90 (++)	61,5	25,8
3	K	67	5,0	Ad	4,5	IV	%90 (+++)	22,5	21,4
4	E	77	11,2	Ad	2,0	IV	%90 (++)	34,5	27,7
5	E	64	4,0	YEH	3,0	IV	%50 (+)	41,0	45,0
6	E	72	6,5	Ad	1,0	III	Doku yok	41,5	65,0
7	E	68	7,0	YEH	2,5	III	%40 (+)	74,0	5,5
8	E	70	5,0	YEH	6,0	III	%90 (++)	74,0	71,5
9	E	69	5,0	KHD	25,0	III	%90 (+)	33,0	28,7
10	K	80	8,0	YEH	6,5	IIB	%10 (+)	70,0	22,5
11	E	60	8,0	Ad	3,0	III	%10 (+)	27,5	50,0
12	E	54	7,0	YEH	15,0	IIIB	%70 (+++)	35,5	95,7
13	E	43	5,0	Ad	1,0	IV	%90 (+)	27,0	53,0
14	E	76	3,0	Ad	5,0	IV	%30 (+)	07,0	33,5
15	E	63	6,0	YEH	3,5	III	%10 (+)	43,0	29,2
16	E	54	2,0	YEH	5,5	III	%70 (+)	57,0	15,4
17	E	58	6,0	YEH	2,5	III	(-)	73,0	61,5
18	E	77	3,0	YEH	2,0	IV	%80 (++)	52,0	42,3
19	E	72	4,0	YEH	7,0		%70 (++)	82,0	11,3

Tablo III. Metastatik gruptaki olguların özellikleri.

Olgu	Cins	Yaş (yıl)	Çap (cm)	Tanı	İzlem süresi (ay)	Evre	Ezrin % alan ve boyanma şiddeti	Ki-67 Proliferatif indeks (PI)	CD34 X20'lik objektifde 10 mikroskopik alanda ortalama
1	E	47	5,0	Ad	19,0	IV	(-)	24,0	28,6
2	E	59	2,0	Ad	22,0	IV	%90 (+++)	19,5	29,0
3	E	37	9,0	YEH	0,0	IV	(-)	30,0	22,2
4	K	41	9,0	Ad	7,0	IV	%60 (+++)	47,0	73,0
5	E	55	5,0	Ad	29,0	IV	%70 (+)	0,0	41,5
6	E	63	6,0	KHD	7,0	IV	%20 (+)	05,0	49,0
7	E	63	6,0	AdSq	2,0	IV	%40 (++)	17,0	19,8
8	E	55	7,0	AdSq	6,0	IV	%40 (+++)	30,0	39,0
9	E	70	3,4	Ad	2,0	IV	%90 (++)	34,0	14,2
10	E	62	7,0	YEH	22,0	IV	(-)	79,0	24,5
11	E	38	6,0	Ad	6,0	IV	%50 (+++)	53,0	57,7
12	E	70	4,0	AdSq	2,0	IV	(-)	17,0	27,1
13	E	64	4,0	Ad	6,0	IV	%90 (++)	34,0	11,3
14	E	54	4,5	Ad	6,0	IV	%90 (+++)	12,0	50,0
15	E	57	4,0	Ad	3,0	IV	%70 (++)	26,0	57,0
16	E	36	2,0	Ad	10,0	IV	%80 (++)	21,0	24,8

Tablo IV. Metastatik ve metastatik olmayan grupta tümör çapı.

Çap (cm)	<5	≥5	Toplam
Metastatik (Olgu sayısı)	7	9	16
Metastatik olmayan (Olgu sayısı)	5	14	19
Toplam	12	23	35

Tablo V. Metastatik ve metastatik olmayan gruplarda Ezrin boyanma şiddeti.

