

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AKCİĞER KANSERLİ HASTALARDA BRAF, KRAS, NRAS VE
PIK3CA GEN MUTASYONLARININ BELİRLENMESİNİN
PROGNOSTİK VE TERAPÖTİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Cem GÜL

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

KOCAELİ

2021

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AKCİĞER KANSERLİ HASTALARDA BRAF, KRAS, NRAS VE
PIK3CA GEN MUTASYONLARININ BELİRLENMESİNİN
PROGNOSTİK VE TERAPÖTİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Cem GÜL

Kocaeli Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin

Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Programı İçin Öngördüğü

BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Dr.Ögr.Üyesi Seda EREN KESKİN

Etik Kurul Onay No: E-80418770-020-37814

KOCAELİ

2021

ÖZET

AKCİĞER KANSERLİ HASTALARDA BRAF, KRAS, NRAS VE PIK3CA GEN MUTASYONLARININ BELİRLENMESİNİN PROGNOSTİK VE TERAPÖTİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Amaç: Akciğer kanseri ülkemizde ve dünyada kansere bağlı ölümlerin en büyük nedenidir. Akciğer kanserinde en yaygın mutasyona uğrayan onkogenler KRAS, EGFR, BRAF, PIK3CA, NRAS yer almaktadır. Bu genlerin tamamı kanser gelişimi için önemli bir serin/treonin kinaz sinyal yolağı olan MAPK ile PIK3/AKT/mTOR sinyal yolaklarının aktivasyonunda rol oynamaktadırlar. KRAS akciğer kanseri hastalarında varyasyonları en sık rastlanan ikinci gen olup, KRAS, NRAS, BRAF ve PIK3CA tedaviye dirençli akciğer kanseri hastalarında oldukça sık rastlanmaktadır. Bu çalışmada KRAS, NRAS, BRAF ve PIK3CA gen varyasyonlarının görülme sıklığı, hastalığın sağ kalımına etkisi ile prognostik ve terapötik etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Yöntem: Çalışmamızda Kocaeli Üniversitesi Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı'na akciğer kanseri ön tanısı ile gelen 2018-2020 yılları arasında likit biyopsi yöntemiyle periferik kandan izole edilen hdDNA ile Yeni Nesil Dizileme metodu kullanılarak varyant analizi yapılan 363 hastanın varyant sonuçları ile hastaların klinik verileri değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler IBM SPSS Statistics 22 paket programı ile analiz edilmiştir..

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen 363 hastanın 250'si (%68,87) erkek 113'ü (%31,13) kadın hastalardı. Hastalardaki akciğer kanseri tanısı alma yaşı ortalama 63,7'dir. Hastalarımızın genel sağ kalım oranı 11,5 aydı. Likit biyopsi analizi yapılmış hastalarımızın %32'sinde (n=117) incelenen genlere ait varyant saptandı. Varyant saptanan hastalarımızın %63'ünde KRAS, %10'unda NRAS, %20'sinde BRAF ve %43'ünde PIK3CA genine ait varyant saptanmıştır.

Sonuç: Varyant sıklıklarımız literatürle uyum göstermektedir. KRAS, NRAS, BRAF ve PIK3CA gen varyantları klinik veriler ile birlikte incelendiğinde, henüz hastaların tedavi süreçlerini etkileyecek ve sağ kalımlarını arttıracak bir ilaç etkileşimi olmadığı saptanmıştır. Bu veri, incelenen genlerin hastalığın tedavisinde direnç oluşturarak etki gösterdiğini düşündürmekle beraber, bu genlerin yeni hedefe yönelik tedaviler için hedef molekül niteliğinde olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Akciğer Kanseri, Likit Biyopsi, KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF THE PROGNOSTIC AND THERAPEUTIC EFFECTS OF THE MUTATION DETECTION OF GENETIC MUTATIONS BRAF, KRAS, NRAS VE PIK3CA IN LUNG CANCER PATIENTS

Objective: Lung cancer is the most common cancer-related cause of death in Turkey and in the world. The most common mutated oncogenes, regarding lung cancer, are KRAS, EGFR, BRAF, PIK3CA, NRAS.

These cancer-related genes play a major role in activating the MAPK- und PIK3/AKT/mTOR- Signaling pathways. While KRAS is the second most common gene among the gene variations in lung cancer patients, KRAS, NRAS, BRAF and PIK3CA were found quite frequently in treatment-resistant lung cancer patients. The goal of this study is to research the incidence of KRAS, NRAS, BRAF, and PIK3CA gene variations influence on the survivability of the patients of the disease, as well as their prognostic and therapeutic effects.

Method: In our study, variant results of 363 patients who were admitted to Kocaeli University Medical Genetics Department with a preliminary diagnosis of lung cancer between 2018 and 2020, for whom variant analysis was performed using cfDNA isolated from peripheral blood by liquid biopsy method and NGS method, and clinical data obtained from oncology patient files. analyzed using The obtained data were analyzed with the IBM SPSS Statistics 22 package.

Results: Of the 363 patients included in the study, 250 (68.87%) were male and 113 (31.13%) were female. The average age at diagnosis was 63.7 years. The overall survival rate of our patients was 11.5 months. Gene variants were found in 32% (n = 117) . Variant of KRAS gene was found in 63% of our patients, NRAS in 10%, BRAF in 20% and PIK3CA gene in 43% of our patients.

Conclusion: Our variant frequencies are consistent with the literature. KRAS, NRAS, BRAF and PIK3CA gene variants were examined together with clinical data, it was determined that there was no drug interaction that would affect the treatment processes of the patients and increase their survival. This data suggested that the examined genes may cause resistance to treatment and additionally these genes are target molecules for new targeted therapies.

Key Words: Lung Cancer, Likit Biopsy, KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA

TEŞEKKÜR

Tıbbi Genetik alanında bana çalışma fırsatı tanıyan ve çalışmalarına imkan sağlayan Kocaeli Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Başkanı Sn. Prof. Dr. Hakan SAVLI'ya; Tıbbi Genetik alanında yüksek lisans yapma şansı tanıyan değerli hocam Sn. Doç.Dr.Naci ÇİNE'ye; eğitimim boyunca engin bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösterici ve destek olan tez danışman hocam Sn. Dr.Öğr.Üyesi Seda EREN KESKİN'; tezimde yer alan deneylerin gerçekleştirilmesinde emekleri olan ve tüm yardımseverlikleriyle bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Dr.Nilüfer SERTDEMİR, Uzm.Biyolog Gülhan DEMİR ve Uzm.Biyolog Eda GÜZDOLU'ya başta olmak üzere; yüksek lisans eğitimim boyunca yardımlarını esirgemeyen Uzm. Biyolog Zeynep İLKAY ve Uzm. Biyolog Buket DOĞRUOĞLU'na; genetik laboratuvarı çalışanlarına, ve tüm eğitim hayatım boyunca benden maddi manevi desteğini esirgemeyen ve hayatımın her alanında beni destekleyen aileme ve varlıkları ile bu tez çalışmasının gerçekleşmesine olanak sağlayan değerli 363 hastama tüm kalbim ile teşekkür ediyorum.

Cem GÜL

Orjinallik Bildirimi

Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü M¼d¼rl¼ę¼'ne

Bilim Uzmanlığı tezi olarak hazırlayıp sunduğum ‘‘Akciğer Kanserli Hastalarda BRAF, KRAS, NRAS ve PIK3CA Gen Mutasyonlarının Belirlenmesinin Prognostik Ve Terap¼tik Etkisinin Araştırılması’’ başlıklı tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, şekil, tablo ve diğer malzemeler kaynakları g¼sterilerek verilmiştir. Tezimde yer alan deneysel çalışmalar/araştırmalar bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yapılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi t¼m¼yle tez danışmanım ve bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususlar bir intihal programı (Turnitin vb.) kullanılarak test edilmiş olup, doğruluğunu beyan ederim.

16/12/2021

Cem G¼L

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR.....	v
Orjinallik Bildirimi	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Anatomi.....	1
1.1.1. Akciğer	1
1.1.2 Trakea ve Bronşlar.....	1
1.2 Akciğer Kanseri ve Epidemiyolojisi	2
1.3. Akciğer Kanseri Etiyolojisi	2
1.4.Akciğer Kanserinin Histolojisi.....	4
1.5. Akciğer Kanserinin Evrelendirmesi	5
1.5.1. T Sınıflaması	6
1.5.2. N Sınıflaması	6
1.5.3.M Sınıflaması	6
1.6. Akciğer Kanseri Oluşumu ve Genetiği.....	7
1.7. Akciğer Kanserinde Moleküler Tanı Yöntemleri.....	14
1.8. Akciğer Kanserinde Tedavi.....	17
2. AMAÇ	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1.Araştırmanın Tipi	22
3.2.Araştırmanın Yeri.....	22
3.3.Araştırmanın Özellikleri.....	22
3.4.Kontrol Grubu.....	22
3.5.Araştırmanın Bağımlı ve Bağımsız Değişkenleri.....	23
3.6. Araştırma Yöntemleri.....	23
3.6.1. Likit Biyopsiden Yeni Nesil Dizileme Yöntemi.....	23
3.7.Kullanılan Araç Ve Gereçler.....	23

3.8.Etik Kurul Onayı	24
3.9.Veri Analizi	24
4.BULGULAR	25
5.TARTIŞMA	32
5.1.Sımrhlıklar	36
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	37
7.KAYNAKLAR	38



SİMGELER VE KISALTMALAR

?: Yüzde

IARC: Uluslar Arası Kanseri Araştırma Ajansı

IASLC: Uluslar Arası Akciğer Kanseri Araştırma Grubu

KHDAK: Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri

KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri

ER: Endoplazmik Retikulum

IPF: İdiyopatik Pulmoner Fibrozis

TERT: Telomeraz Ters Transkriptaz

EGFR: Epidermal Büyüme Faktörü

KRAS: Kristen Rat Sarkoma Viral Onkogen

BRAF: v-RAF Murin Sarkoma Viral Onkogen

NRAS: Nöroblastoma Ras Onkogeni

PIK3CA: Fosfotidilinositol-4-5-bifosfat 3-kinaz katalitik alfa geni

ALK: Anaplastik lenfoma kinaz

EGF: Epidermal Büyüme Faktörü

MAPK: Mitojenle Aktifleştirilmiş Protein Kinaz

PI3K/AKT: Fosfotidilinositol 3-kinaz /protein kinaz B

YND: Yeni Nesil Dizileme

FISH: Floresan In Situ Hibridizasyon

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

dNTP: Dinükleotittrifosfat

DNA: Deoksiribonükleik asit

ctDNA: Serbest Dolaşan Tümör DNA'sı

hdDNA: Hücre Dışı DNA

cfDNA: Serbest Dolaşan DNA (cell free DNA)

cDNA: Tamamlayıcı DNA

GTP: Guanozin Tri Fosfat

GDP: Guanozin Di Fosfat

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Köken aldıkları hücrelere göre akciğer kanserinin histolojik alt tipleri.....	5
Şekil 1.2. MAPK yolağı.....	10
Şekil 1.3. MAPK/PI3K/AKT/mTOR Sinyal Yolağı,.....	12
Şekil 4.1. Akciğer kanserinin yaş gruplarına göre dağılımı.....	25
Şekil 4.2. Akciğer kanserinde histopatolojik oran.....	26
Şekil 4.3. Sağ kalım verileri.....	27
Şekil 4.4. Varyant verileri ile Sağ kalım arasındaki ilişki.....	28

TABLolar

Tablo 1.2. TNM gruplarına göre kanser evrelendirmesi.....	7
Tablo 1.2. TNM gruplarına göre kanser evrelendirmesi.....	7
Tablo 1.3. BRAF mutasyon sınıfları (Dagogo-Jack, I.ve ark. 2018).....	13
Tablo 4. 1. Hasta bilgileri ve varyant yüzdeleri.....	25
Tablo 4. 2. Metastaz verileri	27
Tablo 4. 3. Likit biyopsi yöntemi ile taranan PIK3CA, KRAS, BRAF ve NRAS genlerine ait varyasyon dağılımı ve sağ kalımı.	29
Tablo 4. 4. Saptanan PIK3CA, KRAS, BRAF ve NRAS varyantlarının klinik dağılımı....	29

1. GİRİŞ

1.1. Anatomi

1.1.1. Akciğer

Solunum sisteminin esas organı olan akciğerler; mediastinumu yanlardan sınırlayan, solunum esnasında gaz alışverişinin gerçekleştiği temel organdır. Büyük bölümü plevra'nın iki yaprağı arasındaki cavitas pleuralis içerisinde bulunan akciğerler burada serbest olarak bulunur. Yetişkinlerde koyu grimsi olan akciğerler yeni doğanlarda pembemsi renktedir (Arıncı, K., & Elhan, A. 2006).

Yüzeyi parlak ve pürüzsüz olan akciğerler çok belirgin olmayan hatlar ile birbirlerinden ayrılmışlardır. Akciğerler üzerinde bulunan derin yarıklar ile loblara ayrılmıştır. Sağ akciğerde fissura obliqua ve fissura horizontalis olarak isimlendirilen yarıklar sağ akciğeri lobus superior, lobus medius ve lobus inferior olmak üzere üç loba ayırırken, sol akciğerde sadece fissura obliqua görülür ve bu yarıklar akciğeri lobus superior ve lobus medius olmak üzere iki loba ayırır. Koni şeklinde organlar olan akciğerlere bakıldığında bir tepesi bir tabanı ve iç yüzeyi olduğu görülür. Apex pulmonalis olarak isimlendirilen akciğerin tepesi toraksın girişinden üstüne dek uzanır. Basis pulmonalis olarak adlandırılan akciğer tabanları diyaframın şekli nedeniyle konkav görünümlüdür. Akciğerlerin en geniş yüzeyi kaburgalara bakan facies costalis'dir. Ayrıca mediastene bakan yüzeyleri facies mediastinalis olarak isimlendirilir. Akciğerlerin lobları arasında kalan dışarıdan bakınca görülmeyen yüzeyleri facies interlobaris olarak adlandırılır. (Arıncı, K., & Elhan, A. 2006)

1.1.2 Trakea ve Bronşlar

Trakea; larinks'in alt kısmından aşağıya doğru devam eden yaklaşık 10-12 cm uzunluğunda kıkırdak yapıda bir borudur. Trakea C6 vertebra ile T4 vertebranın alt düzeyi arasında bulunur (Kılıç, C. Anatomi A., Jou r.). Akciğerlerde Trakea'dan terminal bronşiolere kadar olan kısmı iletilen hava yolları ve distalde kalan kısım ise respiratuvar hava yolları olarak adlandırılır. Bronşlar, bronşioler ve terminal bronşioler anatomik olarak ölü

kabul edilir. Gaz değişimi yapılan alanlar respiratuvar bronşiyol, ductuli alveolares ve alveol kesecikleridir (Dere, F., & Yücel, B. D. 1994). Tek bir terminal bronşiol, asinus (primer lobül) adı verilen akciğer ünitesini havalandırır. Sekonder lobül terminal bronşiyole bağlı 5-6 asinüsten oluşur ve asinus içinde terminal bronşiol 3-8 tane bronchioli respiratorii'ye ayrılır. Bunlar da ductus alveolares denilen kanalcıklara ve alveol keselerine açılır. (Arıncı, K., & Elhan, A. 2006)

