

## Küçük hücre dışı akciğer karsinomlarında biyolojik davranışın belirlenmesinde p53 ve ki-67 ekspresyonunun değeri\*

## The value of p53 and ki-67 expression in determining biological behavior in non-small cell lung carcinomas\*

Tuğba Günler<sup>1</sup>, Pinar Karabağlı<sup>2</sup>, Zeliha Esin Çelik<sup>2</sup>, Ceyhan Uğurluoğlu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Bölümü, Konya

<sup>2</sup>Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Konya

Tuğba Günler orcid.org/ 0000-0001-6319-7304

Pinar Karabağlı orcid.org/ 0000-0002-5558-0175

Zeliha Esin Çelik orcid.org/ 0000-0002-3220-7845

Ceyhan Uğurluoğlu orcid.org/ 0000-0002-0939-2544

## Öz

**Amaç:** Akciğer karsinomlarında yapılan son çalışmalar, tümörü erken evrede tespit etme, nüks ve mortalite riskini belirleme ile hedef tedavide etkili olan klinikopatolojik faktörleri saptamak için yürütülmektedir. Bu çalışmamızda rezeke edilen küçük hücre dışı akciğer karsinom(KHDAK)olgularını 2015 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflamasına göre yeniden değerlendirerek, p53 ve Ki-67'nin immünohistokimyasal ekspresyonunun klinikopatolojik parametreler ile ilişkisini ve prognostik önemini belirlemeyi amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** Rezeksiyon materyallerinde KHDAK tanısı alan Evre I - III arasındaki 125 olguda retrospektif olarak klinikopatolojik özellikler (cinsiyet, yaş, sigara kullanımı, tümör boyutu, plevra invazyonu, lenf nodu tutulumu, evre, sağkalım) ile p53 ve Ki-67 immünohistokimyasal ekspresyonu değerlendirildi.

**Bulgular:** p53 ekspresyonu 125 olgunun 61'inde >%10'du. Ki-67 ekspresyonunun ortalama değeri %32,9'du. Hem p53 hem de Ki-67 ekspresyonunun tümörün histolojik tipleri ile ilişkisi incelendiğinde anlamlı sonuçlar bulundu (p=0,036 ve p=0,000). Ki-67'den farklı olarak p53 ekspresyonu adenokarsinom (ADK) alt tiplerinde derece yükseldikçe anlamlı yüksek bulundu (p=0,036). Yüksek Ki-67 ekspresyonu tümör boyutu ve evre artışı ile ilişkilidi (p=0,008 ve p=0,020). Tek değişkenli ve çok değişkenli analizlerde prognozu etkileyen faktörler yaş ve tümörün evresi idi (p=0,021 ve p=0,041). Klinikopatolojik bulgular sağkalıma tek başına etkili değildi. Wald testi p53 ve Ki-67 ekspresyonu, sigara ve cinsiyet ile genel sağkalım arasında anlamlı bir ilişki olmadığını ortaya koymuştur.

**Sonuç:** KHDAK'larında Ki-67 ekspresyonu büyük tümör boyutu ve ileri evre ile güçlü bir ilişkiyi göstermektedir. p53 mutasyonu skuamöz hücreli karsinomlarda ve özellikle ADK solid varyantta daha sık görülmektedir. Bununla birlikte, p53 ve Ki-67 proteinlerinin prognostik öneminin daha büyük hasta gruplarında ve uzun süreli takiplerle araştırılmasının daha anlamlı sonuçlar sunabileceği ön görülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Akciğer, karsinom, Ki67, küçük hücre dışı, p53

## Abstract

**Objective:** Recent studies of lung carcinomas have been conducted to detect tumors in early-stage disease, to determine the risk of recurrence and mortality, and to determine the clinicopathological factors that are effective in targeted treatment. The aim of this study was to determine the prognostic value and association of immunohistochemical expression of p53 and Ki-67 with clinicopathological parameters in non-small cell lung carcinoma (NSCLC) and their variants.

**Material and Methods:** Clinicopathological features and p53 and Ki-67 expression were evaluated retrospectively in 125 patients diagnosed with NSCLC based on lung resection materials. The resected materials were assessed according to the 2015 World Health Organization (WHO) classification.

**Results:** p53 expression was > 10% in 61 of 125 cases. The average value of Ki-67 expression was 32.9%. Both p53 and Ki-67 expression were significantly associated with the histological tumor type (p=0.036 and p=0.000, respectively). p53 expression was significantly elevated in adenocarcinoma (ADC) subtypes when the stage increased (p=0.036). High Ki-67 expression was associated with tumor size and stage increase (p=0.008 and p=0.020, respectively). Factors affecting the prognosis in univariate-multivariate analyses were age and tumor stage (p=0.021 and p=0.041, respectively).