Boyanma şiddeti	Metastatik	Metastatik Olmayan	Toplam
Negatif	4	1	5
% grup içi	25,0	5,6	14,7
Hafif	2	10	12
% grup içi	12,5	55,5	35,3
Orta	5	5	10
% grup içi	31,3	27,8	29,4
Şiddetli	5	2	7
% grup içi	31,3	11,1	20,6
Toplam	16	18	34
	100,0	100,0	100,0

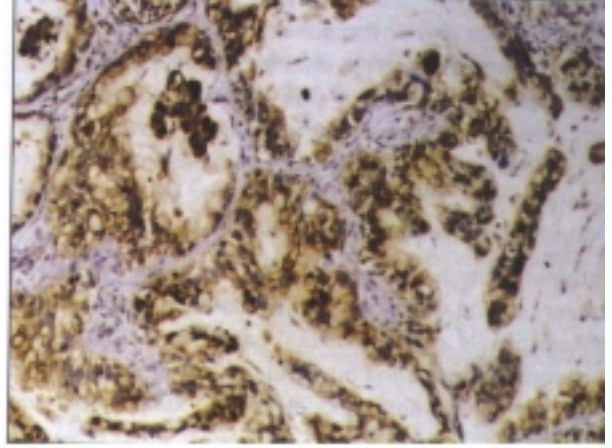
Tartışma

Ezrin, ERM ailesinin bir üyesidir, sitozolik bir moleküldür, plasma membranını aktin filamentlerine bağlar. Ezrinin hücre motilitesi ile ilgili sinyal iletiminde etkili olduğuna inanılmaktadır. Çünkü ezrin, tirozin kinazların substratıdır. Ezrinin hücre yüzey adezyon moleküllerine bağlanması, hücre migrasyonu ve metastaz ile olası ilişkisini ortaya çıkarır (21,44).

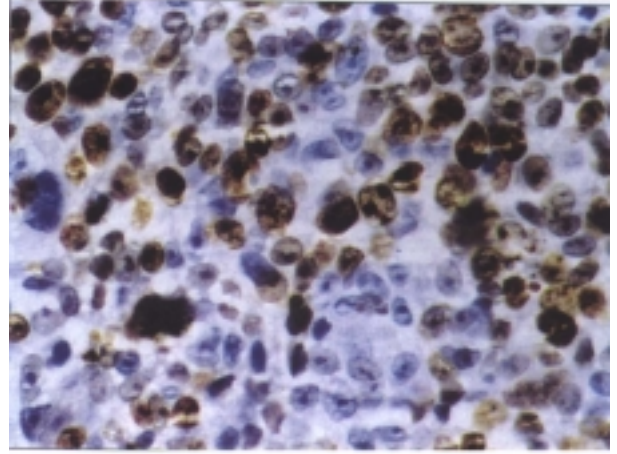
Ezrin akciğer, mide, ince barsaklar, pankreas ve böbreklerde yüksek düzeylerde eksprese edilir. Dalak, timus, lenf düğümleri ve kemik iliğinde orta düzeylerde, kalp, beyin ve testislerde çok düşük düzeylerde eksprese edilir, kas ve karaciğer dokusunda ise saptanmamıştır.

Ezrinle tümörigenez arasındaki ilişki, nörofibromatozis tip 2 (NF 2) geninin kodladığı bir tümör süpressör gen olan merlin 2 ile homolog olması nedeniyle öne sürülmüştür. Yine metil kolantren ile indüklenen fare sarkomlarında yüksek düzeylerde eksprese edilen tümör transplantasyon antijeni (MTA-1), ezrin olarak tanımlanmıştır (21).

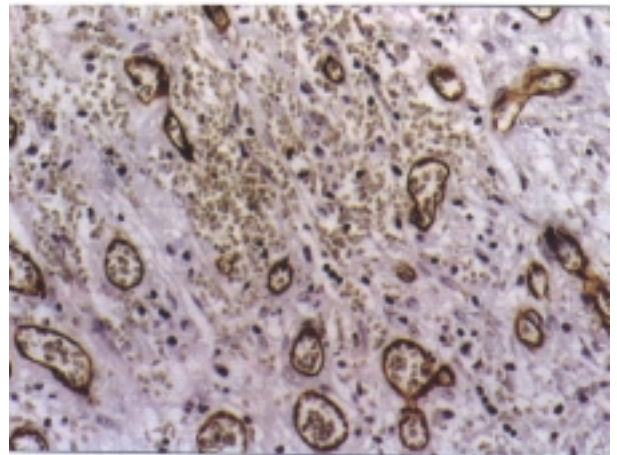
Ezrin birçok malign hücre tarafından eksprese edilirse de invazyon ve metastazla ilgili olarak rolü tam olarak anlaşılamamıştır.



Resim 1. MSS'e metastatik olmayan akciğer adenokarsinomunda ezrin immün reaktivitesi, % 90 alanda (+++) X100.



Resim 2. MSS'e metastatik akciğer yassı epitel hücreli karsinomunda Ki- 67 proliferatif indeksi; % 79 X400.