1.2 Akciğer Kanseri ve Epidemiyolojisi

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2020 kanser araştırma verilerine göre Dünya'da ve ülkemizde akciğer kanseri görölme sıklığı oldukça yüksek bir kanser olup kansere bağlı ölümler arasında ilk sıralarda yer almaktadır ve sigara içme oranı yüksek olan toplumlarda paralel olarak akciğer kanseri miktarında da artış görölmektedir. Global kanser istatistiklerine göre 2018 yılında toplam 18.1 milyon yeni kanser vakasının 2.09 milyonunun akciğer kanseri olacağı ve kansere bağlı ölümlerin yaklaşık 1.76 milyonunun akciğere kanserine bağlı ölüm olacağı tahmin edilmektedir (Freddy ve ark. 2018). Her iki cinsiyette de akciğer kanseri en sık görölen kanser türü olsa da erkekler de en sık görölen, kansere bağlı ölümlerin başında gelir. Dünya'da sigara ve akciğer kanserine bağlı ölümlerin %80'i nüfusla bağlantılı olarak en fazla göröldüğü ölkeler olan Çin, Endonezya, Kuzey ve Doğu Afrika ölkeleridir. Türkiye'de ise akciğer kanseri Sağlık bakanlığının Kanseri istatistikleri incelendiğinde akciğer kanserinin erkeklerde yaşa göre standardize edilmiş hızları 2012'de %60,4, 2013'de %59,3, 2014'de %52,5, 2015'de %52,5 ve 2016 da %57,7 ve akciğer kanserinin kadınlarda yaşa göre standardize edilmiş hızları; 2012'de %9,3, 2013'de %10,0, 2014'de %8,7, 2015'de %9,0 ve 2016 da %9,8'dir. Aynı zamanda ülkemizde kadınlarda yaşa bağlı kanser hızında akciğer kanseri en fazla 75-79 yaş aralığında görölürken, erkeklerde de bu yaş aralığı 85-89 olarak bildirilmektedir. Histolojik açıdan değerlendirildiğinde akciğer kanserinin en sık görölen tipi adenokarsinomdur. Bunu küçük hücre dışı akciğer kanseri (KHDAK), küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) takip etmektedir. (Freddie ve ark.2018)

1.3. Akciğer Kanseri Etiyolojisi

Sigara kullanımı akciğer kanseri açısından en büyük risk faktörü olup akciğer kanseri vakalarının %90'i ile ilişkilidir. Tütünün bağımlılık yapan bileşeni olan nikotin asetilkolin antagonistisi olarak hareket eder ve sinir sistemindeki asetilkolin reseptörlerine bağlanarak

nörotransmitter maddelerin kan dolaşımına salınımını tetikler. Böylece kendisi kanserojen olmasa da nikotinik reseptörlerin aktivitesini artırarak bağımlılığı artırır, aynı zamanda gen ekspresyonunda değişiklik meydana getirir (Yılmaz Demirci N., &Yurdakul AS., 2020)

Çevresel faktörlerde akciğer kanseri oluşumunu tetikler. Yer kabuğunda Uranyumun bozunması ile oluşan radon gazı tıpkı uranyum gibi radyoaktif bir maddedir. Radon gazı yer altı madenlerinde, yer altı çalışma sahalarında hatta zemine yakın eski binalarda normalden fazla bulunur. Özellikle KHAK'ini tetiklediği ispatlanmış olup T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Ulusal Kanser Kontrol Planı'na göre Radon gazı doğal kaynaklardan yayılan önemli bir kanserojen olduğu yer almaktadır.

Bazı enfeksiyon ve inflamasyonlar ile bazı genetik faktörler karsinogenezde rol oynayabilir. Tüberküloz günümüzde prevalansı oldukça azalmış olsa da geçmişte tüberküloz öyküsü olan bireylerin akciğer kanseri gelişimi 1.76 kat arttığı görülmektedir (Brenner, D. R., McLaughlin, J. R., & Hung, R. J. 2011). Enfeksiyonlar dışında bazı idiyopatik interstisyel pnömoniler akciğer kanseri oluşumu için risk faktörü oluşturabilir. İdiyopatik pulmoner fibrozis (IPF) etiyojisi tam olarak bilinmeyen kronik bir fibrozan akciğer hastalığı olup akciğer kanseri için risk faktörü oluşturmaktadır. Aynı zamanda amfizem hastalarında IPF varlığı akciğer kanseri gelişimine katkıda bulunan bir risk faktörüdür. IPF hastalarında; endoplazmik retikulum (ER) stresi oksidatif stres, büyüme faktörlerinin ekspresyonu, miyofibroblast aktivasyonu gibi birçok faktör akciğer kanseri riskini arttırmaktadır. Ayrıca birinci derece yakınlarda akciğer kanseri öyküsü olan bireylerin akciğer kanseri riski yüksektir. Genom çalışmalarında hücre bölünmesinde telomeraz ters transkriptazı (TERT) kodlayan 5p15 kromozom bölgesi akciğer kanserinde adenokarsinom gelişimi ile ilişkili olduğu bulunmuştur. 15q25-26 kromozom lokusundaki mutasyonlar nikotin bağımlılığını arttırdığı ve akciğer kanserine yatkınlığı arttırdığı gösterilmiştir (Landi ve ark. 2009)

Yaşlanma süreci ile birlikte DNA hasarı ve telomerlerin kısalması gibi biyolojik faktörler karsinogenez ile yakından ilişkilidir. Akciğer kanseri vakalarını yaşa göre incelendiğinde olguların %53'ü 55-74 yaş ve vakaların %37'si 75 yaş üzeri vakalarda görülür. Akciğer kanseri vakalarının %10'u 55 yaşın altında bulunur. Akciğer kanseri vakaları kadın ve erkeklerde görülme olasılığı ve en sık görüldüğü yaş farklıdır. Erkeklerde sigara içme oranı kadınlara göre daha yüksek olması akciğer kanseri insidansını erkeklerde kadınlara göre daha yüksek kılmaktadır. Erkeklerde akciğer kanserinin en yüksek insidansı

100.000’de 585,9 ile 85-89 yaş aralığında iken kadınlarda akciğer kanserinin en yüksek insidansı 100.000’de 365,8 ile 75-79 yaş aralığındadır. Aynı zamanda Epidermal Büyüme Faktörü (EGFR) mutasyon pozitifliği ile lepidik patern adenokarsinom insidansı yine kadın KHDAK vakaları erkek KHDAK vakalarından daha fazladır. (Freddy ve ark. 2018).

1.4.Akciğer Kanserinin Histolojisi

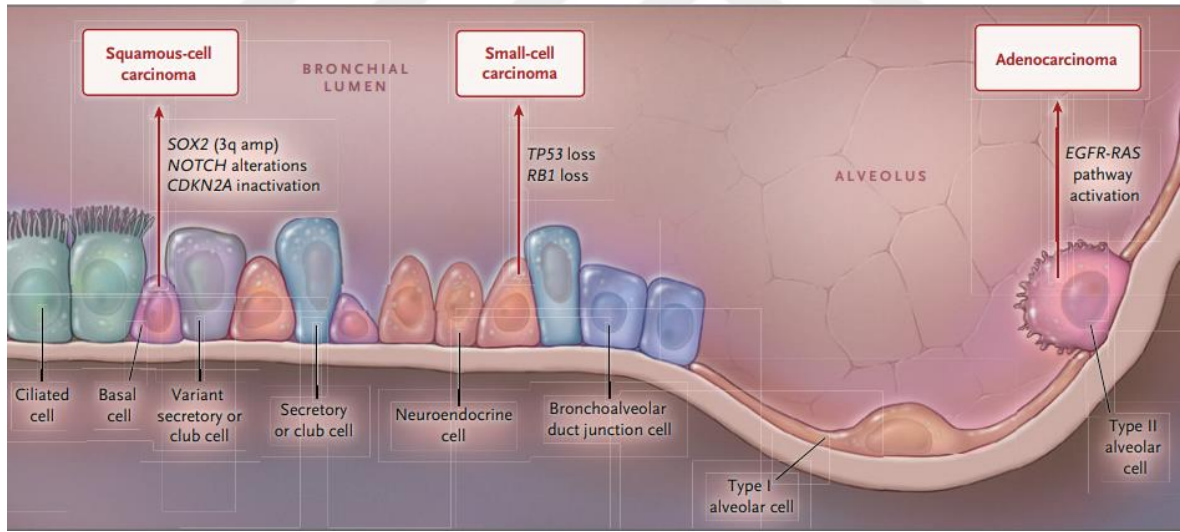
Akciğer kanseri histolojik sınıflandırılmasında genel olarak küçük hücreli, ve küçük hücre dışı olmak üzere iki ana başlık altında toplanır. Akciğer kanserinin bu iki ana grubuna bakıldığında oransal olarak küçük hücreli akciğer kanseri, akciğer kanserleri vakalarının %14’ünü oluştururken KHDAK akciğer kanseri vakalarının yaklaşık olarak %86’sını oluşturmaktadır (Rami-Porta, R., Crowley, J. J., & Goldstraw, P. 2009)

Tablo 1.1. Akciğer kanserinin histolojik sınıflandırılması.

Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri;
Adenokarsinom <ul style="list-style-type: none">• Adenokarsinom en sık görülen akciğer kanseri türüdür• Akciğerde sıklıkla periferik yerleşim gösterir
Skumöz Hücreli kanser <ul style="list-style-type: none">• İkinci en sık rastlanan türdür.• Akciğerde santral yerleşim gösterir ve sigara ile yakından ilişkilidir.
Büyük Hücreli Kanser <ul style="list-style-type: none">• Akciğer kanserleri içerisinde oldukça nadir gözükken bir tür kanserdir.• Genellikle periferik yerleşimlidir.
Küçük Hücreli Akciğer Kanseri <ul style="list-style-type: none">• Sigara ile yakın ilişkilidir.• En kötü prognoz gösteren akciğer kanseri türüdür.

Tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık yarısını adenokarsinomlar oluşturur. Adenokarsinomlar sigara kullanımı ile ilişkileri neredeyse yok denecek kadar azdır. Akciğerde yerleşimi genel olarak periferik ve subplevral alanlarda bulunur. Radyolojik olarak sınırlı bir yapı gösterir. Parankimde var olan skar dokusundan gelişebilir. Bu tip durumlarda skar karsinomu olarak adlandırılır. Akciğer adenokarsinomlarında lepidik baskınlık en iyi prognozu oluşturur. Adenokarsinomlar çoğunlukla sigara içmeyen kadınlarda görülmektedir. Sigara kullanımı ile yakından ilişkili olan skumöz hücreli

karsinomlar akciğerde genel olarak santral yerleşimli olarak bulunur. Bazen periferik yerleşim gösterebilir. Sıklıkla komşu yumuşak doku ve kemik invazyonu gösterir. Histolojik olarak incelendiğinde tümör tomurcuklanması ve küçük alanlarda öbekseller kötü prognoz ile ilişkilidir. En az rastlanan akciğer kanseri türü büyük hücreli karsinomlardır. Sigara kullanımı ile oldukça yakından ilişkilidir. Akciğerde anatomik yerleşimi periferik veya santral olabilirken çoğunlukla perifere yerleşir. Tümör hücreleri tabakalar şeklinde gelişir ve yuvarlak poligonal şekillidir (Ergelen, R., & Cagatay Çimşit, N. 2013). Küçük hücreli karsinomlar akciğer kanserinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Sağkalım oranı oldukça düşük olan bir kanser çeşididir. Hızlı gelişen ve çok erken evrelerde metastaz yapan bir kanser türüdür. Sigara kullanımı ile yakından ilişkilidir. Anatomik olarak lobe ve ana bronşlara yerleşmesi ile karakterizedir. Tümör hücreleri yuvarlak iğsi şekilli, ince granüler kromatine sahip hücrelerdir. Mitoz sayısı oldukça fazladır. Küçük hücreli karsinomlarda çoğunlukla nekroz görülür. Hastaların büyük bir çoğunluğu ileri evrelerde hastaneye başvurur. Tanısı için immunohistokimyasal analizler oldukça önemlidir. (Ergelen, R., & Cagatay Çimşit, N. 2013).



Şekil 1.1. Köken aldıkları hücelere göre akciğer kanserinin histolojik alt tipleri. (Swanton, C., & Govindan, R. 2016).

1.5. Akciğer Kanserinin Evrelendirmesi

IASLC 16 ülkeden 77.156 KHDAK ve KHAK verisini analiz ederek uluslararası standartlarda akciğer kanseri için güncel 8. TNM evrelendirmesini oluşturmuştur. Bu evrelendirme tümör (T) sınıflandırması, nodal (N) sınıflandırması ve metastatik (M) sınıflandırmasını içermektedir.

1.5.1. T Sınıflaması

T sınıflaması akciğer kanserinde uzun aksta primer tümör invazyon oluşumunun boyutunu, tümör boyutunu ayrıca satellit tümör varlığını içeren ve derecelendiren bir sınıflandırmadır. Buna göre Tx, T0, Tis, T1, T2, T3 ve T4 olacak şekilde ana gruplara ayrılır. Tx primer tümörün belirlenememesi ayrıca bronş veya balgam lavajında tümör saptanırken görüntüleme tekniklerinde ve bronkoskopide saptanamamasını ifade eder. T0 durumunda primer tümör belirtisi yoktur. Tis karsinoma in situ yu ifade eder. T1 En geniş çapı ≤ 3 cm, akciğer veya viseral plevra ile çevrili, bronkoskopik olarak lob bronşundan proksimale doğru yayılım göstermeyen tümörü ifade eder. T1 3cm'dn küçük olan tümör boyutlarına göre ≤ 1 ise T1a, primer tümör boyutu >1 cm fakat ≤ 2 cm ise T1b, tümör boyutu >2 fakat ≤ 3 ise T1c olarak ifade edilir. Tümör >3 cm fakat ≤ 5 cm ise ana karina invazyonu bulunmayıp viseral plevra invazyonu ile bir akciğerin tamamını veya bir kısmında tutulum gösteriyorsa T2 olarak ifade edilir. T2 sınıfı kendi içerisinde tümör boyutuna göre T2a ve T2b olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Tümör >5 cm fakat ≤ 7 cm ise göğüs duvarı, frenik sinir ve parietal perikard invazyonu varsa ve aynı zamanda primer tümör ile aynı lobda tümör nodülü bulunuyorsa T3 olarak ifade edilir. Tümör >7 cm veya kalp, mediasten, trakeada tutulum ve aynı akciğerde farklı lobda tümör nodülleri varsa T4 olarak ifade edilir (Rami-Porta R ve ark. 2015).