**Conclusion:** Ki-67 expression in NSCLC shows a strong association with large tumor size and advanced stage. p53 mutation is more common in squamous cell carcinoma and especially in ADC solid variant. However, it is predicted that the prognostic significance of p53 and Ki-67 proteins may provide more meaningful results in larger patient groups and long-term follow-up.

**Key words:** Lung, carcinoma, Ki67, non-small cell, p53

## Giriş

Akciğer kanseri, tüm dünyada morbidite ve mortaliteye sebep olan, çoğu ülkede sağlık giderlerinin önemli bir kısmını oluşturan agresif bir kanserdir (1). Global Cancer Statistics (GLOBOCAN) 2012 verilerine göre %12,9 oranla dünyada en çok tanı konulan kanser türü akciğer kanseri iken, ölümlerin de en çok akciğer kanserinden (1,59 milyon) gerçekleştiği belirtilmiştir.

Akciğer kanserlerinin %85'ini küçük hücre dışı akciğer karsinomları (KHDAK) oluşturur. Bunların içerisinde ise en sık görüleni adenokarsinom (ADK) olup ikinci sırada skuamöz hücreli karsinom (SHK) gelir (2, 3).

Akciğer kanserli hastaların erken evrede tespit edilmesi, rekürrens ve mortalite riskinin belirlenmesi ve tedavi şeklinin planlanması amacıyla son yıllarda hedefe yönelik tedavilere odaklanılmıştır. Ancak yapılan tüm çalışmalara ve moleküler gelişmelere rağmen, klinikte uygulanabilirliği daha pratik olan ve prognozda etkili ek faktörlerin araştırılması sürdürülmektedir. Bu faktörlerden bazıları da p53 ve Ki-67 belirteçleridir.

p53 geni kromozom 17p13'te yerleşiktir ve antiproliferatif özelliğe sahip p53 proteinini kodlar. Bu proteinin hücre siklus kontrolü, DNA tamiri, apoptoz, hücre yaşlanması ve anjiyogenez gibi önemli işlevleri vardır. p53 mutasyonu akciğer karsinomlarında en sık görülen mutasyondur. Diğer tümörlerde olduğu gibi akciğer karsinomlarının bazı alt tiplerinde de kötü prognozla ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (4, 5).

Ki-67 proliferen hücrelerde saptanan monoklonal bir antikordur, geni 10. kromozom üzerinde yer alır. Siklusun G1, S, G2 ve M fazlarındaki hücrelerinde bulunan Ki-67 epitopuna karşı gelişir. Diğer proliferasyon indeksleri ile ve bir çok tümör derecesi ile doğru korelasyon gösterir. Birçok sistem malignitelerinde (meme, akciğer, özofagus, böbrek ve prostat kanseri, malign melanom, non-hodgkin lenfoma, glial tümörler) yüksek Ki 67 oranı, kötü prognoz faktör olarak kabul edilmiştir (6-9).

Bu çalışmada KHDAK'larını 2015 DSÖ sınıflamasına göre yeniden değerlendirerek immunhistokimyasal p53 ve Ki-67 ekspresyonlarının klinik parametreler (hastanın yaşı, cinsiyeti, yaşam süresi) ve patolojik parametreler (tümörün histopatolojik alt tipi, tümör çapı, lenf nodu metastazı, evresi) ile ilişkisinin araştırılması planlanmıştır (10).

## Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda 2010-2015 yılları arasında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalına gönderilen akciğer rezeksiyon materyallerinden KHDAK tanısı alan 125 olguya ait parafin blok kesitleri incelendi.

Projemiz Selçuk Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Komisyonu tarafından onaylanmıştır.

İlk olarak arşivimizde bulunan Hematoksilen Eozin boyalı preparatlar ışık mikroskopisi ile 2015 DSÖ kriterlerine göre histopatolojik olarak sınıflandırıldı ve yeniden evrelendi (10). Çalışmada her olguda yaş, cinsiyet, sigara kullanımı, histolojik tip ve derece, plevra invazyonu, lenf nodu metastazı, takip süreleri ve sağkalım sorgulandı. Klinik özelliklere EBYS sistemindeki hastalara ait dosyalardan ulaşıldı.