Resim 3. MSS'e metastatik akciğer adenokarsinomunda CD34 ile damar proliferatif indeksi; 73.0/ortalama 10 BBA, X200.

Ezrin IR, astrositik tümörlerde malignitenin artışına paralel olarak artar (6). Endometrium ve pankreas kansinomlarında artmış ezrin IR'nin artmış metastatik potansiyelle ilişkili olduğu gösterilmiştir (21). Ancak, kolorektal kansinomlarda ezrin ekspresyonunun inhibisyonu ile tümörün invaziv davranış gösterdiği bildirilmektedir (9). Akciğer adenokarsinomlarında ise daha invaziv olanlarda, daha yoğun ezrin IR'si saptanmıştır (10).

Çalışmamızda ise, metastatik ve metastatik olmayan gruplar arasında ezrin boyanma şiddeti bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0.464$). Yine çapı 5 cm ve daha büyük olan tümörlerle, 5 cm' den küçük olanlar boyanma şiddetine göre karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki izlenmedi ($p=0.127$). Ezrin boyanma şiddeti ve yüzdesi ile sağkalım arasında da bir korelasyon izlenmedi ($p=0.532$ ve $p=0.563$) (Resim 1).

Kontrolsüz hücre proliferasyonu, malign tümörlerin davranışını belirleyen önemli bir prognostik faktördür (22-25). Ki-67, KHD akciğer kansinomlarında proliferasyonun değerlendirilmesinde güvenilir bir belirleyicidir (27, 45). Biyolojik olarak aktif tümörlerin yüksek oranlarda Ki-67 nükleer antijeni eksprese ettiğine inanılmaktadır (24). Yüksek proliferatif aktivite gösteren olgular daha yoğun sağaltım gerektirebilir (23).

Çalışmamızda, metastatik grupta ortalama Ki-67 PI %28.06±19.31, metastatik olmayan grupta ise ortalama %50.84±18.90 dır (Resim 2). Burada metastatik olmayan grupta Ki-67 PI'nin daha yüksektir. PI'ni etkileyen çeşitli faktörler vardır. Tümör proliferasyon fraksiyonu, örnekleme işlemi, tümörün histopatolojik tür ve derecesine bağlı olarak değişebilir. Tümörün santralinden alınan örneklerde büyüme fraksiyonu değerleri daha düşük olabilir. Farklı proliferasyon hızı gösteren heterojen hücre popülasyonu bulunan tümörlerde küçük biyopsiler, proliferasyon hızını tam olarak yansıtmayabilir (23,45).

Kaynaklarda Ki-67 ekspresyonu ile sağkalım arasında anlamlı ters korelasyon olduğunu gösteren çalışmalar vardır (38,45,46). Pence ve ark., Ki-67 ekspresyonu ile hasta sağkalımı arasında anlamlı bir ters ilişki saptamıştır (38). Mehdi ve ark. tanı sırasında yüksek Ki-67 skoru (>% 25) olanlarda sağkalım anlamlı olarak düşük bulmuştur (38). Bubb ve ark. KHD akciğer kansinomlarında yüksek Ki-67 ekspresyonu ile azalmış sağkalım ve beyin metastazı arasında pozitif korelasyonu göstermişlerdir (46).

Ki-67 ekspresyonu ile tümör volümü arasındaki ilişkiyi konu alan çalışmalarda çelişkili sonuçlara ulaşıldı. Tümör volümünün artması ile Ki-67 PI' nin arttığı sonucuna varan çalışmalar olduğu gibi, yüksek PI gösteren malign potansiyelle sahip küçük çaplı tümörler de vardır. Çalış-

mamızda iki grup birlikte değerlendirildiğinde Ki-67 PI ile sağkalım ve tümör volümü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0.854$ ve $p=0.656$).

Tümörlerin büyümesini etkileyen faktörlerin içinde angiogenez de yer almaktadır.

Çalışmamızda MSS'e metastatik grupta ortalama damar proliferasyon indeksi (PI) 35.54±17.62, metastatik olmayan grupta ise 38.41±23.10 olarak bulunmuştur. Bu iki grup arasında damar PI'ne göre istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0.781$), (Resim 3).