1.5.2. N Sınıflaması

Nodal sınıflama toraks hattında yerleşmiş olan lenf nodlarına metastatik tutulumu ifade eder. N0, N1, N2, N3 olmak üzere 4 ana gruba ayrılır. N0 bölgesel lenf nodu metastazı olmadığını ifade eder. N1 aynı taraftaki peribronşiyal veya hiler lenf bezlerine metastaz ve primer tümörün doğrudan yayılması ile intrapulmoner lenf bezlerinin tutulmasını ifade eder. N2 aynı taraf mediastinal veya subkarinal lenf bezlerine metastazı ifade eder. N3 ise karşı taraf mediastinal, hiler, aynı veya karşı taraf supraklavikuler veya skalen lenf bezi metastazı ifade eder (Asamura H. ve ark. 2015)

1.5.3.M Sınıflaması

Metastatik sınıflama toraks içi veya dışındaki metastaz varlığını tanımlar. Metastaz yok ise M0 olarak ifade edilir. M1 Metastaz varlığını ifade eder ve plevra veya perikard

yayılımı ile birlikte metastatik nodül varlığı M1a olarak sınıflandırılırken toraks dışındaki metastazın varlığı M1b olarak sınıflandırılmaktadır. (Eberhardt W. ve ark. 2015)

Tablo 1.2. TNM gruplarına göre kanser evrelendirilmesi

	N0	N1	N2	N3	M2a Her N	M1b Her N	M1c Her n
T1a	IA1	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T1b	IA2	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T1c	IA3	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T2a	IB	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T3	IIB	IIIA	IIIB	IIIC	IVA	IVA	IVB
T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC	IVA	IVA	IVB

1.6. Akciğer Kanseri Oluşumu ve Genetiği

Akciğer kanseri moleküler patogenezi oldukça karmaşık ve heterojen bir yapıda olup, tüm tümörler içerisinde genetik bozuklukların en fazla olduğu bir kanser türüdür. Akciğer kanserinin oluşum mekanizmasında onkogenlerin fonksiyon kazanması veya tümör baskılayıcı genlerin fonksiyonunun kaybı gibi birçok etki mekanizması vardır. Akciğer kanserinin biyolojik çeşitliliğinin varlığını kabul ederek, hastalığın tedavi ve prognozu için önemli olan histolojik ve moleküler yapısını bilmek akciğer kanserinin tedavisi ve prognozu için büyük önem teşkil eder (Vogelstein, B., Papadopoulos, N., Velculescu, V. E., & Zhou, S. 2013)

Epigenetik düzenlemenin bozulması başta kanser olmak üzere birçok hastalık sürecinin meydana gelmesine neden olmaktadır. Kanser epigenetik değişiklikler ile genetik değişikliklerin nesiller üzerinde birikimi ile oluşan bir hastalıktır. Kanser oluşumu birçok onkogenin aktivitesini kazanması veya tümör süpresör genlerin aktivitesini kaybetmesi ile karakterize bir hastalıktır. Kanserde epigenetik düzenlemenin erken evrelerde meydana gelmesi ile gen fonksiyonu ve dolayısı ile gen ifadesinde meydana gelen değişimler sonucunda maligniteler meydana gelir. Akciğer kanseri dâhil olmak üzere tüm kanserlerde meydana gelen epigenetik mekanizmalar; histon modifikasyonu, DNA metilasyonu ve kodlanmayan RNA'lardır. Akciğer adenokarsinomlarında kromozom modifiye edici genler olan SMARCA4, ARID1A ve SETD2 genlerinde mutasyonlar görülmektedir. Küçük hücreli

akciğer kanserinde CREBBP ve EP300'de histonların modifikasyonunda görevli olan histon asetil transferazın aktivitesini etkileyen mutasyonlar gözlenmektedir. Akciğer kanserinde Epigenetik değişikliklerin sonuçlarını tam olarak anlamak için ekzon ve transkriptom hakkındaki verileri içeren epigenetik değişikliklerin sonuçlarını içeren metilasyon analizleri oldukça önem taşımaktadır (Shi, L., Zheng, M., Hou, J., Zhu, B., & Wang, X. 2017)

Akciğer kanseri tütün kullanımına bağlı meydana gelen ve mutasyon yükü yüksek olan birkaç kanser türünden biridir. Tütün kullanımı olan bireylerde meydana gelen adenokarsinomlar da karakteristik olarak sitozin-adenin transversiyonları görülür. Histolojik alt tipine bakılmaksızın tütün içen bireylerde yapılan ekzon analizleri sonucunda megabaz başına yaklaşık 8-10 varyant görülür. Bu oran tütün mamulü kullanımı olmayan bireylerde oldukça düşüktür. Akciğer kanseri genetiğine bakıldığında birçok genin yeniden düzenlenmesini içerirken aynı zamanda somatik kopya sayısı değişikliklerini de içermektedir. Akciğer kanserli hastalardan alınan tümör örneklerinin kopya sayısı analizleri incelendiğinde hem kendine özgü değişiklikleri içeren hem de ortak değişiklikleri içeren birçok alt tipi tanımlanmıştır. Örneğin birden fazla tümör süpresör gen içeren 9. Kromozomun kısa kolu olan 9p'nin akciğer kanseri oluşumunun erken dönemlerinde delesyona uğrar, ve tüm akciğer kanseri alt tiplerinde görülür. Akciğer kanserinde 9p delesyonu dışında en fazla delesyona uğrayan lokus olan CDKN2A; p53 ve CDK4/6/pRB eksenini düzenleyen ARF ve p16 y1 kodlar. (Shi ve ark., 2017)

Son yıllarda gelişen Yeni Nesil Dizileme teknolojisi genomdaki tek bir nükleotitlik değişimlere kadar yüksek hassasiyette veri eldesi sağlaması akciğer kanseri gibi karmaşık genomik yapıdaki kanser türlerini anlamamıza ve tedavide yeni hedefler oluşturmamıza büyük katkı sağlar.

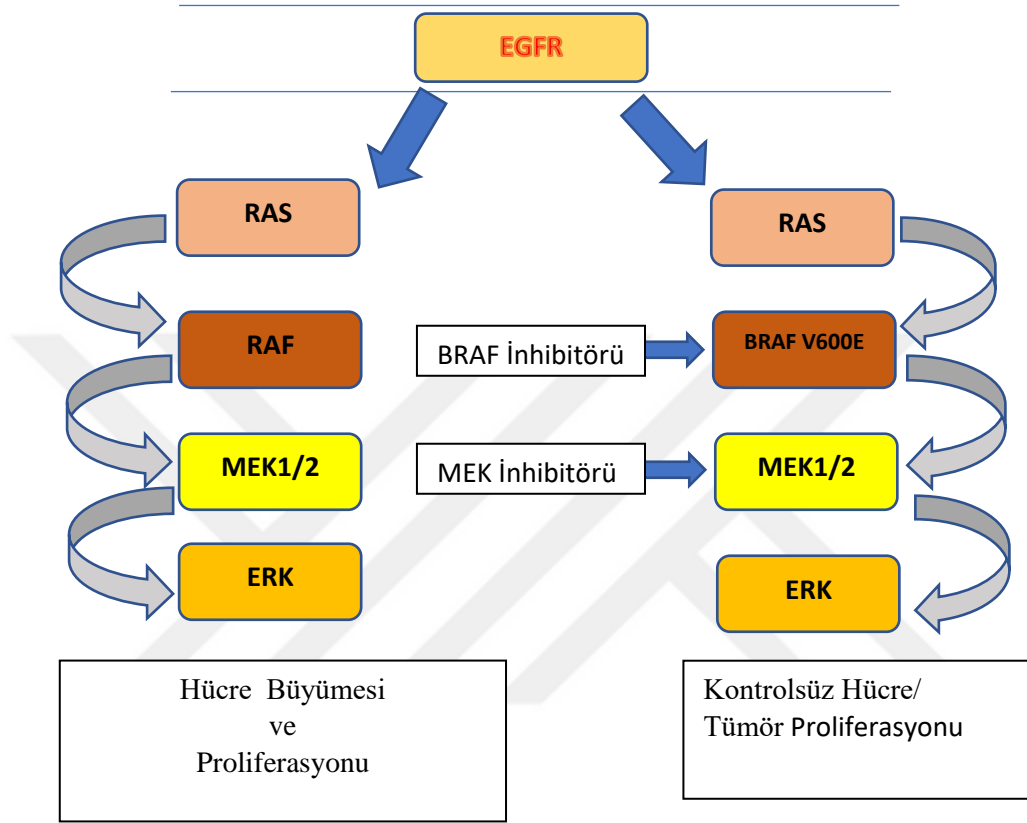
Akciğer kanserinde en yaygın mutasyona uğrayan onkogenler KRAS, EGFR, BRAF, PIK3CA ve MET'dir. Bu genlerden KRAS, EGFR ve BRAF kanser gelişiminde önemli bir reseptör serin/treonin kinaz sinyal yolağı olan MAPK'da görev alırlar. MAPK yolağı GTP-aktivasyonu temeline dayanır. MAP-Kinaz yolağı bir ligandın, örneğin Epidermal Büyüme Faktörü (EGFR)'ın reseptör tirozin kinaz ailesinden bir reseptörün ekstraselüler alanda bulunan kısmına bağlanması ile başlar. Ligand bağlanması, reseptör tirozin kinazın iki alt biriminin birleşerek dimerleşmesini sağlar. Reseptör tirozin kinazın hücre içindeki kısmında dimerleşme, reseptör kinaz enzimlerinin birbirlerini fosforlanmasını tetikler. Sonrasında

EGF bağlanmış reseptöre adaptör protein olan Grb2 fosforlanmış reseptör tirozin kinaza bağlanır. Grb2 proteinine başka bir adaptör protein olan SOS proteini bağlanır, böylece Grb2 zara bağlı bir protein olan RAS proteinine bağlanabilir hale gelir. RAS proteini inaktif halde GDP ye bağlı halde bulunur. SOS proteininin inaktif RAS-GDP'ye bağlanması ile RAS-GTP oluşması katalizlenir, böylece RAS aktif hale gelir. Aktif halde bulunan RAS birçok efektör proteine bağlanma özelliği gösterir. RAF proteinleri, RAS'ın aktifleştirdiği en önemli proteinlerden biridir. Birbirlerine yüksek afinite duyan bu iki protein protoonkogendir (Fang, J. Y., & Richardson, B. C. 2005).

Örneğin RAS tarafından aktifleştirilen BRAF, MEK1 ve MEK2 proteinlerini fosforilleyerek aktif hale getirir. Aktif hale gelen MEK1 ve MEK2, ERK1 ve ERK2 kinazları fosforilleyerek aktifleştirir. Bu aktivasyon transkripsiyon faktörü olan AP-1'in aktifleşmesini sağlar. AP-1 proteinleri aktivatör proteinlerdir ve en iyi bilinen AP-1 proteinleri JUN ve FOS isimli transkripsiyon faktörleridir. JUN ve FOS aktifleşerek çekirdeğe gider ve çekirdekte heterodimer oluşturur ve DNA'nın AP-1 kısmına bağlanır. Bu bağlanma siklinler ve sitokinler ile büyüme faktörü gibi birçok proteini kodlayan genlerin aktifleşmesini sağlar. Bu proteinlerin aktivasyonu ile hücre proliferasyonu aktive edilir (Guo, Y. J., 2020).

Normal bir süreçte RAS-BRAF kompleksinin aktivasyonu kısa süre içerisinde inaktive edilir. Ras-GTP, GTPaz'ı aktifleştiren protein GAP proteini tarafından inaktive edilir. GAP, RAS-GTP'ye bağlanarak RAS'taki GTPaz aktivitesini artırır. Böylece aktif RAS üzerinde bulunan GTP hidrolize edilerek GDP'ye dönüştürülür. Böylece RAS artık aktif değildir ve BRAF'a bağlı kalmaz. Bunun bir sonucu olarak MAPK sinyal yolağı inaktif hale geçer. RAS'ta meydana gelecek olan mutasyonlar hücre içinde önemli sonuçlara neden olmaktadır. Mutasyona uğrayan RAS tıpkı normal bir protein gibi aktive edilir. Aktif hale gelmiş olan mutant RAS-GTP, BRAF bağlanma özelliğini de sürdürür. Normal ve mutant RAS-GTP proteini arasındaki en önemli fark mutant RAS-GTP'nin GAP ile inaktivasyonunun sağlanamamasıdır. GAP mutant olan RAS-GTP'ye bağlanabilir fakat GTP'nin hidrolizi için gerekli olan alt domaini işlev göremez. Böylece RAS sürekli aktif kalır. İnaktive edilemeyen RAS ile bağlanmış olan BRAF'da aktif kalır. Aktif BRAF fazla sayıda MEK1 ve MEK2 yi fosforiller ve böylece aktive eder. Bunun bir sonucu olarak çok fazla sayıda ERK1 ve ERK2 fosforlanır ve aktive edilir. Aktif MEK1/2 JUN ve FOS'u aktive eder ve kinaz akışı inaktive edilemez hale gelir. Sürekli aktif halde kalan MAPK kaskadı,

hücre proliferasyonunu dinç tutar ve hücre bölünmesini sürekli aktif hale getirir. Bunun sonucunda kanserleşme meydana gelir. (Cheng, Y., Zhang, G., & Li, G. 2013)

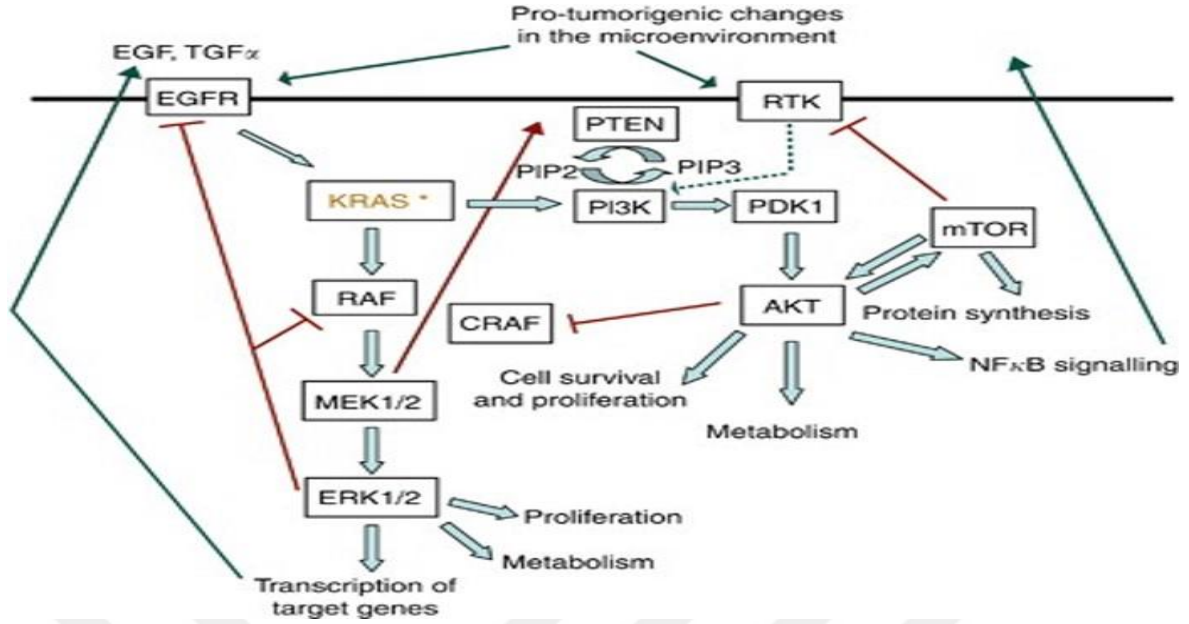


Şekil 1.2. MAPK yolağı.