Histopatolojik incelemede her olguda tümörü en iyi temsil eden preparatların blokları belirlenerek Leica RM2255 model mikrotom cihazı ile 4 mikron kalınlığında kesildi. Poly-L-Lysin kaplı pozitif yüklü lamlara alınan kesitler, 60 derecede 60 dakika etüvde deparafinize edildikten sonra yarı otomatik Ventana Benchmark XT immunohistokimya boyama cihazında p53 (1/100; Mouse Poliklonal, DO7, BioGenex) ve Ki-67 (Konsantre, Mouse monoklonal, DAKO, Clone MIB-1) antikolarıyla immunohistokimyasal olarak boyandı. Boyanan preparatlar çift başlıklı ışık mikroskopunda 2 patolog tarafından (PK, TG) değerlendirildi.

p53 ekspresyonu değerlendirilirken %10'un üzerinde nükleer koyu kahverengi boyanma pozitif kabul edildi [Şekil

1A, B] (11-13). Kontrol grubu olarak over seröz karsinomu kullanıldı.

Ki-67 ekspresyonu 1000 hücrede kuvvetli nükleer pozitif hücreler sayılarak yüzde olarak hesaplandı ve dört gruba ayrıldı (negatif, <%1; düşük, %1-20; orta, %20-50; yüksek, >%50). Ki-Kare istatistiksel analizinde Ki-67 cutoff değeri %20 alındı ve <%20 (düşük ekspresyon) ve ≥%20 (yüksek ekspresyon) olarak değerlendirildi [Şekil 1C, D] (13-15). Kontrol grubu olarak tonsil dokusu kullanıldı.

İstatistiksel olarak verilerin değerlendirilmesinde SPSS-18 programı kullanıldı. Kategorik hale getirilmiş değişkenler arasındaki farklılıklar teorik frekans değeri  $T_{ij} \geq 25$  için Pearson Ki kare,  $5 \leq T_{ij} < 25$  Yates Ki Kare ve  $T_{ij} < 5$  için Fisher's Ki Kare ile test edildi. Gruplar arası farklılıkların tespitinde 2 grup için bağımsız t testi; ikiden fazla grup karşılaştırmalarında Anova testi kullanıldı. Ayrıca Anova da gruplar arası farklılığın hangi grup kaynaklı olduğunu tespit etmek için Post Hoc testlerinden Tukey testi kullanıldı. Yaş, cinsiyet, sigara kullanımı, patolojik evre, p53, Ki-67 gibi klinik ve patolojik bağımsız değişkenlerin sağkalımı etkileyip etkilemediği Cox regresyon analizi ile test edildi. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi %5 anlamlılık düzeyinde yapıldı ( $p < 0,05$ ).

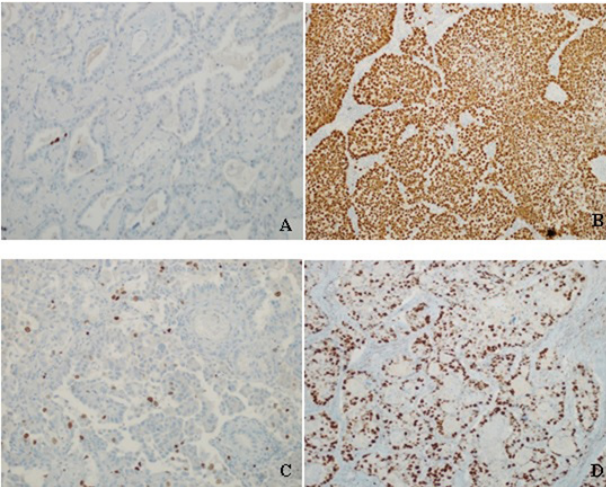
**Şekil 1.** KHDAK'larında immunhistokimyasal bulgular.

A-Negatif p53 ekspresyonu,

B-Pozitif p53 ekspresyonu,

C-Düşük Ki-67 ekspresyonu (<%20),

D-Yüksek K-67 ekspresyonu (≥%20).



*Küçük hücre dışı akciğer karsinomlarında biyolojik davranışın belirlenmesinde p53 ve ki-67 ekspresyonunun değeri - Günler T, Karabağlı B, Çelik ZE. ve Uğurluoğlu C.*

## Bulgular

2010-2015 yılları arasında küratif rezeksiyon uygulanan, patolojik evre I, II veya III olan, 106 erkek ve 19 kadın, toplam 125 hasta değerlendirildi. Ortalama yaş 64'dü (41-73). Olguların histolojik tiplerine bakıldığında 64'ü SHK (51, keratinize; 7, nonkeratinize; 6, bazaloid), 53'ü ADK (18, lepidik; 18, asiner; 9, solid; 5, papiller; 3, mikropapiller baskın patern), 3'ü büyük hücreli karsinom (BHK) ve 5'i büyük hücreli nöroendokrin karsinom (BHNEK)'du. Olgulara ait klinikopatolojik bulgular Tablo 1 de gösterilmiştir.