Matsuyama ve ark., Fontanini ve ark., ayrı ayrı çalışmalarda mikrodamar yoğunluğunun KHD akciğer kansinomlarında en önemli prognostik faktör olduğunu bildirmişlerse de, angiogenezle sağkalım arasında korelasyon olmadığını gösteren çalışmalar da vardır (31,34). Örneğin, Dazzi ve ark., tümör içi mikrodamar yoğunluğunun sağ kalımla anlamlı bir ilişkisinin olmadığını bildirdi (42). Yine başka bir çalışmada 42 adenokarsinom olgusunda angiogenezle sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı gösterildi (47).

Çalışmamızda da damar yoğunluğu ile sağkalım ve tümör volümü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0.051$ ve $p=0.289$).

Sonuçlarımız şu nedenlere bağlı olabilir:

- Çalışılan olgu sayısı kaynakla karşılaştırıldığında azdır.
- Olgular genel olarak evre III ve IV olarak seçildiğinden, uygun bir dağılımdan söz edilebilir. Ancak bazı olguların cerrahi materyalinde, bazılarının ise bronkoskopik biyopsilerinde çalışılmıştır. Bronkoskopik biyopsiler tümörün tamamını ya da geniş bir kısmını temsil etmeyeceğinden, bu durum sonuçlarımıza yansımış olabilir. Çünkü KHD akciğer kansinomlarında tümör içi heterojenite önemlidir.
- Konu ile ilgili az sayıda kaynak elde edilebilmiş, yapılan çalışmalarda da çelişkili sonuçlara ulaşılmıştır.

Sonuç olarak, güncel olarak kullanılan pek çok prognostik belirleyici, KHD akciğer kansinomlarında, prognostik anlamda, klinik evrelemenin önüne geçememiştir.

MSS'e metastaz yapan ve yapmayan KHD akciğer kansinomlarında bazı prognostik faktörlerin hasta sağkalımları ile ilişkisini gösterebilmek için daha geniş dizilere ve daha çok sayıda çalışmaya gereksinim vardır.