MAPK da görev alan RAS gibi katalitik bir reseptörle uyarılan bir diğer serin/threonin kinaz sinyal yolağı PI3K/AKT sinyal yolağıdır. Bu yolda görev alan proteinler hücre proliferasyonu, hücre bölünmesi ve yaşamsal sinyallerin iletilmesinden sorumludur. Aynı zamanda bu yolak birçok inhibitör, aktivator, etkinleştirici ve ikincil mesajcı içerir. Yolağın aktivasyonu PI3K'nın aktivasyonu ile başlar. Bu aktivasyon üç farklı yol ile sağlanır. Bu üç yoldan ikisi reseptör tirozin kinaz ailesinden bir reseptöre hücre dışı büyüme faktörü olan EGF'nin bağlanması ile başlar. Ligandın bağlanması ile reseptör monomerlerinin dimerizasyonu gerçekleşir ve birbirlerinin fosforlanmasını tetikler. Bu fosforilasyon sonucunda reseptörün hangi reseptör olduğuna bağlı olarak adaptör proteinler farklı fosforlanmış kısımlara bağlanabilirler. IRS-1 aktif hale gelen IGF-1 reseptörüne bağlanır. Reseptöre bağlanan IRS-1, PI3K için bağlanma ve aktifleşme bölgesi olarak görev yapar. Buna ek olarak PI3K fosforillenmiş reseptör tirozin kinaza direkt olarak da

bağlanabilmektedir. PI3K'nın bu aktivasyonlardan tamamen farklı olan bir aktivasyonunda hücre membranına bağlı bir molekül olan RAS-GTPaz ile başlar. PI3K, aktif GTP'ye bağlı RAS'a bağlanarak aktive olur. PI3K aktive olduktan sonra hücrede ikincil bir mesajcı olan PIP3 oluşturulur. PIP3'ün oluşması bir serin/threonin kinaz olan AKT'yi aktive eder. Aktif PI3K hücre membranının iç kısmına doğru yönelir ve PIP2'ye bağlanır. PIP2 hücre zarında sürekli bulunan bir moleküldür ve hücre zarının lipit yüzeyine tutunmuş olarak bulunur. PI3K, PIP2'yi fosforilleyerek PIP3'e dönüşmesini sağlar. PIP3, protein kinaz B olarak adlandırılan kinaz AKT'nin aktive edilmesini sağlar. AKT bir protoonkoproteindir. En iyi bilinen etkisi programlanmış hücre ölümü ve apoptozun inhibisyonudur. AKT, BAX'a bağlanır ve onun mitokondri dış zarında boşluklar oluşturmasını engeller. Hücrede AKT yoksunluğunda mitokondri zarında boşluklar oluşur ve hücre apoptoza sürüklenir. AKT'nin diğer önemli görevi translasyonun aktive edilmesidir. Bu süreç birçok proteinin işlev gördüğü bir akışı içermektedir. Bu akış mTOR proteinini aktive eden Rheb'in aktivasyonu ile başlar. mTOR'da MAPK ve PI3K gibi bir serin/Threonin kinazdır ve bir transkripsiyon faktörü olan S6-K ile birleşir ve onu aktive eder. S6K ribozomun büyük alt birimine bağlanarak mRNA'nın proteine dönüştürülmesini aktive eder. Aynı zamanda AKT, FOXO'yu fosforilleyerek konsantrasyonunu azaltır. Fosforilenmiş FOXO, proteinleri üzerinde ubikuitin peptidleri bağlayan ubikuitin-ligaz enziminin bir substratıdır. Ubikuitinlenmiş FOXO proteozomlar tarafından parçalanırlar. Bu yolla AKT, tümör süpresör FOXO'nun proliferasyonu engellemesine karşı koyar. Bu yolak üzerinde bulunan PIK3CA geninde meydana gelen mutasyonlar meme, kolorektal kanserler ve akciğer kanseri ile ilişkilidir. PIK3CA geni 3q26.3 kromozom bölgesine lokalize bir protoonkogendir. PIK3CA geninde meydana gelen mutasyonlar PI3K yolağının aktivasyonunu etkileyerek anormal çalışmasına neden olur. PIK3CA geni PI3K/AKT/mTOR yolağında KRAS ile birlikte çalışan bir enzim olan p110 α katalitik alt birimini kodlar. PIK3CA geninde ekzon 9 ve ekzon20 bölgelerinde meydana gelen mutasyonlar pek çok kanser türünde tanımlanmıştır. Eş zamanlı meydana gelen KRAS ve PIK3CA mutasyonları hem hücresel sağ kalımı hem de proliferasyon için önemli olan sinyalleri düzenleyerek ve arttırarak tümör oluşumunu tetikler. Literatürde akciğer kanserinde PIK3CA mutasyonlarının prevalansı %4 olarak bildirilmektedir (Ersahin, T., Tuncbag, N., & Cetin-Atalay, R. (2015)).

v-RAF murin sarkom viral onkogen homolog B1 (BRAF) MAPK/ERK yolağını aktif eden bir serin treonin protein kinazdır. BRAF mutasyonları KHDAK'lerinin %6-8'inde görülmektedir. BRAF mutasyonları akciğer maligniteleri dışında melanoma, papiller tiroid



Sekil 1.3. MAPK/PI3K/AKT/mTOR Sinyal Yolağı, (Eser, S., Schnieke, A., Schneider, G., & Saur, D. 2014).

kanseri ve kolorektal kanserlerde de görölmektedir. Günümüzde yaklaşık 200 farklı BRAF varyantı ve birçok RAF geninin katıldığı translokasyon tanımlanmıştır. En sık görülen BRAF mutasyonu ekzon 15 de kodon 600'e denk gelen Valinin Glutamat ile yer değiştirmesi ile meydana gelen V600E mutasyonudur. V600E mutasyonu BRAF proteinine iki onkojenik özellik kazandırır. Birincisi BRAF'ın kinaz domainin aktivitesini artırır. İkincisi RAS'a aracılık ettiği aktivasyondan bağımsız olarak, RAS aktivitesinin düşük olduğu durumda monomer olarak aktif olmasını sağlar. Bunun sonucunda ERK'i sürekli aktive eden, RAS proteininin aktivasyonunu atlayan ve ERK yolağındaki negatif feedback mekanizmasını göz ardı eden yüksek aktivite gösteren bir protein oluşur. Akciğer kanserinde BRAF genindeki aktive edici mutasyonlar EGFR ve ALK yeniden düzenlenmelerinin dışında KHDAK'inde alternatif bir onkojenik sürücü olarak işlev görür. En sık görülen BRAF varyantı olan V600E mutasyonu akciğer adenokarsinomlarının %1-2'sinde görülür. Skuamöz hücreli akciğer kanserinde bu oran %3 olarak literatürde bildirilmiştir. BRAF V600E mutasyonu olan müsinoz olmayan KHDAK 'de mikropapiller büyüme paterni ve TFF-1'in güçlü bir ifadesi görülür. V600E dışı BRAF mutasyonlu KHDAK'inde müsinoz bileşenin bulunduğu morfolojiye sahip adenokarsinomlar oluşmaktadır (Thiel Alexandra ve ark. 2014) Histolojiden bağımsız olarak ekzon11 ve ekzon15 incelendiğinde akciğer kanserinde BRAF mutasyonları etnik köken ayırt etmeksizin akciğer adenokarsinomlarının %1-5.2'inde

görülmektedir. Adenokarsinomların yanı sıra büyük hücreli karsinomlarda önemli oranda BRAF mutasyonları tespit edilmiştir (Lonetti Alessandro ve ark. 2018). BRAF mutasyonları üç sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar ClassI, ClassII ve ClassIII mutasyon sınıflarıdır. Klinik öncesi çalışmalar ClassI ve II BRAF mutasyonlarının Ras'dan bağımsız bir şekilde sinyal verdiğini, oysa sınıfIII BRAF mutantlarının ERK'den gelen negatif feedback mekanizmasının üstesinden gelmek için RAS aktivasyonuna dayandığını ileri sürmektedir (Dagogo-Jack, I.ve ark. 2018)

Tablo 1.3. BRAF mutasyon sınıfları (Dagogo-Jack, I.ve ark. 2018)

Mutasyon Sınıfı	Mutasyon
ClassI	V600E
ClassII	K601E, L597V/Q/R, G469/S/R/E/A, G646V
ClassIII	G596R, D594Y/N/G/E, D287Y N581Y/S/I, G466V/L/A,

BRAF mutasyonları sigara ile ilişkili mutasyonlardır. BRAF mutasyonları kadın hastalarda daha sık görülse de V600E olmayan mutasyonlar erkek hastalarda daha fazla görülmektedir. BRAF'in akciğer kanseri prognozuna etkisi incelendiğinde V600E ve V600E dışı mutasyonların bulunması ilaca karşı direnç ve hastalığın kötü prognoza sahip olduğu literatürde bildirilmektedir. Ayrıca Ekzon15'de meydana gelen mutasyonların kötü prognoza neden olduğu ve sağkalımı akciğer kanserinin morfolojisine bakılmadan oldukça düşürdüğü literatürde bildirilmektedir (Thiel, A.ve ark. 2014)

Kristen rat sarkoma viral onkogen homologu olan KRAS, akciğer adenokarsinomlarında batı toplumlarında %20-25 oranında görülürken Asya'da bu oran %10-15'dir. Küresel olarak düşündüğümüzde KRAS akciğer kanseri alt türlerinden KHDAK'de en sık görülen moleküler anomalilerden biridir. KHDAK alt tiplerinden olan adenokarsinomada KRAS mutasyonları çok sık rastlanırken skuamöz hücreli karsinomada nadiren bulunur. Sigara kullanımı ile doğru orantılı olarak KRAS mutasyonları sıklıkla görülür. KRAS 12 kromozomun kısa kolu olan 12p12.1'de bulunur. KRAS geni 6 ekzondan oluşur ve kodladığı protein 189 aminoasit uzunluğunda 21kDA ağırlığındadır. KRAS hücrede işlev görmediği koşullarda KRAS-GDP halinde inaktif durumda bulunur. Hücre zarında bulunan reseptör tirozin kinaza EGFR gibi büyüme faktörleri bağlanması ile aktif olur. Aktif haldeki reseptör tirozin kinaza adaptör proteinler olan Grb2 ve SOS bağlanarak aktif hale gelirler. Bağlı olan aktif SOS proteini KRAS-GDP'yi KRAS-GTP ye çevirir ve

aktif hale getirir. Böylece KRAS hücre içerisindeki aktivasyonunu ve diğer yollar ile etkileşimini yapabilir hale gelir. Aktif hale gelmiş olan KRAS hücredeki efektör proteinler olan MEK'i fosforlayarak aktif hale getirir. Aktif hale gelen MEK, ERK'i aktive eder ve MAPK yolağı aktive olmuş olur. Ayrıca KRAS, RAS proteinleri aracılığı ile PI3K/AKT yolağını da aktive eder. Aktif hale gelen PI3K/AKT, PIP₂ ve PIP₃ oluşmasını sağlar. Böylece KRAS hücre döngüsü ve proliferasyonu ile hücrenin sağ kalımını düzenlerken aktifleştirdiği yollar ile hücre göçü, hücre iskelet proteinlerinin sentezi hücrel kalsiyum metabolizması gibi oldukça önemli hücrel süreçlerde görev alır. RAS genleri içerisinde KRAS en sık mutasyona uğrayan genidir. KHDAK'de KRAS geninin 2. Ekzonunda bulunan G12C mutasyonu en sık gözlenen mutasyondur. Diğer yaygın mutasyonlar KRAS-G12V ve KRAS-G12D mutasyonlarıdır. KRAS mutasyonları sigara içen ve içmeyen bireyler arasında farklılık göstermektedir. Transisyon mutasyonları hiç sigara içmeyenlerde görülürken transversiyon mutasyonları daha önce sigara içmiş veya halen sigara kullanımı olan bireylerde daha yaygındır. KRAS mutasyonu taşıyan akciğer kanserleri özellikle ileri evrelerde sağ kalımı düşük ve hastalık prognozu kötü olarak değerlendirilmektedir. KRAS aktivitesinin doğrudan veya dolaylı olarak bloke edilmesinin zor olması ve aynı zamanda akciğer kanserinde sık mutasyona uğraması onu terapötik bir hedef haline getirmiştir. (Ferrer, I. ve ark. 2018)

Küçük G proteinleri ailesi olan RAS ailesinin bir diğer üyesi NRAS, tıpkı KRAS'da olduğu gibi RAS aktivasyonu ile hücrede fonksiyonunu yürüten bir genidir. NRAS hücre dışı büyüme faktörlerinden (EGFR) aldığı sinyalleri hücre içine otofosforilasyon ile iletir. NRAS hedeflenmesi zor bir proteindir. Bu nedenle NRAS aktivasyonunu durdurmak oldukça zordur. Yapılan çalışmalarda posttranslasyonel modifikasyonlarını değiştirerek hücre zarına yerleşimini durdurmak üzerine olsa da başarılı olmadığı literatürde belirtilmiştir. NRAS mutasyonları genin ürettiği proteinin G12, G13 ile Q61 aminoasitlerinde olmaktadır. NRAS mutasyonları diğer Ras proteini aktivatör geni olan BRAF ile birlikte görülmektedir. Akciğer kanserinde NRAS prevalansı %1 in altındadır (Turaçlı, İ. D. 2017).

1.7. Akciğer Kanserinde Moleküler Tanı Yöntemleri

Genetik bozuklukların karmaşık ve fazla olduğu akciğer kanserinde optimal tedavi için doğru ve ayrıntılı genotiplendirme yapmak şarttır. Akciğer adenokarsinomlarında görülen EGFR ve BRAF mutasyonu, ALK ve ROS1 yeniden düzenlenmeleri gibi genetik

varyasyonlara karşı hedefe yönelik tedavilerin keşfi ile moleküler tanı yöntemleri oldukça önem kazanmıştır. Akciğer kanserinin moleküler patogenezinin tanımlanmasında kullanılan temel yöntem FISH ve PCR teknolojisi iken günümüzde Yeni Nesil Dizileme Teknolojisinin kullanıldığı Likit biyopsi ile oldukça detaylı analizler yapılabilmektedir.