Çalışmaya aldığımız 125 olgudan 117'sinin sağkalım bilgilerine ulaşabildi. Ortalama yaşam süresi 23 aydır (1-65 ay). 22 olgu 1 ay-44 ay içerisinde vefat etmiştir.

125 KHDAK'larında değerlendirilen p53 ekspresyonu 61 olguda >%10'du. Histolojik alt tipler incelendiğinde p53 mutasyonu anlamlı farklılık göstermiş [Figüre 1] ( $p=0,036 < 0,05$ ) olup SHK'larda p53 ekspresyonu daha yüksek izlendi. SHK alt tiplerinde farklılık izlenmemesine rağmen ADK alt tiplerinde p53 ekspresyonu açısından anlamlı farklılık görüldü ( $p=0,036 < 0,05$ ). Yaş, sigara kullanımı, tümör çapı, plevra invazyonu, lenf nodu tutulumu ve evre ile p53 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

125 KHDAK'larında değerlendirilen Ki-67 ekspresyonunun ortalama değeri %32,9'du. 91 hastada Ki-67 ekspresyonu %20'den yüksek bulundu. Histolojik alt tipler incelendiğinde Ki-67 ekspresyonunun SHK ve BHNEK'da en yüksek olduğu görülmektedir ( $p=0,000 < 0,05$ ). SHK ve ADK alt tiplerine bakıldığında ise anlamlı farklılık izlenmedi. Tümör çapı > 3 cm'den büyük olan 52 olguda Ki-67 ekspresyonu belirgin yüksek bulundu. Evre ile ilişki incelendiğinde ise Evre 2A olgularda Ki-67 ekspresyonu Evre 1A'ya göre anlamlı yüksek bulundu. ( $p=0,020 < 0,05$ ). Yaş, plevra invazyonu, sigara kullanımı, lenf nodu tutulumu ile Ki-67 ekspresyonu arasında anlamlı farklılık izlenmedi.

Yapılan istatistiksel analizlerde klinikopatolojik bulguların tek başına sağkalıma etkisi olmadığı ( $p > 0,05$ ), sağkalımı birden fazla değişkenin etkilediği izlenmiştir. Bu amaçla yapılan Cox regresyon analizi ile sağkalım ve bunu etkileyen bağımsız değişkenlerden yaş, cinsiyet, p53 ekspresyonu, Ki-67 proliferasyon indeksi ve tümör evreleri arasındaki neden sonuç ilişkisi belirlenmiştir. Yapılan

Wald istatistikleri analiz sonucuna göre KHDAK'lerde yaş ve tümörün evresi prognozu olumsuz etkilemektedir ( $p<0,05$ ). Bunun yanında p53 ekspresyonu, Ki 67 proliferasyon indeksi, sigara ve cinsiyetin sağkalıma etkisi önemsizdir (Tablo 2) ( $p>0,05$ ).

**Tablo 1.** Çalışmada yer alan olgulara ait klinikopatolojik bulgular.

	Olgu sayısı	Yüzde(%)
<b>Yaş</b>		
≤60	56	44,8
>60	69	55,2
<b>Cinsiyet</b>		
Erkek	106	84,8
Kadın	19	15,2
<b>Sigara öyküsü</b>		
Kullanan	110	88,0
Kullanmamış	15	12,0
<b>Plevra invazyonu</b>		
+	16	12,8
-	109	87,2
<b>Tümör boyutu</b>		
≤ 3 cm	52	41,6
> 3 cm	73	58,4
<b>pT</b>		
T1	44	35,2
T2	69	55,2
T3	12	9,6
<b>pN</b>		
N0	96	76,8
N1	16	12,8
N2	13	10,4
<b>Evre</b>		
1A	33	26,4
1B	31	24,8
2A	27	21,6
2B	18	14,4
3A	16	12,8
<b>Histolojik tip</b>		
ADK	53	42,4
SHK	64	51,2
BHK	3	2,4
BHNEK	5	4,0

ADK: Adenokarsinom, SHK: Skuamöz hücreli karsinom, BHK: Büyük hücreli karsinom, BHNEK: Büyük hücreli nöroendokrinkarsinom.