Teşekkür

İstatistiksel değerlendirmedeki katkıları için, Biyoistatistik Anabilim Dalı'na ve Dr. Hakan Gülkesen'e teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Soomro IN, Holmes J, Whimster WF. Predicting prognosis in lung cancer: use of proliferating marker, Ki-67 monoclonal antibody. *J Pak Med Assoc* 1990; 48(3): 66-9.
2. Dar-Bin Shieh, John Godleski, James E, Herndon II, Toshifumi Azuma, Harriet Mercer, David J. Sugarbaker, et al. Cell motility as a prognostic factor in stage I nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* 1999; 85: 47-57.
3. Rosai J. *Respiratory Tract, Ackerman's Surgical Pathology*, eighth ed, St. Louis: Mosby, 1996; 372-373.
4. Rubin E, Farber JL. *Pathology*, third ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1999.
5. Nestl A, Von Stein OD, Zatloukal K, Thies WG, Herrlich P, Hofman M, et al. Gene expression patterns associated with the metastatic phenotype in rodent and human tumors. *Cancer Res* Feb 1999; 15; 61(4); 1569-77.
6. Kathrin D, Geiger, Peter Stoldt, Wolfgang Schlote and Amin Derouiche. Ezrin immunoreactivity is associated with increasing malignancy of astrocytic tumors but is absent in oligodendrogliomas. *Am J Pathol* 2000; 157.
7. Francesc Granes, Jesus Mariano Urena, Nativitat Rocamora and Senen Vilaro. Ezrin links syndecan-2 to the cytoskeleton. *J Cell Sci* 2000; 113: 1267-1276.
8. Anthony Bretscher, David Reczek and Mark Berryman. Ezrin: a protein requiring conformational activation to link microfilaments to the plasma membrane in the assembly of cell surface structures. *J Cell Sci* 1997; 110, 3011-3018.
9. Hiscox S, Jiang WG. Ezrin regulates cell-cell and cell-matrix adhesion, a possible role with E-cadherine/beta-catenin. *J Cell Sci* 1999; 112 (18): 3081-90.
10. Tokunou M, Niki T, Saitoh Y, Imamura H, Sakamoto M, Hirohashi S. Altered expression of the ERM proteins in lung adenocarcinoma. *Lab Invest* 2000; 80(11): 1643-5.
11. Wolfgang Wick, Cornelia Grimmel, Christine Wild-Bode, Michael Platten, Monique Arpin, and Michael Weller. Ezrin-dependent promotion of glioma cell clonogenicity, motility, and invasion mediated by BCL-2 and transforming growth factor- β 2. *J Neurosci* 2001; 21(10): 3360-3368.
12. Christophe Andreoli, Marianne Martin, Roland Le Borgne, Hubert Reggio and Paul Mangeat. Ezrin has properties to self-associate at the plasma membrane. *J Cell Sci* 1994; 107: 2509-2521.
13. Margaret Magendantz, Michael D. Henry, Arthur Lander and Frank Solomon. Interdomain interactions of radixin in vitro. *The J Biol Chem* 1995; 270(43): 25324-25327.
14. Crepaldi T, Gautreau A, Comoglio P, Louvard D, Arpin M. Ezrin is an effector of hepatocyte growth factor-mediated migration and morphogenesis in epithelial cells. *J Cell Biol* 1997; 138: 423-434.
15. Yen K. Tran, Bögler O, Gorse KM, Wieland I, Green MR, and Newsham IF. A novel member of the NF2/ERM/4.1 superfamily with growth suppressing properties in lung cancer. *Cancer Res* 1999; 59: 35-43.
16. Dransfield DT, Bradford AJ, Smith J, Martin M, Roy C, Mangeat PH et al. Ezrin is a cyclic AMP-dependent protein kinase anchoring protein. *The EMBO J* 1997; 16: 35-43.
17. Vaheri A, Carpen O, Heiska L, Helander TS, Jaaskelainen J, Majander-Nordenswan et al. The ezrin protein family: membrane-cytoskeleton interactions and disease associations. *Curr Cell Biol* 1997; 9: 659-666.
18. Bretscher A. Regulation of cortical structure by the ezrin-radixin-moesin protein family. *Curr Opin Cell Biol* 1999; 11: 109-116.
19. Mangeat P, Roy C and Martin M. ERM proteins in cell adhesion and membrane dynamics. *Trends Cell Biol* 1999; 9: 187-192.
20. Yonemura S, Tsukita S, Tsukita S. Direct involvement of ezrin/radixin /moesin (ERM)-binding membrane proteins in the organisation of microvilli in collaboration with activated ERM proteins. *J Cell Biol* 1999; 145: 1497-1509.
21. Naoaki Akisawa, Isao Nishimori, Takeshi Iwamura, Saburo Onishi and Michael A. Hollingsworth. High levels of ezrin expressed by human pancreatic adenocarcinoma cell lines with high metastatic potential. *Bioch and Biophys Research Communications* 1999; 258, 395-400.
22. Nguyen VN, Mirejovsky P, Mirejovsky T, Melinova L and Mandys V. Expression of cyclinD1, Ki-67 and PCNA in non-small cell lung cancer; Prognostic significance and comparison with P53 and bcl-2. *Acta Histochem* 2000; 102(3): 323-38.
23. Viberti L, Papotti M, Abbona GC, Celano A, Filosso PL and Bussolati G. Value of Ki-67 immunostaining in preoperative biopsies of carcinomas of the lung. *Hum Pathol* 1997; 28(2): 189-92.
24. Shiba M, Kohno H, Kakizawa K, Lizasa T, Otsuji M, Saitoh Y et al. Ki-67 immunostaining and other prognostic factors including tobacco smoking in patients with resected non-small cell lung carcinoma. *Cancer* 2000; 89(7): 1457-65.
25. Demarchi LMMF, Reis MM, Pinheiro SA, Ferhat C, Takagaki TY, Beyruti R, et al. Prognostic values of stromal proportion and PCNA, Ki-67 and p53 proteins in patients with resected Adenocarcinoma of the Lung. *Mod Pathol* 2000; 13(5): 511-520.
26. Ishiwata N, Jinn Y, Tsukada Y, Inase N, Ichioka M and Yoshizawa Y. Relationship between apoptosis and immunohistochemical staining for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 in non-smal cell lung cancer. *Anticancer Res* 2000; 20(3A): 1445-50.
27. Kawana H, Tamaru J, Tanaka T, Hirai A, Saito Y, Kitagawa M, et al. Role of p27 and Cyclin-dependent kinase 2 in the proliferation of non-small cell lung cancer. *Am J Pathol* 1998; 153: 505-513.
28. Salven P, Lymboussaki A, Heikkila P, Jaaskela-Saari H, Enholm B, Aase K, et al. Vascular endothelial growth factors VEGF-B are expressed in human tumors. *Am J Pathol* 1998; 153: 103-108.