Akciğer kanserinde ALK ve ROS1 yeniden düzenlenmeleri yaygın olarak Floresan İn Situ Hibridizasyonu (FISH) metodu ile incelenir. Bu metotta tümör dokularından alınan 2,5-5µ kalınlığında parafinize edilmiş doku kesitleri kullanılır. FISH tekniğinde tek zincirli DNA parçası olan prob ile genomdaki uygun olan lokusun hedef DNA veya RNA dizisinin hibridizasyonu gerçekleşmektedir. Dokudan incelenmesi istenen kesit yüzeyine göre alınmış olan kesit, lam üzerine sabitlenir ve prob dokuya eklenir ve denatürasyon ile hibridizasyon işlemlerine tabi tutulur. FISH tekniğinin kolay uygulanabilir ve maliyetinin uygun olması nedeniyle avantajlı olmasına karşın çalışma sonucunda uygun olmayan fiksasyon ve doğru kesit yüzeyinin incelenmemesi hibridizasyon ve denaturasyon sıcaklıklarının uygun ayarlanmaması ile yetersiz hücre sayısı nedeniyle invalid sonuç oranı oldukça yüksektir (Börekçi, G. 2010). Akciğer kanserinin moleküler tanısında PCR testi oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. PCR testi ile EGFR, KRAS, NRAS, PIK3CA gibi akciğer kanserinde yaygın olarak gözükten gen mutasyonlarına bakılmaktadır. PCR testi öncesinde tümör dokusundan DNA izolasyonu yapılır. Günümüzde kullanılan PCR testleri ticari hazır kitler ile yapılmaktadır. Test kitleri içerisinde primer dizi, revers dizi, probe ve PCR'ın gerçekleşmesi için gerekli olan dNTP'ler tuz ve PCR için gerekli olan enzim diğer maddeleri içeren bir karışım içerir. İzole edilen DNA belirli oranda mix içerisine koyulur ve PCR işlemine tabi tutulur. PCR döngüsü sırasında mutasyona özgü proba özgü DNA bölgesi varsa o bölge çoğalacaktır ve sonuç olarak bilgisayar ortamında yapılan analizinde sigmoidal bir eğri saptanacaktır. Cerrahi işlem ile tümör dokusunun alınmasının zor veya imkânsız olduğu hastalarda PCR testi ile mutasyon analizinin yapılamaması ve aynı zamanda doğru doku kesit yüzeyinden DNA izolasyonunun yapılmaması, DNA saflığındaki problemler, PCR işlemine alınan DNA miktarı ile kullanılan mutasyon kitinin uygun olmayan optimizasyonu PCR testinin dezavantajlarını oluşturmaktadır. Uygun maliyetli olması ve hızlı sonuç alınması PCR testini avantajlı sağlamaktadır.

Tümör dokusuna ait DNA'nın invaziv olmayan yöntemler ile vücut sıvılarından elde edilip analizine dayanan yöntemlere likit biyopsi denir. Likit biyopside en sık kullanılan materyal kandır. Kandaki ctDNA ve CTC'lerin izolasyonu ile elde edilen DNA fragmanları

analiz edilerek hematolojik kanserler başta olmak üzere akciğer meme ve pankreas gibi solid tümörlerinde erken tanısı ve bireysel tedavi yaklaşımlarının oluşturulması açısından büyük önem taşımaktadır. Günümüzde invaziv girişimlerin yapılamayacağı durumlarda ve tümör hakkında daha detaylı bilgilere ulaşmak amacıyla kanda dolaşan hücre dışı DNA'lar (hdDNA) kullanılmaktadır. hdDNA'lara ait ilk çalışmalar 1948 yıllarına dayanmaktadır. Mendel ve Maties ilk hdDNA'yı kan plazmasından izole etmiş ve tanımlamıştır. hdDNA'lar genel olarak endojen kökenlidir. Bu nedenle lipid ve protein içeren komplekslerle de bir arada bulunabilirler. Kanda hdDNA'ların keşfi ile birlikte prenatal tanı, serbest dolaşan tümör DNA'sının (ctDNA) analizi gibi birçok klinik araştırmalarda önemli yol katedilmiştir. cfDNA'nın yapısı ve büyüklüğü hücrelerdeki hdDNA salınım mekanizmasına bağlı olarak değişmek ile birlikte yaklaşık 70-200bp uzunluğundaki DNA fragmanlarıdır. 150bp veya daha büyük DNA fragmanları apoptoz, 10bp'dan daha büyük olan fragmanlar ise nekroz olayları sonucunda kana salınan hdDNA'lar olduğu düşünülmektedir. (Koçana, C. Ç., Toprak, S. F., Hekimoğlu, H., & Tokdemir, S. S. 2019)

hdDNA'nın sadece kanda dolaşıp metabolik yıkıma uğradıktan sonra uzaklaştırılmamaktadır. Bu moleküllerin çeşitli hücrelerel sinyal aracı olarak hareket ettiği bilinmektedir. hdDNA molekülü konakçı genomuna yerleşebilir ve sonuç olarak immünmodulasyona ve metastaz gelişimine neden olabilir. Aynı zamanda hedef hücreye taşınan hdDNA genoma entegrasyonu sonucunda malignite için gerekli olan genetik kararsızlığı da meydana getirebilir. Genomik kararsızlık kanserleşme sürecinin önemli bir basamağıdır. Genomik kararsızlık kanserde yüksek mutasyon bulunduğu anlamına gelir. Genomik kararsızlık ve metastaz arasındaki ilişki incelendiğinde sitozole geçen DNA öncelikle kendine mikro çekirdek oluşturur ilerleyen süreçte oluşan bu mikro çekirdekten kurtulan DNA bağışıklık sisteminin yolağını kullanarak uzak dokulara göç eder. Bu durum kanserleşme sürecinde oluşan ctDNA'nın hem miktarının hem de metastazını açıklamamızı sağlar. (Koçana, C. Ç. ve ark. 2019)

ctDNA'nın izolasyonunu sağlamak zorlu bir süreçtir. Kanda bulunan beyaz kan hücrelerinin var olan DNA'sı, vücutta bulunan normal hücrelerin apoptoza veya nekroza uğraması ile meydana gelen hdDNA'ların varlığı kanda az miktarda bulunan ctDNA'nın miktarını dahada azaltmaktadır. Bu nedenle hdDNA izolasyonu yapılacak olan kanın lize uğramaması ve kontaminasyondan korunması gerekmektedir (Koçana, C. Ç. ve ark. 2019)

Kişiselleştirilmiş tıbbın gelişmesi ile birlikte akciğer kanserinin teşhis ve tedavi edilme biçiminde devrim yaratan bir değişim gerçekleşmiştir. Yeni Nesil Dizileme Teknolojisinin (YND) gelişmesi ile birlikte yüzbinlerce hatta milyonlarca diziden oluşan yüksek miktarlarda verinin ileri analizleri yapılabilmektedir. YND teknolojisi özellikle farklı hastalar için farklı gen hedeflerinin tek bir çalışmada analiz edilmesini sağlar. YND teknolojisi ile tüm genom ve tüm ekzom analizleri yapılabilmekte ve bu sayede akciğer gibi karmaşık, heterojenik yapıya sahip kanser türleri için birçok geni aynı anda dizilemeyi mümkün kılmaktadır. YND metodu, hdDNA izolasyonunun sağlanmasından sonra dört adımdan meydana gelir. İlk adım DNA kitaplığının oluşturulması; İkinci adım fragmentlerin amplifikasyonu; Üçüncü adım paralel sekanslama ve dördüncü adım sekanslama sonucunda oluşan datanın analizinden meydana gelmektedir. Akciğer kanseri için YND tabanlı araştırmalarda kullanılan gen panelleri EGFR, BRAF, ERBB2(HER2), KRAS, NRAS ve PIK3CA genlerini içermektedir. YND teknolojisi ile milyonlarca DNA fragmanlarının dizilenmesi ve herhangi bir işleme ihtiyaç olmadan analiz edilmesi bu teknolojinin en büyük avantajı iken, bazı DNA fragmanlarında Guanin/sitozin içeriğinin fazla olması nedeniyle tekrar bölgelerinde oluşabilecek hatalar ile sekanslanan fragmanların genoma doğru bir şekilde yerleştirilmesi için gerekli olan algoritmalarda oluşabilecek hatalar başlıca dezavantajdır (Koçana, C. Ç. ve ark. 2019).

1.8. Akciğer Kanserinde Tedavi

Akciğer kanseri kompleks histolojik ve genetik yapısı nedeniyle cerrahi yöntemler dışında birçok tedavi yöntemini içerir. Adjuvan ve neoadjuvan tedaviler, kemoterapi ve immünoterapi ile radyoterapi temel tedavi skalasını oluştururken akciğer kanserinin karmaşık mutasyon yapısı nedeniyle ortalama sağ kalımı (OS) arttırmak için günümüzde var olan mutasyon tipine göre hedefe yönelik tedaviler oldukça önem kazanmıştır (Köksoy EB, & Demirkazık A. 2020)

Akciğer kanseri hastalarında uzak organ tutulumu olmayan hastalar evre I ve II olan hastalardır ve bu hastalarda ilk tedavi yaklaşımı cerrahidir. Rezeksiyon sonrasında mediastinal ve uzak dokularda nüks akciğer kanserinde sık rastlanan bir durumdur. Akciğer kanserinde nüks riskini azaltmak amacıyla kullanılan başlıca tedavi adjuvan ve neoadjuvan tedavilerdir. Adjuvan tedaviler üzerine yapılan randomize çalışmalar ve meta analizler doğrultusunda hastanın hangi kanser evresinde olduğu, hastanın cerrahi statüsü gibi etmenler

adjuvan tedavilerde alınacak sonuç üzerine etkisinin oldukça fazla olduğunu göstermektedir (Steward LA. Ve ark. 1995). Yapılan çalışmalarda platin bazlı adjuvan kemoterapi alan hastalarda tek başına cerrahiye göre ölüm riskinde azalma görülürken, tek başına alkilleyici bazlı kemoterapi alan hastalarda ölüm riskinin arttığı görülmüştür. Beş çalışmanın kişisel verilerinin birleştirildiği başka bir analizde ise adjuvan kemoterapinin 5 yıllık ölüm riskinde kemoterapi almayan hasta gruplarına göre %5,4 azalttığı gösterilmiştir. Sonuç olarak adjuvan tedaviler koruyucu tedavilerdir, uygun tümör evresi ve uygun kemoterapi kombinasyonları ile uygulandığında sağ kalıma etkisinin olduğu literatürdeki çalışmalarda gösterilmiştir (Pignon, J. P. ve ark. 2008)

Platin bazlı kemoterapilerin keşfi ile birlikte standart kemoterapi tedavilerine oranla %22 oranında yıllık ölüm riskinde azalmalar görülmektedir. Dolayısı ile akciğer kanserin de platin bazlı kemoterapi tedavisi birinci basamak tedavi haline gelmiştir (Pujol Jean Luis, Barlesi Fabrice, Daures P. Jean 2005). Platin bazlı kemoterapi keşfi sonrasında artan OS'yi daha da arttırmak için araştırmalar bu tedaviye ek olarak ikili tedavilere yönelmiştir. Pemetrekset-sisplatin ve gemitabin-sisplatin ikili tedavisinin çift kol olarak yürütüldüğü çalışmalarda her iki kolda da OS'nin KHDAK'de 10,3 ay olarak belirlenmiştir. Pemetrekset-sisplatin ve gemitabin-sisplatin'in adenokarsinom üzerinde yapılan araştırmada Pemetrekset-sisplatin 12,6 ay, gemitabin-sisplatin'in OS üzerinde etkisinin 10,8 ay olarak etkiği gösterilmektedir (Scagliotti GV. ve ark. 2008). Non-squamöz KHDAK hastalarında düşük dozda uygulanan bevasizumabın paklitaksel-karboplatine eklenmesinin OS üzerinde katkısı olduğu literatürde belirtilmektedir (Sandler, A. ve ark. 2006)

İmmünoterapi akciğer kanserinde diğer bir tedavi yaklaşımını oluşturmaktadır. Bireyin kendi bağışıklık sisteminin kullanılarak kanser ile mücadelenin sağlanması temeline dayanan tedavi yaklaşımıdır. Günümüzde kanser tedavisi cerrahi yöntemlerden uzaklaşma eğilimindedir. Cerrahi yöntem dışında yaygın kullanılan radyoterapi ile tümör dokusu yok edilse de az miktarda da olsa kanserli hücrelerin kalması ile metastaza bağlı hastalık tekrarları önemli sorun teşkil eder. Bu gibi durumlar araştırma ve çalışmaları immünoterapi gibi kişinin kendi bağışıklık hücrelerinin hedeflendiği bireye özgü tümöre spesifik tedavi yaklaşımlarına yönelmektedir. Bu tedavi yönteminde hastaya dışarıdan verilen maddelerle kişinin makrofajları, dendritik hücreleri, doğal öldürücü hücreler, T ve B lenfositler aktifleştirilerek kişinin kendi hücreleri ile tümöre karşı cevap geliştirilir. Bu durum kemoterapi ajanlarının aksine doğrudan kanserli hücreye yönlendirilen bir tedavi

yöntemidir. Yapılan araştırmalar immün sistemenin kanseri önlediğinin yanı sıra kanser oluşumunda tetiklediğini göstermektedir. Dolayısı ile immunoterapilerin hedefi hem tümör oluşumunu engellemek hem de neoplazi oluşumunu engellemekdir. Kanser immünoterapisinde en çok kullanılan yöntem monoklonal antikordur. Bu antikordur hücre zarına bulunan reseptörlere tutunarak aktive olurlar. Önemli monoklonal antikordur olan CD20 apoptozu indükler aynı zamanda EGFR bağlayan antikordur ise EGFR bağlanmasını bloke eder hücre farklılaşması gibi sinyal yollarını durdurur. Bevacizumab akciğer kanserinde kullanılan hedef antijeni vasküler endotelial büyüme faktörü olan antikordur tipi Humanize IgG1 olan bir monoklonal antikordur. Aynı zamanda küçük hücreli ve küçük hücre dışı akciğer kanserinde hedef antijeni sitotoksik T lenfosit Antijen-4 olan İpilimumab diğer bir kullanılan monoklonal antikordur. Adaptif immünoterapi bir diğer immünoterapi metodudur. Bu metod da aktif hücreler hastalık tedavisinde kullanılır. Bu amaçla en sık kullanılan bağışıklık hücreleri T lenfositlerdir. Bu yöntemle birçok başarılı sonuçlar elde edilse de toksisite nedeni ile kısıtlı kullanılmaktadır. (Barbaros, M. B., & Dikmen, M. 2015).

Hastadan alınan dendritik hücreler, tümör hücreleri ve antijenlerle muamele edilerek hastaya aşılanması son yıllarda üzerinde durulan bir diğer immünoterapidir. Bu yöntemin amacı dendritik hücrelerle ve tümör antijenlerinin etkileşimi ile sitotoksik T lenfositlerinin oluşumunu sağlamaktır. İmmünoterapi aşılamada diğer bir etkin yöntem cDNA içeren bir plazmit vektörün hastaya aşılanarak hücrelerin bu plazmit DNA'yı eksprese etmesi ile T hücre yanıtının oluşmasını sağlamaktır. Deneysel ortamda başarılar elde edilse de klinikte henüz kullanılmamaktadır. (Barbaros, M. B., & Dikmen, M. 2015)

İnterferonlar, interleokinler ve GM-CSF gibi sitokinler immün sistemi harekete geçirmeleri ve kan hücrelerinin üretimi ve aktiviteleri üzerine etkileri nedeniyle immünoterapilerde kullanılan bağışıklık sistemi komponentleridir. Fakat sitokinlerin kullanımı hastalar üzerinde pek çok yan etki göstermektedir(Barbaros, M. B., & Dikmen, M. 2015).