**Tablo 2.** KHDAK'da klinikopatolojik bulgular ile p53 ve Ki-67 ekspresyonunun sağkalıma etkisi.

Logaritmik Benzerlik Oranı (-2)	Toplam skor			Önceki adıma göre			Sonraki adıma göre		
	Ki Kare	sd	p	Ki Kare	sd	p	Ki Kare	sd	p
167,633	50,309	12	,000	23,424	12	,024	23,424	12	,024*

\*( $p<0,05$ )

	B	Standart Hata	Wald İstatistiği	p	Exp(B) (Odds Oranı)	% 95CIExp(B)	
						Alt sınır	Üst sınır
Evre			9,978	,041*			
I	-1,977	,817	5,859	,016*	,138	,028	,686
II	-1,186	,592	4,018	,045*	,306	,096	,974
III	-1,665	,722	5,319	,021*	,189	,046	,779
Ki67(>%20)	-,308	,594	,269	,604	,735	,229	2,356
yaş			11,547	,021*			
p53	,922	,538	2,937	,087	2,515	,876	7,218
Sigara	-,121	,714	,029	,865	,886	,219	3,588
cinsiyet	-,271	,731	,137	,711	,763	,182	3,196

## Tartışma

Akciğer kanseri en sık 5 ve 6. dekadlarda, büyük bölümü ise 40-70 yaşları arasında gelişir. Olguların yalnızca %2'si 40 yaşından küçüktür. Akciğer kanserinin en önemli nedeni uzun süreli tütün dumanına maruziyet olmakla beraber, yoğun sigara içicilerin sadece %11'inde akciğer kanseri gelişmesi, patogenezi başka predispozan faktörlerin de rol oynadığını göstermektedir (16). Bizim çalışmamızda KHDAK olgularının % 88'i sigara kullanıcısı iken % 12'si sigara kullanmamıştı.

Akciğer kanserini erken evrede tespit etmek, nüks ve mortalite riskinin belirlenmesi ve tedavi şeklinin planlaması için önem taşımaktadır. Nüks riski yüksek olgularda tümör erken evre bile olsa adjuvan tedavi verilebilmektedir. Bu nedenle moleküler düzeydeki bazı belirteçler belirli hasta gruplarında prognostik faktörler olarak kullanılmakla beraber, tümörün biyolojik davranışları ile ilgili ek faktörlerin araştırılması sürdürülmektedir.

p53 tüm organ kanserlerinde en fazla araştırılmış tümör supresör genidir. Tüm insan kanserlerinin %50'sinde mutasyonu saptanmıştır (18-20). KHDAK'lerinde %23 ile %65 oranında p53 mutasyonu izlenmektedir (21-24). Bizim çalışmamızda p53 mutasyonu %48,8 olarak bulunmuştur.

KHDAK'lerin histopatolojik alt tiplerinde p53 mutasyonu insidansına bakıldığında literatürde farklı sonuçlar vardır. Çalışmamızda SHK'de %59,4, ADK'de %37,7 oranında saptanmıştır. Bizim serimizde de p53 mutasyonu SHK'lerde daha sık görülmüştür.

*Küçük hücre dışı akciğer karsinomlarında biyolojik davranışın belirlenmesinde p53 ve ki-67 ekspresyonunun değeri - Günler T, Karabağlı P, Çelik ZE. ve Uğurluoğlu C.*



KHDAK'lerin en heterojen grubunu oluşturan ADK'lerde subtiplerde gözlenen moleküler değişikliklerle ilgili çalışmalar sürmektedir. Yayınlarda p53 mutasyonu ile varyantlar arasındaki farklılığı gösteren bir veriye rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda lepidik varyantta %27,8, asiner varyantta %38,9 ve solid varyantta %88,9 p53 mutasyonu izlenmiştir. Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır. Papiller ve mikropapiller olgularda p53 mutasyonunun görülmemesi olgu sayısının azlığına (sırasıyla 5 ve 3 olgu) bağlı olabilir. Daha geniş serilerde çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda p53 ekspresyonu ile klinikopatolojik bulgulardan yaş, sigara öyküsü, tümör çapı, plevra invazyonu, lenf nodu tutulumu ve evre arasında anlamlı bir farklılık izlenmemiştir.