29. Lauren J, Gunji Y and Alitalo K.. Is Angiopoietin-2 necessary for the initiation of tumor angiogenesis? *Am J Pathol* 1998; 153: 1333-1339.
30. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997; 386: 671-674.
31. Matsuyama K, Chiba Y, Sasaki M, Tanaka H, Muraoka R, Tanigawa N. Tumor angiogenesis as a prognostic marker, in operable non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 1998; 65: 1405-9.
32. Weidner N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. *Am J Pathol* 1995; 147: 9.
33. Harpole DH, Richards WG, Herndon JE II and DJ Sugarbaker. Angiogenesis and molecular biologic substaging in patients with stage I non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 1996; 61: 1470-6.
34. Fontanini G, Pingitore R, Bigini D, Vignati S, Pepe S, Ruggiero A et al. Growth fraction in non-small cell lung cancer estimated by proliferating cell nuclear antigen and comparison with Ki-67 labeling and DNA flow cytometry data. *Am J Pathol* 1992; 141: 285-1290.
35. Ishida H, Irie K, Itoh T, Furukawa T, Tokunaga O. The prognostic significance of p53 and bcl-2 expression in lung adenocarcinoma and its correlation with Ki-67 growth fraction. *Cancer* 1997; 80: 1034-4.
36. Wintzer HO, Zipfel I, Schulte-Mönting J, Hellerich U and von Kleist S. Ki-67 immunostaining in human breast tumors and its relationship to prognosis. *Cancer* 1991; 67: 421-8.
37. Quin CM, Wright NA. The clinical assesment of proliferation and growth in human tumors: evaluation of methods and applications as prognostic variables. *J Pathol* 1990; 160: 93-102.
38. Mehdi SA, Ezzell JE, Newman NB, Weidner N, Kohman LJ and Graziano SL. Prognostic significance of Ki-67 immunostaining and symptoms in resected stage I and II non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 1998; 20: 99-108.
39. Brown DC, Gatter KC. Monoclonal antibody Ki-67: its use in histopathology. *Histopathology* 1990; 17, 489-503.
40. Weidner N, Carrol PR, Flax J, Blumenfeld Wand, Folkman J. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma. *Am J Pathol* 1993; 143: 401-409.
41. Yamazaki K, Abe S, Takekawa H, Sukoh N, Watanabe N, Ogura S, et al. Tumor angiogenesis in human lung adenocarcinoma. *Cancer* 1994; 74: 2245-50.
42. Dazzi C, Cariello A, Maioli P, Solaini L, Scarpi E, Rosti G, et al. Prognostic and predictive value of intratumoral microvessels density in operable non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 1999; 24: 81-88.
43. Macchiarini P, Fontanini G, Dulmet E, de Montpreville V, Chapelier AR, Cerrina J, et al. Angiogenesis: an indicator of metastasis in non small cell lung cancer invading the thoracic inlet. *Ann Thorac Surg* 1994; 57: 1534-1539.
44. Ohtani K, Sakamoto H, Rutherford T, Chen Z, Satoh K, Naftolin F. Ezrin, a membrane-cytoskeletal linking protein, is involved in the process of invasion of endometrial cancer cells. *Cancer Lett* 1999; 147(1-2): 31- 8.
45. Simony J, Pujol JL, Radal M, Ursule E, Michel FB, Pujol H. In situ evaluation of growth fraction determined by monoclonal antibody Ki-67 and ploidy in surgically resected non-small cell lung cancers. *Cancer Res* 1990; 50(14): 4382-7.
46. Bubb RS, Komaki R, Hachiya T, Milas I, Ro JY, Langford L et al. Association of Ki-67, p53 and bcl-2 expression of the primary non-small-cell lung cancer lesion with brain metastatic lesion. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002; 53(5): 1216-24.
47. Giatromanolaki A, Koukourakis M, O'Byrne K, Fox S, Whitehouse R, Talbot D.C, et al. Prognostic value of angiogenesis in operable non-small cell lung cancer. *J Pathol* 1996; 179: 80-8.

Yazışma adresi:

Dr. İnanç Elif Gürer
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı
Dumlupınar Bulvarı, 07070, Antalya
Tel : 0 242 227 44 88
Faks : 0 242 228 24 56
E-posta: inancgurur@yahoo.com