Tümöröenezisi tetikleyen yolların net olarak tanımlanması, bu yolları spesifik olarak hedef alan moleküllerin geliştirilmesini beraberinde getirmiştir. Bu durum akciğer kanseri tedavisinde yenilikçi bir yaklaşımla beraber çığır açmıştır. Başta EGFR olmak üzere birçok hedef molekül için tedaviler geliştirilmiştir. EGFR KHDAK için önemli bir prognostik faktör olmakla birlikte aynı zamanda prediktiftir. Akciğer kanserinde EGFR

mutasyonlarından aktive edici mutasyonlar olan ekzon 19 insersiyonları ile ekzon 21, ekzon 18 ve ekzon 20 deki nokta mutasyonları EGFR trozin kinaz inhibitörleri (EGFR-TKİ) olan erlotinib, gefitinib, afatinib, osimertinib ve dacomitinib'e karşı duyarlıdır fakat ekzon 20 T790M nokta mutasyonu EGFR-TKİ'ne duyarsızdır (Zhang, T. ve ark. 2019). EGFR T790M nokta mutasyonu trozin kinaz inhibitörleri ile tedavi sürecinde kazanılmış bir direnç olarak karşımıza çıkan bir mutasyondur. Hastaların %60'ında EGFR-TKİ tedavisi devamında T790M mutasyonu gelişir. Osimertinib aktive edici mutasyonların yanında T790M mutasyonunda inhibe eden bir EGFR-TKİ'dir (Riely, G. J., & Helena, A. Y. 2015). Aktive edici mutasyona sahip akciğer kanseri hastalarına EGFR-TKİ ile uygulanan hedefe yönelik tedaviler ile ortalama sağ kalım 24 ay olarak bildirilmektedir. Hedefe yönelik tedavilerde EGFR-TKİ'lerin başlıca yan etkileri cilt toksisitesidir. Aynı zamanda gastrointestinal toksisitede görülmektedir. Diğer yan etkiler içerisinde göz ve hepatik toksisitede bildirilmektedir.(Jackman, D. M. ve ark. 2009)

Akciğer kanserinde aktive edici mutasyonların dışında sürücü mutasyonların keşfi ile bu mutasyonları meydana getiren moleküllerin inhibisyonuna dayalı tedavi stratejileri geliştirilmiştir. Bu ilaçlar evre IV akciğer kanserli hastalarda kullanılan platin bazlı kemoterapi tedavisine ek olarak kullanılmaktadır. Böylece hastaların ortalama sağ kalım süresi uzamaktadır. BRAF V600E mutasyonu için rafenib-trametinib kombinasyonları çeşitli çalışmalarda kullanılmış ve sağ kalıma pozitif yönde etki ettiği gösterilmiştir (Leonetti, A.ve ark. 2017). Fakat BRAF V600E dışı BRAF mutasyona sahip akciğer kanserli hastalarda prognoz kötüleşmektedir. Bu mutasyonlar için daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır. (Arıkan R., & Yamuk PF., 2020)

Son yıllarda gelişen hedefe yönelik tedaviler akciğer kanseri için tedavi standartlarına köklü bir değişim getirmiştir. Cerrahiye yönelik tedavilerden veya standart kemoterapi tedavilerinin dışında akciğer kanserinin moleküler zeminini anlamamız ve onu yorumlamamız ile hedefe yönelik tedaviler gelişmiş ve kombine tedaviler ile hastaların ortalama sağ kalımları üzerine etkileri pozitif yönde olmuştur. Sonuç olarak akciğer kanserinin moleküler yapısını bilmek ve çözümlenmek bizleri hedefe yönelik tedavilere yöneltmiştir ve gelecek yıllarda da yeni ajanların, yeni tedavi kombinasyonlarının keşfi ile daha da gelişmesi beklenmektedir.

2. AMAÇ

Akciğer kanserinde cerrahi tedavi yöntemleri ve geleneksel kemoterapik yöntemlerin yeterli olmadığı durumlarda hedefe yönelik tedavi ajanları kullanılmaktadır. EGFR gibi büyüme faktörleri ile aktive olan MAPK ve PI3K gibi sinyal yolları ve bu yollarda bulunan RAS genleri ve diğer genlerin kanser oluşumuna yol açtığı bilinmektedir. RAS ve PI3K genlerinde meydana gelen mutasyonlar EGFR gibi büyüme faktörlerini hedef alan tedavilere yanıt vermemektedir. RAS sinyal yolağı ile aktive olan KRAS akciğer kanserinde görülme sıklığı %10-25 arasındadır ve en sık görülen mutasyondur. Diğer bir RAS geni olan NRAS akciğer kanserinde görülme sıklığı en az olan gen olup prevalansı %1 civarındadır. BRAF MAPK/ERK yolağını aktif eden bir serin treonin protein kinazdır. BRAF mutasyonları KHDAK'lerinin %6-8'inde görülmektedir. Hem hücrel sağkalım hem de proliferasyon için önemli olan PIK3CA geninin akciğer kanserinde görülme sıklığı %4'dür. Gerek RAS gerekse PI3K sinyal yolağında rol alan bu genler hastalığın prognozu ile hedefe yönelik tedavilerin planlanması açısından oldukça önem taşımaktadır. Çalışmamızda hastanemize başvuran akciğer kanseri tanısı almış hastaların likit biyopsi materyalinden YND tekniğı ile KRAS, NRAS, BRAF ve PIK3CA genlerinin mutasyon sıklığını ve taşıdığı mutasyon ile tedavinin seyri ve hastalığın prognozu arasındaki ilişkisini saptamak amaçlanmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda Kocaeli Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalına 2018-2020 yılları arasında başvuran 363 Akciğer kanserli hastanın likit biyopsi yöntemi ile elde edilen hDNA örneklerine ait yeni nesil dizileme metodu ile analizi yapılmış hastaların raporlarının retrospektif olarak incelenmesi ile varyant analizi yapılmıştır.

3.1.Araştırmanın Tipi

Bu çalışma 2018-2020 yılları arasında Likit biyopsi yöntemi ile KRAS, NRAS, BRAF ve PIK3CA gen varyasyonlarının taraması yapılmış hastaların genetik analiz sonuçlarını ve hasta klinik bilgilerinin retrospektif taraması sonucu yapılmıştır.

3.2.Araştırmanın Yeri

Bu çalışma Kocaeli Üniversitesi Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı'nda akciğer kanseri ön tanılı hastaların genetik analiz sonuçları ile yapılmıştır.

3.3.Araştırmanın Özellikleri

Çalışmamız Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı'nda akciğer kanseri tanılı hastaların genetik test yaptırmak amacıyla başvurmuş hastaların test sonuçları değerlendirilerek yapılmıştır.

Çalışmaya 363 akciğer kanseri tanılı hasta dahil edilmiş olup, KRAS, NRAS, BRAF ve PIK3CA genlerine ait varyasyon içeren 117 pozitif hasta yer almaktadır.

3.4.Kontrol Grubu

Çalışmamızda likit biyopsi yöntemi ile analizi yapılmış fakat taranan genlere ait varyasyon içermeyen hastalardan 50'si kontrol grubu olarak yer almaktadır.

3.5.Araştırmanın Bağımlı ve Bağımsız Değişkenleri

Çalışmamızdaki bağımsız değişken akciğer kanseri ön tanısı ile başvurmuş ve likit biyopsi tekniği ile KRAS, NRAS, BRAF ve PIK3CA genlerine ait varyasyon taraması yapılmış hasta varlığıdır.

Bunun dışında çalışmada yer alan bütün değişkenler bağımlı ve varyasyonların çeşitliliğine göre farklılık göstermektedir.

3.6. Araştırma Yöntemleri

3.6.1. Likit Biyopsiden Yeni Nesil Dizileme Yöntemi

Hastalardan alınan periferik kan örnekleri ticari hdDNA kiti olan MagMAX Cell Free DNA isolation Kit (Applied Biosystems) ile hdDNA izolasyonu yapılmıştır.

Taraması yapılacak gen bölgelerine ait cfDNA kopya sayılarının zenginleştirilmesi için Oncomine Lung cfDNA Assay (Thermo Fisher Scientific) hedef zenginleştirme kiti kullanılmıştır.

Sekans verisi Human Genome Build 19 ile eşleştirilmiştir. Akciğer kanseri hotspot bölgeleri olarak KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA, EGFR, ALK, ROS1, TP53 MAP2K1, MET taranmıştır. Varyant analizleri Torrent Suite Software, Ion Reporter ve Oncomine Knowledgebase Reporter programları kullanılarak yapılmıştır. Standardize LOD Limiti (Limit od detetion) minimum 0,05 kabul edilmiş bu değer üzerindeki frekansta olan varyantlar pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.7.Kullanılan Araç Ve Gereçler

Likid biyopsi yöntemi için Ion One Touch ES, Ion One Touch 2 ve Ion S5 Semiconductor Sequencer cihazları kullanılmıştır.

3.8.Etik Kurul Onayı

Bu Çalışma Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 17.03.2021 tarih ve E-80418770-020-37814 sayılı izni ile yapılmıştır.

3.9.Verı Analizi

Elde edilen tüm veriler Excell 365 for Microsoft® programına kaydedilmiş ve istatistik analizleri için IBM® SPSS® (Statistical Package for Social Sciences) Statistics 22 programı kullanılmıştır.



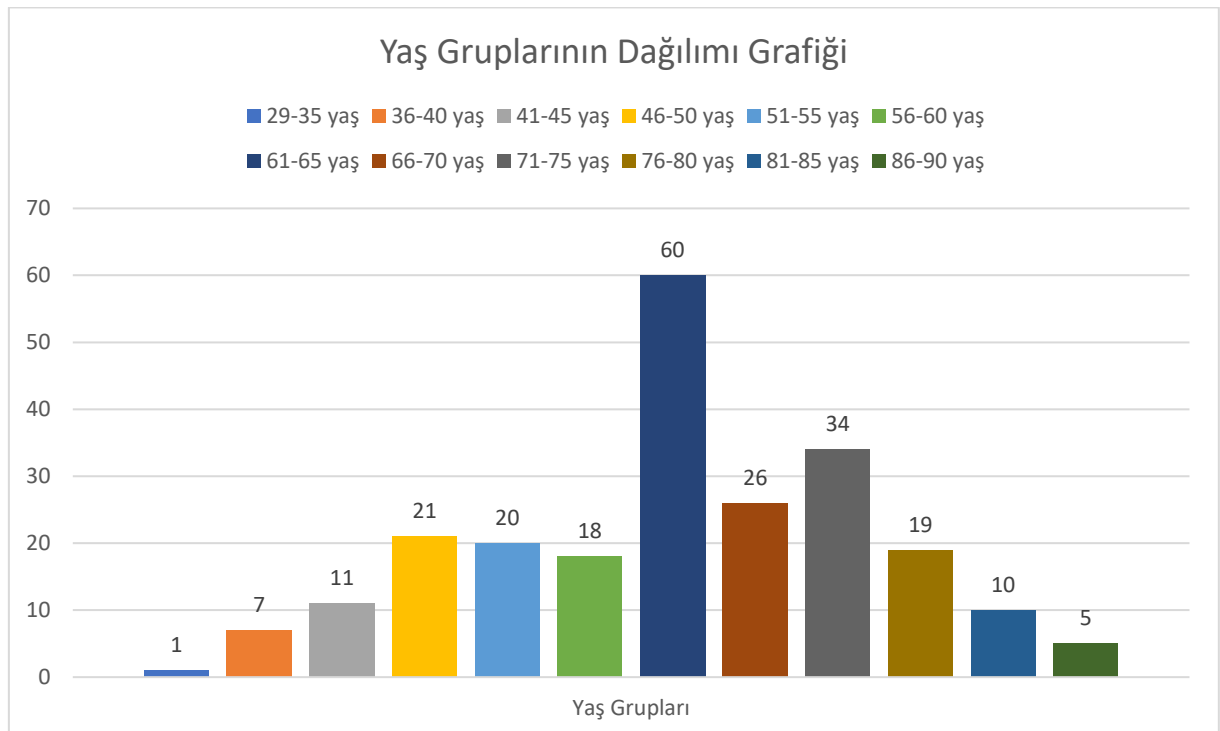
4.BULGULAR

Hasta popülasyonumuz “Akciğer kanseri” tanısı almış 363 hastadan meydana gelmektedir. Hasta grubumuzun 248’si erkek hastalardan (%68,32), 115’ü kadın hastalardan (%31,68) meydana gelmektedir.

Tablo 4.1. Hasta bilgileri ve varyant yüzdeleri

	Hasta Sayısı(N)	Yüzde Oranı (%)
Varyantı Olan Hastalar	117	32
Erkek	89	76
Kadın	28	24
Varyantı Olmayan Hastalar	246	68
Kadın	87	35
Erkek	159	65

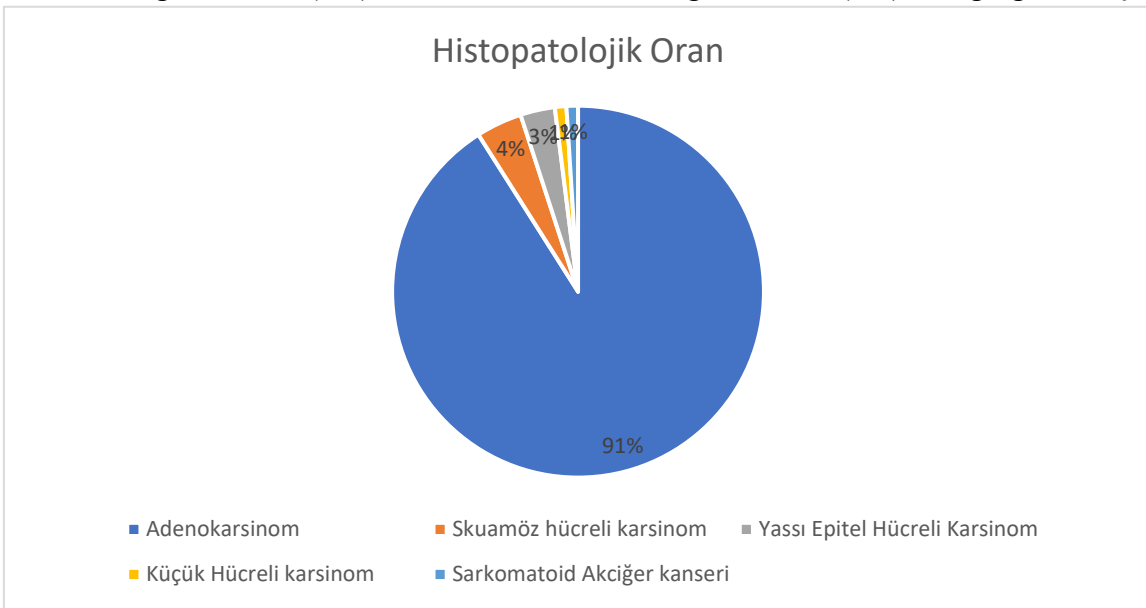
Hasta grubumuzdaki erkeklerin ortalama yaşı 63,4 iken kadınların ortalama yaşı 63,2’dir. Hasta grubumuzda en erken akciğer kanseri tanı yaşı 29 iken en geç tanı yaşı 87’dir. Tüm hastalardaki ilk tanı yaş ortalaması 58 olarak saptanmıştır. (n=231) Yaş gruplarına göre dağılım aşağıdaki şekil 2 ‘de verilmiştir



Şekil 4. 1. Akciğer kanserinin yaş gruplarına göre dağılımı

Hasta gurubumuzun ilk anamnez ve şikâyetleri incelendiğinde hastaların %23'ünün öksürük şikâyeti ile hastaneye başvurduğu saptanmıştır. En sık görülen semptomlar arasında nefes darlığı, sırt ağrısı bulunmaktayken, bu belirtilere ek olarak kanlı balgam, halsizlik ve yüksek ateş semptomları da eşlik etmektedir. Hastaların %4,7'sine genel tarama esnasında akciğerde kitle saptanması ile tanı konulmuştur.