Ki-67; hücre siklusunun G0 fazı hariç tüm fazlarında bulunan ve hücrenin proliferasyon indeksini gösteren nükleer bir proteindir. Agresif tümörlerde bu indeks yüksektir. Meme, prostat, malign melanom, glial tümörler, lenfomalar gibi birçok sistem tümörlerinde yüksek Ki-67 ekspresyonu, kötü prognostik faktör olarak gösterilmiştir [6-9].

Bizim çalışmamızda Ki-67 ekspresyonu SHK'larda %42,6, ADK'larda %22,4, BHK'larda %37,9 ve BHNEK'larda %45,5 bulunmuştur. İstatistiksel olarak anlamlı olan sonuçlarımız, literatür ile de uyumludur (25-26).

KHDAK'lerde Ki-67 proliferasyon indeksinin klinikopatolojik veriler ile ilişkisini araştıran bir çalışmada, Ki-67 indeksi tümör boyutu ve lenf nodu metastazı ile korelasyon gösterilmiştir (27). Benzer bir çalışmada da Ki-67 ekspresyonunun tümör boyutu ve lenf nodu tutulumu için önemli bir parametre olduğunu belirtilmiştir (28). Çalışmamızda Ki-67 ekspresyonu ile tümör boyutu arasında anlamlı ilişki saptanmış, tümör çapı 3 cm ve üzeri olgularda Ki-67 ekspresyonu daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmaların aksine lenf nodu tutulumu ile Ki-67 proliferasyon indeksi arasında korelasyon olmadığını gösteren yayınlar da vardır (29). Bizim çalışmamızda da lenf nodu tutulumu ile Ki-67 proliferasyon indeksi arasında korelasyon saptanmamıştır. Bu sonuç lenf nodu metastazı gösteren hasta sayısının az oluşuna (29/125) bağlı olabilir.

Ki-67 proliferasyon indeksinin KHDAK'daki prognostik rolü uzun yıllardır araştırılmaktadır (26-31). 2004 yılında yayınlanan bir meta analiz çalışmada incelenen 1863

KHDAK olgusunda evre ile ilişkili olarak Ki-67 ekspresyonunun prognozu olumsuz etkilediği belirtilmiştir (26). Başka çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiş, yüksek ki-67 düzeylerinin kötü prognoz göstergesi olduğunu vurgulanmıştır (27, 29-31). Çalışmamızda KHDAK'lerde Ki-67 ekspresyonunun evre ile ilişkisi literatür ile uyumlu bulunmuş (26-27, 30-31), özellikle evre 2A tümörlerde 1A'ya göre anlamlı yükseklik saptanmıştır. Bu konuda halen net bir konsensus bulunmamaktadır.

Tümörün histolojik tiplerine göre prognozun incelendiği bir çalışmada ise ADK'de yüksek Ki-67 indeksinin evreden bağımsız kötü prognostik faktör olduğu gösterilmiştir, SHK'lerde prognostik faktör olmadığı bulunmuştur (26). Bizim çalışmamızda histolojik tiplere göre yapılan incelemede ise farklılık saptanmamıştır.

Literatürde tümörün diferansiyasyon derecesi ile Ki-67 proliferasyon indeksi arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir (27). Bizim çalışmamızda SHK'lerin nonkeratinize ve bazaloid tiplerinde Ki-67 ekspresyonu belirgin şekilde yüksek bulunmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir. Bu sonuç serimizde bu varyantların az sayıda olmasına (sırasıyla 7 ve 6) bağlı olabilir. ADK'lerde de benzer şekilde az diferansiye olgu sayısının azlığına (sırasıyla 13 ve 8) bağlı olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Literatürde p53 ve Ki-67 ekspresyonlarının KHDAK'lerde sağkalımı nasıl etkilediğine dair farklı sonuçlar mevcuttur. Çalışmalarda p53 mutasyonunun prognozu iyi yönde etkilediği (32-33) veya kötü yönde etkilediğini [30-31, 34] bildiren çelişkili sonuçlar görülmektedir. Bu çelişkili sonuçların KHDAK'lerin heterojenitesine bağlı olabileceği gibi immunhistokimyasal boyamanın değerlendirilmesi sırasında farklı araştırmacılar tarafından, farklı cut-off değerlerinin kullanılması sonucu ortaya çıktığı da düşünülebilir. Çalışmamızda p53 ekspresyonunun sağkalım üzerine de tek başına bir etkisi bulunmadığı saptanmıştır. Bu sonucu destekleyen ve p53 ekspresyonu ile sağkalımın doğrudan ilişkili olmadığını belirten çalışmalar da bulunmaktadır (11-12, 35-37).