Histopatolojik verilerine ulaştığımız 117 hastanın, 106'sında adenokarsinom (%90), 5 hasta skuamöz hücreli karsinom (%4), 3'ü yassı epitel hücreli karsinom (%3), 2'si küçük hücreli akciğer kanseri (%1) ve 1'i sarkomatoid akciğer kanseri (%1) olduğu görülmüştür.



Şekil 4. 2. Akciğer kanserinde histopatolojik oran

TNM evrelendirmesi kullanılarak evrelendirmesi yapılan 187 hastanın %85,6'sına IV.evre tanısı konulurken %13,4'üne III. evre %0,5'ine IIIB ve IA tanısı konulmuştur.

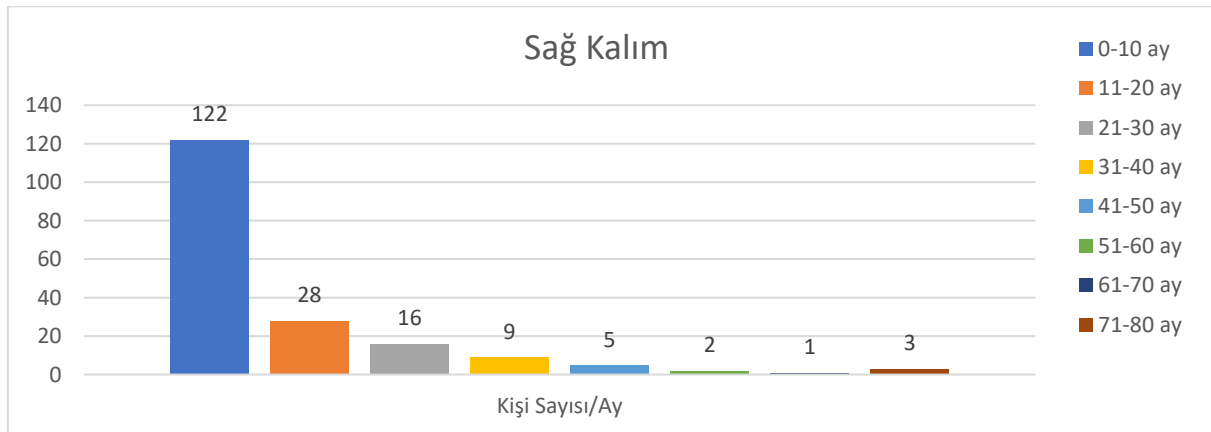
Hasta grubumuzda sigara kullanımı incelendiğinde hastalarımızın %67,7'si sigara kullanmaktadır (n=158). Hastalarımızın %41,6'sı alkol kullanmaktadır.

Klinik verilerini incelediğimiz 189 hastada 17 farklı metastaz bölgesi tanımlanmıştır. İncelenen hastaların 55'inde (%29) metastazın birden fazla dokuya yayıldığı görülmüştür. İncelenen hastalardaki metastaz dağılımları Tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 4. 2. Metastaz verileri

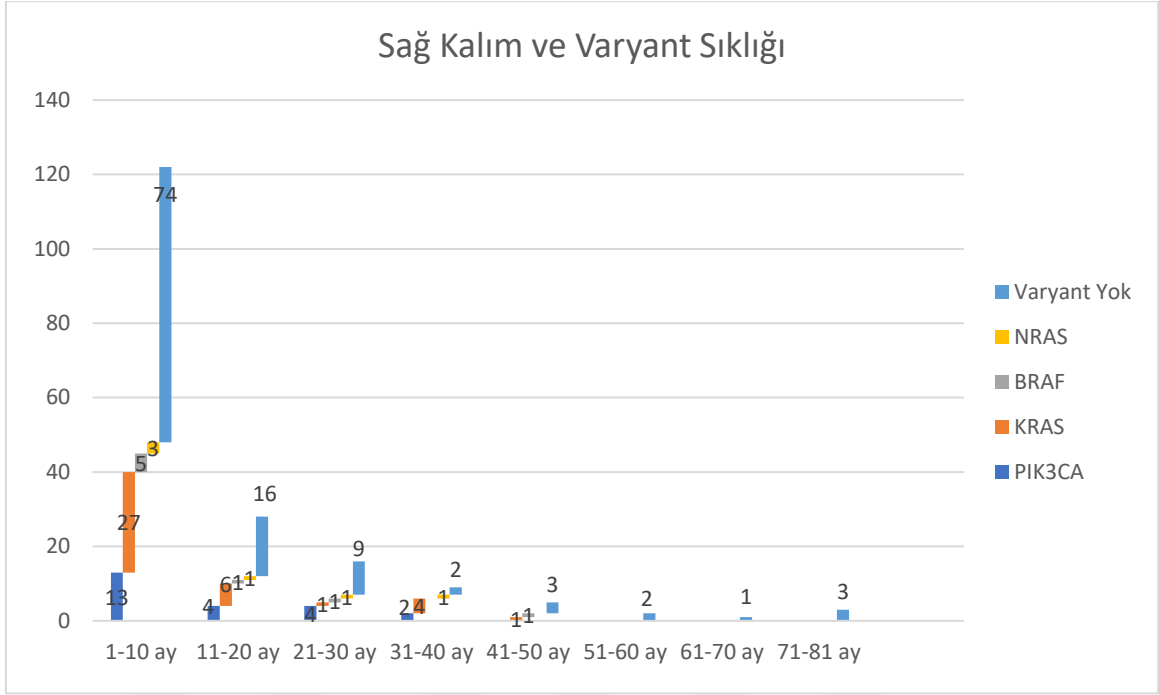
Metastaz Bölgesi	Hasta Sayısı	Yüzde Dağılımı
Kemik	80	30,1
Beyin	41	15,4
Lenf	36	13,5
Karaciğer	21	7,9
Karşı Ciğer	13	4,9
Sürrenal	9	3,4
Böbrek	6	2,3
Tiroid	5	1,9
Mediasten	4	1,5
Boyun	4	1,5
Plevra	3	1,1
Mesane	3	1,1
Diyafram	2	0,8
Meme	1	0,4
Periton	1	0,4
Pankreas	1	0,4
Kolon	1	0,4
Bölge Belirtilmeyen	18	6,8
Metataz		
Metastaz Yok	17	6,4

Hasta grubumuzda tüm varyasyon tipleri ve metastazları ayırt edilmeksizin incelendiğinde akciğer kanserinde ortalama sağ kalım 11,5 ay olarak saptanmıştır. Hasta grubumuza ait sağ kalım grafiği şekil 4.'de verilmiştir.



Şekil 4. 3. Sağ kalım verileri

YND ile taranan 363 hastada PIK3CA, KRAS, BRAF ve NRAS genlerine ait varyasyonlar taranmış ve 117 hastada varyasyon tespit edilmiştir. Tespit edilen varyasyonların cinsiyete ve sağ kalımlarına ilişkin veriler şekil 5.'de verilmiştir.



Şekil 4. 4. Varyant verileri ile Sağ kalım arasındaki ilişki

Hasta grubumuzda 1-10 ay sağ kalımı olan 122 hastanın 13'ünde PIK3CA, 27'sinde KRAS, 5'inde BRAF ve 3'ünde NRAS genlerine ait varyasyon tespit edilirken 74 hastada taranan genlere ait varyasyon tespit edilmemiştir. 11-21 ay arası sağ kalımı olan 28 hastanın 4'ünde PIK3CA, 6'sında KRAS, 1'inde BRAF ve 1'inde NRAS genlerine ait varyasyon tespit edilirken 16 hastada taranan genlere ait varyasyon tespit edilmemiştir. 21-30 ay sağ kalımı olan 16 hastanın 4'ünde PIK3CA, 1'nde KRAS, 1'inde BRAF ve 1'inde NRAS genlerine ait varyasyon tespit edilirken 9 hastada taranan genlere ait varyasyon tespit edilmemiştir. 31-40 ay sağ kalımı olan 9 hastanın 2'sinde PIK3CA, 4'ünde KRAS ve 1'inde NRAS genlerine ait varyasyon tespit edilirken 2 hastada taranan genlere ait varyasyon saptanmamıştır. 41-50 ay sağ kalımı olan 5 hastanın 1'inde KRAS ve 1'inde BRAF genlerine ait varyasyon saptanırken 3 hastada taranan genlere ait varyasyon saptanmamıştır. 51-60 ay, 61-70 ay ve 71-80 ay sağ kalımı olan 6 hastada PIK3CA, KRAS, BRAF ve NRAS genlerine ait bir varyasyon saptanmamıştır.

Tablo 4. 3. Likit biyopsi yöntemi ile taranan PIK3CA, KRAS, BRAF ve NRAS genlerine ait varyasyon dağılımı ve sağ kalımı.

Taranan Genler	Cinsiyet		Sağ Kalım			
	Kadın	Erkek	Ortalama Sağ kalım/Ay (Ex)		Sağ	
			Kadın	Erkek	Kadın	Erkek
PIK3CA	16	35	16,9	11,5	3	5
KRAS	17	57	16,5	9,3	2	5
BRAF	6	18	5	11,8	1	0
NRAS	4	8	44	14,3	1	1

Çalışmamızda PIK3CA gen varyasyonuna sahip 51 hasta tespit edilmiştir. Bu hastaların 16'sı kadın 35'i erkek hastalardan meydana gelmektedir. PIK3CA genine ait varyant içeren hastaların ortalama sağ kalımı ortalama 14 ay olduğu saptanmıştır. KRAS genine ait varyasyona sahip 74 hasta tespit edilmiştir. Bu hastaların 17'si kadın 57'si erkektir. KRAS genine ait varyasyon içeren hastalarda ortalama sağ kalım ortalama 11 ay olarak tespit edilmiştir. BRAF genine ait varyasyon içeren 24 hasta tespit edilmiştir. Hastaların 6'sı kadın 18'i erkektir. BRAF genine ait varyasyon içeren hastalarda sağ kalım ortalama 11,2 ay olarak tespit edilmiştir. NRAS genine ait varyasyon içeren 12 hasta tespit edilmiştir. Hastaların 4'ü kadın, 8'i erkektir. NRAS genine ait varyasyon içeren hastalarda sağ kalım ortalama 22 ay olarak tespit edilmiştir

Tablo 4. 4. Saptanan PIK3CA, KRAS, BRAF ve NRAS varyantlarının klinik dağılımı.

	Olası Patojen	Patojen	Hasta Sayısı	
			Erkek	Kadın
PIK3CA				
p.Glu545Lys		+	16	6
p.Glu542Ter	+		1	1
p.His1047Arg		+	10	2
p.Glu542Lys		+	10	10
p.Glu545Ala		+	-	1
KRAS				
p.Gln61Arg	+		5	1
p.Gly12Arg		+	7	1
p.Gly12Ala		+	2	-
p.Gly13Ser		+	3	2
p.Gln61His		+	1	2
p.Gly12Cys		+	23	1
p.Gly12Asp		+	11	1
p.Gly12Ser		+	2	3
p.Gly13Cys		+	4	4
p.Gly12Val		+	6	1

BRAF				
p.Val600Ala	+		7	3
p.Tyr472Cys	+		3	2
p.Gly469Glu		+	3	-
p.Gly469Val		+	9	1
p.Gly469Ter		+	2	-
NRAS				
p.Ala59Thr	+		-	1
p.Gln61Arg		+	3	2
p.Gln61Lys		+	3	1
p.Gly13Arg	+		1	-
p.Gly13Cys	+		2	-
p.Gly13Ala	+		1	-

Yaptığımız çalışmada PIK3CA, KRAS, BRAF ve NRAS genlerine ait 26 farklı gen bölgesi incelenmiştir. İncelenen gen bölgelerinden 8 tanesi olası patojen, 18 tanesi patojen gen varyasyonu olarak belirlenmiştir. Varyant tespit edilen 117 hastada toplam 181 varyant tespit edilmiş olup, bu varyantların 135'i erkek hastalarda tespit edilirken 46'sı kadın hastalarda tespit edilmiştir.

Varyasyon tespit edilen hastalardan 84'ünde (%72) sadece bir gene ait varyanta, 22'sinde (%19) iki ayrı gene ait varyanta, 11'inde (%9) üç ayrı gene ait varyant tespit edilmiştir. Tekli varyanta sahip hastaların %53'ü KRAS, %33'ü PIK3CA, %8'i BRAF ve %6'sı NRAS genine ait varyasyona sahiptir.

İki ayrı gene ait varyasyon içeren 22 hastadan 12'si (%54) PIK3CA-KRAS gen varyantlarına, 7'si (%31) KRAS-BRAF gen varyantlarına ve 2'si (%9) PIK3CA-NRAS gen varyantlarına sahip olduğu gözlemlenmiştir. Üç ayrı gen varyasyonu içeren hastaların 6'sında (%54) PIK3CA-KRAS-BRAF, 3'ünde (%28) KRAS-BRAF-NRAS, 2'sinde (%18) PIK3CA-KRAS-NRAS varyasyonları gözlenmiştir.

Hasta popülasyonumuz da hedefe yönelik tedavi alan hastalarımızın oranı %17 (60 kişi) olarak saptanmıştır (n=353). Hedefe yönelik tedavi alan hastalarımızın sağ kalımı 14 ay olarak saptanmıştır. Bu hastalardan %15'i PIK3CA varyantlarına sahip olup akıllı ilaç tedavisi uygulanmış hastaların sağ kalım oranı 6 ay olarak saptanmıştır. KRAS varyantlarına sahip akıllı ilaç tedavisi sonucunda ortalama sağ kalımı 3,5 ay olarak saptanmış olup akıllı ilaç tedavisi alan hastaların %8'inde KRAS mutasyonu bulunmaktadır. Akıllı ilaç tedavisi alan hastalarımızın %5'inde BRAF genine ait varyant saptanmış olup sağ kalım ortalaması

5 aydır. NRAS genine ait varyant pGln61Arg varyantını içeren hastaların erlotinib tedavisi sonucunda sağ kalımları 65 aya kadar uzadığı görülmüştür (n=3).



5.TARTIŞMA

Türkiye’de erkeklerde en sık görülen kanser çeşidi olan akciğer kanseri kadınlarda en sık görülen beşinci kanser türü olup, her iki cinsiyet için en fazla ölüme neden olan kanser türüdür. Hasta grubumuz istatistiki verilere uygun olarak 248 Erkek, 115 Kadın hastalardan meydana gelmektedir. Yaşa göre standardize edilmiş kanser istatistikleri incelendiğinde akciğer kanseri hastalarının büyük bir çoğunluğunu 50 yaş ve üzeri bireyler oluşturmaktadır (T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser İstatistikleri, 2016). Hasta grubumuz bu veriler ile uyumlu olup hastalarımızın %92’si 50 yaş ve üzeri hastalardan meydana gelmektedir.