Ahn ve ark. (12) 2014 yılında KHDAK tanısı almış 116 rezeksiyon materyalinde Ki-67 ekspresyonunun klinik önemini araştırmıştır. Çalışmada erkek hastalarda, sigara kullananlarda ve ADK dışı akciğer karsinomlarında (özellikle SHK) yüksek Ki-67 ekspresyonu (>%40) saptanmış, bu

olgularda sağkalımın düşük olduğu gösterilmiştir. Benzer başka bir çalışmada da yüksek Ki-67 ekspresyonunun kötü prognostik faktör olduğu belirtilmiştir (28).

Bizim serimizde ise Ki-67 ve p53 ekspresyonlarının sağkalıma tek başına etkili olmadığı, birden fazla faktör ile (yaş, evre) beraber değerlendirildiğinde sağkalımı etkilediği gösterilmiştir.

İleri evre ve büyük tümör boyutu ile ilişkili olarak Ki-67 ekspresyonu KHDAK'larda kötü bir prognostik belirteç olma yönünde potansiyele sahiptir. p53 ekspresyonu tek başına prognostik bir değer taşımamakla birlikte SHK'larda ve ADK solid varyantındaki yüksek oranı mutasyon varlığı lehine değerlendirilebilir. Literatürdeki farklı sonuçlara rağmen, özellikle erken evre tümörlerde, nüks ve mortaliteyi öngörme ve adjuvan kemoterapi ihtiyacını belirleyebilmede p53 ve Ki-67 ekspresyonunun rolü, daha geniş hasta gruplarında ve uzun süreli takiplerle değerlendirilmelidir.

## Kaynaklar

1. Pelosi G, Sonzogni A, Viale G. The classification of lung carcinoma: time to change the morphology-based approach. *Int J Surg Pathol* 2010;18:161-72.
2. Oser MG, Niederst MJ, Sequist LV, Engelman JA. Transformation from non-small-cell lung cancer to small-cell lung cancer: molecular drivers and cells of origin. *Lancet Oncol* 2015;16:165-72.
3. Devesa SS, Bray F, Vizcaino AP, Parkin DM. International lung cancer trends by histologic type: male:female differences diminishing and adenocarcinoma rates rising. *Int J Cancer* 2005;117:294-9.
4. Varley JM, Evans DGR, Birch JM. Li-Fraumeni syndrome a molecular and clinical review. *Brit J Cancer* 1997;76:1-14.
5. Haris CC. Structure and function of the p53 tumor suppressor gene: clues for rational cancer therapeutic strategie. *J Nat Can Inst* 1996;88:1442-55.
6. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984;133:1710-5.
7. Ikeda G, Isaji S, Das BC, Watanabe M, Kawarada Y. Prognostic significance of biologic factors in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Cancer* 1999;86:1396-405.
8. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associate. *Int J Cancer* 2005;68:1236-41.
9. Huisman MA, De Heer E, Grote JJ. Cholesteatoma epit-

helium is characterized by increased expression of Ki-67, p53 and p21, with minimal apoptosis. *Acta Otolaryngol* 2003;123:377-82.7

10. Travis WD, Brambilla E, Burke Allen P, et al. World Health Organization Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. In: Geisinger K, Moreira AL, Nicholson AG, Ramiporta R and Travis WD, ed. *Tumours of the lung*. Lyon International Agency for Research on Cancer Press. 2015;10-105.
11. Porebska I, Sobańska E, Kosacka M, Jankowska R. Apoptotic regulators: P53 and survivin expression in non-small cell lung cancer. *Cancer Genomics Proteomics* 2010;7: 331-5.
12. Ahn HK, Jung M, Ha SY, et al. Clinical significance of Ki-67 and p53 expression incuratively resected non-small cell lung cancer. *Tumour Biol* 2014;35:5735-40.
13. Tsubochi H, Sato N, Hiyama M, et al. Combined analysis of cyclooxygenase-2 expression with p53 and Ki-67 in nonsmall cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2006;82:1198-204.
14. Shiba M, Kohno H, Kakizawa K, et al. Ki-67 immunostaining and other prognostic factors including tobacco smoking in patients with resected nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* 2000;89:1457-65.
15. Minami K, Saito Y, Imamura H, Okamura A. Prognostic significance of p53, Ki-67, VEGF and Glut-1 in resected stage I adenocarcinoma of the lung. *Lung Cancer* 2002;38:51-7.
16. Kumar V and Abbas KA. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. In: Aliya NH, ed. *Lung*. 9th ed. 2015;712-21.
17. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Classification of Lung Adenocarcinoma. *J Thoracic Oncol* 2011;6:244-85.
18. Soussi T, Ishioka C, Claustres M, Beroud C. Locus specific mutation data bases: pitfalls and good practice based on the p53 experience. *Nature Reviews Cancer* 2006;6:83-90.
19. Olivier M, Hollstein M, Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences and clinical use. *Cold Spring Harb Perspect in Biol* 2010;1:2.
20. Robles AI, Harris CC. Clinical outcomes and correlates of TP53 mutations and cancer. *Cold Spring Harb Perspect in Biol* 2010;3:2.
21. Miller CW, Simon K, Aslo A, et al. p53 Mutations in human lung tumors. *Cancer Research* 1992;52:1695-8.
22. Reichel MB, Ohgaki H, Petersen I, Kleihues P. p53 mutations in primary human lung tumors and their metastases. *Mol Carcinog* 1994;9:105-9.
23. Kosaka T, Yatabe Y, Onozato R, Kuwano H, Mitsudomi T. Prognostic implication of EGFR, KRAS, and TP53 gene mutations in a large cohort of Japanese patients with surgically treated lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* 2009;4:22-9.
24. Mogi A, Kuwano H. TP53 mutations in non-small cell lung cancer. *J Biomed Biotechnol* 2011;583929.

25. Hommura F, Akita HD, Mishina T, et al. Prognostic significance of p27KIP1 protein and ki-67 growth fraction in non-small cell lung cancers. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4073.
26. Martin B, Paesmans M, Mascaux C, et al. Ki-67 expression and patients survival in lung cancer: systematic review of the literature with meta-analysis. *British Journal of Cancer* 2004;91:2018–25.
27. Pence JC, Kerns BJ, Dodge RK, Iglehart JD. Prognostic significance of the proliferation index in surgically resected non-small-cell lung cancer. *Arch Surg* 1993;128:1382-90.
28. Radovic S, Babic M, Doric M, et al. Non-small cell lung carcinoma: cyclin D1, bcl-2, p53, Ki-67 and HER-2 proteins expression in resected tumors. *Bosnian Journal Of Basic Medical Sciences* 2007;7:205-11.
29. Wen S, Zhou W, Li CM, et al. Ki-67 as a prognostic marker in early-stage non-small cell lung cancer in Asian patients: a meta-analysis of published studies involving 32 studies. *BMC Cancer* 2015;15(520).
30. Nguyen VN, Mirejovsky P, Mijevsky T, Melinova L, Mandys V. Expression of cyclin D1, Ki-67 and PCNA in non-small cell lung cancer: prognostic significance and comparison with p53 and bcl-2. *Acta Histochem* 2000;102:323-38.
31. Saber S, Salehian P. P53 and Ki-67 biomarkers as prognostic factors of non-small cell lung carcinoma. *Acta Medica Iranica* 2005;43:127-30.
32. Mørkve O, Halvorsen OJ, Skjaerven R, et al. Prognostic significance of p53 protein expression and DNA ploidy in surgically treated non-small cell lung carcinomas. *Anticancer Res* 1993;13:571-8.
33. Lee JS, Yoon A, Kalapurakal SK, et al. Expression of p53 oncoprotein in non-small-cell lung cancer: a favorable prognostic factor. *J Clin Oncol* 1995;13:1893-903.
34. Steels E, Paesmans M, Berghmans T, et al. Role of p53 as a prognostic factor for survival in lung cancer: a systematic review of the literature with a meta-analysis. *Eur Respir J* 2001;18:705-19.
35. Huncharek M, Kupelnick B, Geschwind JF, Tagahashi T. Prognostic significance of p53 mutations in non-small cell lung cancer: a meta-analysis of 829 cases from eight published studies. *Cancer Lett* 2000;153:219-26.
36. Han JY, Lee GK, Jang DH, Association of p53 codon 72 polymorphism and MDM2 SNP309 with clinical outcome of advanced non-small cell lung cancer. *Cancer* 2008;113:799–807.
37. Joerger M, Dejong D, Burylo A, et al. Tubulin, BRCA1, ERCC1, Abraxas, RAP80 mRNA expression, p53/p21 immunohistochemistry and clinical outcome in patients with advanced non small-cell lung cancer receiving first-line platinum-gemcitabine chemotherapy. *Lung Cancer* 2011;74:310-7.