Tüm akciğer kanseri hastalarının beş yıllık sağ kalım verileri incelendiğinde hastaların %16’sı beş yıllık sağ kalım gösterirken ortalama sağ kalım 12,5 ay olarak izlenmektedir (Günbatar, H., Sertoğullarından, B., Özbay, B., Sünnetçioğlu, A., & Ekin, S. 2012). Hasta grubumuzdaki genel sağ kalım 11,5 ay olup literatür ile uyumludur. Sağ kalımın bu denli düşük olmasında en önemli sebepleri arasında, akciğer kanserinin yapısı gereği cerrahi yöntemlerin oldukça az uygulanabilir olması, moleküler patogenizinin oldukça çeşitli ve karmaşık olması, ile çok fazla metastaz yapma eğiliminde olması gösterilebilir.

Akciğerin fizyolojisi gereği uzak bölgelere metastazın görülme sıklığı oldukça yüksek bir kanser türüdür. Hasta grubumuzda en sık görülen metastaz bölgeleri kemik beyin ve lenf dokularıdır. Bu dokulara metastazın sık olması hastalığın prognozu açısından oldukça önem taşımaktadır.

Hastaların yaklaşık %60’ı metastaz yaptığı evre IV’de tanı almaktadır. Akciğer kanserinde evre I ve II’de tanı alan hasta sayısı oldukça az olup bu evrelerde tanı alan hastaların oranı %15 civarındadır. Çalışmamızdaki hastaların evrelendirmesi incelendiğinde hastaların %85,6’sı IV. evre %13,9’u I, II ve III. evre olup verilerimiz bu anlamda literatür ile uyumludur.

Akciğer kanseri en fazla histopatolojik alt grubu içeren kanser türlerinden biri olup histopatolojisinin moleküler alt yapısı ve türünün bilinmesi prognoz açısından oldukça önemlidir. Adenokarsinomlar tüm akciğer kanserlerinin %50'sini oluşturmaktadır. Akciğer kanserinin %15'ini Küçük hücreli karsinomlar oluşturmaktadır (Travis, W. D., Brambilla, E., Burke, A. P., Marx, A., & Nicholson, A. G. 2015) Hasta grubumuzun histopatolojik verileri incelendiğinde %91'i akciğer adenokarsinomu olup literatür ile uyumludur. Günümüzde akciğer kanserinin histolojik alt tiplerinin belirlenmesi, genotiplendirilmesi ile hastalığın evrelendirilmesinin yapıldığı ve bireye özgü tedavilerin oluşturulduğu bireysel onkolojik temelli yaklaşımlar doğru tedavi stratejilerinin oluşturulması için oldukça önem taşıdığı bildirilmektedir.(Gandara, D. R.2009)

BRAF varyasyonları MAPK2 ve MAPK3'ü aktive ederek tümör oluşumunu indükler. BRAF varyantları malign melanomlarda sık görülse de akciğer adenokarsinomlarının %1-3'ünde görülmektedir. Aynı zamanda BRAF mutasyonları sigara içen bireylerde oldukça sık görülmektedir (Millington, G. W. M. (2013). Hasta popülasyonumuzun %7'sinde BRAF varyantı görülmektedir. BRAF varyantlarından en yaygın görüleni V600E varyantı olup BRAF varyantı görülen hastalarımızın %41'inde saptanmıştır. BRAF varyantına sahip olan hastalarımızın tedavi süreçleri incelendiğinde gerek geleneksel kemoterapi ve radyoterapi alan gerekse hedefe yönelik tedavi uygulanan hastalarımızda sağ kalım üzerine etkiyen anlamlı bir ilaç etkileşimi saptanamamıştır. Ancak BRAF varyantı taşıyan hastalarımızın ortalama sağ kalım oranı 8,4 ay olup genel sağ kalıma bakıldığında daha düşük olduğu tespit edilmiştir. BRAF p.Val600Aa varyantı taşıyan küçük hücre dışı akciğer kanseri hastaları üzerinde yapılan çalışmaya göre (n=122) hastaların %42'sinde Vemurafenibe karşı yanıt verdiği gözlenmiştir (Hyman, D. M. ve ark. 2015). Varyant taşıyan hastalarımızın %8,5'inde p.Val600Aa varyantı tespit edilmiştir (n=117). BRAF mutasyonlarının tümör oluşumunu tetiklemesi nedeni ile hedefe yönelik tedavilerin araştırılması ve yeni tedavi seçeneklerinin keşfedilmesi hastaların sağ kalımı üzerinde etkisinin azımsanamayacak kadar fazla olacağını düşünmekteyiz.

KRAS, ras onkogen ailesine ait bir onkogendir. Akciğerde minör glandüler bileşen gösteren adenokarsinomların yaklaşık %20 ile %25'inde, squamöz hücreli karsinomların %10'undan azında görülmektedir. Küçük hücre dışı akciğer kanserinde en sık kodon 12 ve 13 varyasyonları görülürken kodon 61'deki mutasyonlarda nadiren de olsa görülmektedir. KRAS mutasyonları EGFR, BRAF, HER2 varyasyonlarını ve ALK, ROS yeniden

düzenlenmeleri olmak üzere onkojenik birçok driver mutasyonu dışlamakta oldukça önemlidir. KRAS mutasyonlarının prognostik ve prediktif rolü günümüzde araştırılmaya devam etmektedir. KRAS varyasyonlarının inhibisyonu için çeşitli ajanların denemesi yapılsa da özgül bir tedavi henüz bulunamamıştır. KRAS varyantı taşıyan hastalarda klinik ve laboratuvar bulguları ile kolerasyon önerilir (Rothschild S.I. 2015). KRAS p.Gly12Ala varyantı EGFR T790M gibi akciğer adenokarsinomlarında tirozin kinaz inhibitörlerine karşı kazanılmış direnci harekete geçirdiği düşünülmektedir (Marchetti A. ve ark. 2009). Hasta grubumuzun %1.7'sinin p.Gly12Ala varyantına sahip olduğu görülmüştür. Likit biyopsi analizi ile varyasyon analizi yapılmış ve varyant tespit edilmiş hastalarımızın %63'ünde KRAS genine ait varyasyon tespit edilmiştir. EGFR varyantı taşıyıp tedaviye direnç gösteren hastalarda mutlaka KRAS varyasyonlarının taranmasının hayati öneme sahip olduğunu düşünmekteyiz.

PIK3CA varyasyonları akciğer kanseri hastalarının yaklaşık %4'ünde görülmektedir. (Aredo, J. V ve ark. 2019). PIK3CA geni hücre proliferasyonu için oldukça önemli bir yolak olan PI3K/AKT yolağını kodlar. Hasta grubumuzda PIK3CA genine ait varyasyon saptanan hastalarımızın oranı %14'tür. Tirozin kinaz inhibisyonuna dirençli EGFR varyasyonu taşıyan, Afatinib, Gefitinib ve Erlotinib tedavisine direnç gösteren 41 hastanın yeni nesil dizileme teknolojisi ile varyans analizi yapılmış ve analiz sonucunda PIK3CA p.Glu545Lys varyantı tespit edilmiş olup bu varyantın tedavide direnç oluşturduğu düşünülmektedir (Belchis, D. A., ve ark. 2016). Hasta grubumuzda 12 hastada p.Glu545Lys varyantına EGFR varyantı eşlik ettiği görülmüş hastaların ortalama sağ kalımları incelendiğinde 13 ay olarak saptanmış olup ortalama sağ kalımın üzerindedir. Hastalardan Erlotinib kullananlarda belirgin bir direnç oluştuğu gözlenmemiştir. Diğer bir çalışma PI103'ün anti tümör etkilerini test etmek için p.Glu545Lys varyantı taşıyan gefitinib dirençli küçük hücre dışı akciğer kanseri hücre kültürü üzerinde yapılan çalışmalarda tedavi uygulanmayan hücre hattında AKT yolağının yüksek fosforilasyonu görülürken PI103 tedavisi, PIK3CA p.Glu545Lys içeren wild tip hücre hattında daha fazla hücre yaşlanması olduğu tespit edilmiştir (Quanzou-Zu, 2009). Hasta grubumuzda varyanta sahip hastalarımızın %19 (n=117)'u p.Glu545Lys varyantına sahiptir.

PIK3CA genine ait pHis1047Arg varyantı içeren fare tip II alveolar hücrelerinde yapılan çalışmada doksisiklin varlığında kanser hücrelerinde gerileme tespit edilmiş aynı çalışmada Pon-P110 izoformu ve mTOR inhibitörü olan BEZ325'in fare tip II alveolar epitel

hücrelerine uygulanması sonucu tümör-fosfo-AKT ve fosfo-S6 düzeylerinin azalmasına bağlı olarak tümör hacminde önemli bir gerilemeye neden olduğu tespit edilmiştir. (Engelman, J. A. ve ark. 2008). Hasta grubumuzda pHis1047Arg varyantına sahip hastalarımızın oranı %10 (n=117) olarak saptanmıştır.

Vienna Ludvoni ve ark. 116 akciğer kanseri hastası üzerinde yaptığı çalışmaya göre PIK3CA ve KRAS varyantları içeren hasta grupları kötü prognoz ve daha kısa sağ kalım ile ilişkili olduklarını öngörmektedir (Ludovini V. ve ark. 2011). Bizim çalışmamızda PIK3CA genine ait varyasyonları içeren hastalarımızın ortalama sağ kalımı 14,2 ay, KRAS genine ait varyasyonları içeren hastalarımızın ortalama sağ kalımı 12,9 ay olduğu tespit edilmiştir.

Küçük G proteinleri ailesi olan Ras ailesinin bir diğer üyesi NRAS, tıpkı KRAS'da olduğu gibi Ras aktivasyonu ile hücrede fonksiyonunu yürüten bir genidir. NRAS hücre dışı büyüme faktörlerinden (EGFR) aldığı sinyalleri hücre içine otofosforilasyon ile iletir. Akciğer kanseri hastalarında NRAS varyasyonu saptanan hastaların oranı %1'in altındadır (Çalışkan, M., Bozkurt, G., Meydan, N., Meteoglu, İ., & Günel, N. S. 2018). Hastalarımızın %3'ünde NRAS genine ait varyasyon saptanmıştır. NRAS genine ait varyasyon içeren hastaların ortalama sağ kalımı kadınlarda 44 ay erkeklerde 14 ay olarak tespit edilmiş olup ortalama sağ kalım 29 ay olarak saptanmıştır. Hasta grubu incelendiğinde hastalarda pGln61Arg varyantı tespit edilmiş olup erlotinib tedavisi almış oldukları tespit edilmiş ve sağ kalıma etkisinin önemli ölçüde olduğu tespit edilmiştir. Kadoaki ve ark. Yaptığı çalışmada (n=4562) hastaların %0,7'sinde NRAS varyasyonu tespit edilirken bu hastalardan p.Gln61Cys varyantı taşıyan hastalarda MEK inhibitörleri, selumetinib ve trametinib'e karşı duyarlılığı tespit edilmiştir (Ohashi, K ve ark. 2013).

KRAS, BRAF, PIK3CA ve NRAS genleri hücrelerin büyümesi farklılaşmasında oldukça önemli yere sahip genlerdir. Gerek otofosforilasyon mekanizmalarında görev alması gerekse tümörögenezi teşvik etmesi kanser oluşum sürecinde oldukça önem taşımaktadır. Özellikle KRAS başta olmak üzere akciğer kanserinde sık görülmeleri tedaviye direnç oluşturmaları her birini birer terapötik hedef gen haline getirmektedir. Akciğer kanserinin moleküler patogenezinin daha iyi anlaşılması ve sağ kalımın artırılması için rutin analizlerde taranan genlerin dışında KRAS, BRAF, PIK3CA ve NRAS genlerinin daha geniş çapta araştırılması gerekmektedir.

Cerrahinin oldukça kısıtlı olduğu ve moleküler patogenizinin oldukça karmaşık olduğu akciğer kanserinde, kanserin moleküler alt yapısını anlamak tedavide oldukça kritik rol oynamaktadır. Kanser dokusunun yapısı gereği ve hastanın genel prognozu her zaman konvansiyonel biyopsiye uygun olmayabilir. Günümüz görüntüleme teknolojileri ile saptanabilen tümör boyutundan çok daha öncesinde likit biyopsi teknolojisi ile konvansiyonel biyopsilere gerek kalmadan hastanın vücut sıvılarından hastalığın moleküler patogenezi ve kökeni hakkında detaylı veriler elde edilebilmektedir. Likit biyopsi tekniği konvansiyonel biyopsilere göre hasta üzerinde oldukça kolay uygulanan bir teknik olması en önemli avantajıdır. Likit biyopsi analizi ile hastanın sistemik tedavisinde kullanılması için hedefe yönelik tedavi ilişkili sonuçlar elde edilmesi hastaların sağ kalımlarının arttırılması açısından oldukça önemlidir. Likit biyopsi analizi diğer moleküler analizlere kıyasla oldukça detaylı veri eldesi ile bireye özgü onkolojik yaklaşım için olanak sağlaması onu kılavuz bir metod olarak karşımıza çıkarmaktadır. Likit biyopsinin akciğer kanseri taramalarında kullanılması, kanserin tanısında, hedefe yönelik tedavilerin belirlenmesinde ve belirlenen ilaçların kullanımı sonrasında hastalığın seyrinin takibinde kullanılması ile bunların hastanın kliniği ile birleştirilmesi tedaviye ve sağ kalıma önemli katkılar sağlayacağını düşünmekteyiz.

5.1.Sınırlılıklar

Bu çalışma kapsamında taranan gen varyasyonlarının saptandığı hastalar ile negatif hastaların tedavi süreçlerinin daha geniş örneklem grubunda incelenmesi hastalığın sağ kalımı ve taranan varyasyonların prognoza etkisi için örnek sunmaktadır. Benzer şekilde KRAS, BRAF, NRAS ve PIK3CA genlerinin akciğer kanserinde diğer taranan genler olan EGFR, ALK vb. genler ile birlikte ele alındığı daha geniş hasta gruplarında değerlendirilebilir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak çalışmamız kapsamında incelenen KRAS, NRAS, BRAF ve PIK3CA genlerinin tümörögenizde büyük rol alması akciğer kanserinin oluşum mekanizmasına etkisi ve henüz hedefe yönelik tedavilerin saptanamaması akciğer kanseri açısından büyük önem taşımaktadır.

Rutin yaşantımızda önemsenmeyecek bazı belirtiler akciğer kanserinin erken tanısı açısından oldukça önemlidir. Hasta grubumuzdaki bireylerin tanı evrelerine bakıldığında ileri evlerde tanının yüksek olması ile hastalık semptomlarının bir arada değerlendirildiğinde gündelik hayatta sıklıkla karşılaştığımız öksürük, iştahsızlık ve kilo kaybı gibi semptomların akciğer kanserinin erken tanısı açısından oldukça önem taşımaktadır.

Cerrahinin oldukça kısıtlı olduğu akciğer kanserinde kovansiyonel biyopsi prognozu kötü olan hasta gruplarında her zaman uygulanamamaktadır. Akciğer kanserinin tanı ve tedavisindeki en önemli iki unsur histopatolojik alt tipi ve moleküler patogenezi olarak karışımına çıkmaktadır. Günümüzde likit biyopsi doku patolojisi ile ulaşılması zor olan tümör dokularına, alınan dokunun yetersiz olduğu durumlarda veya kötü prognozlu hastalara uygulanmaktadır. Likit biyopsi analizi ile hastalığın detaylı moleküler patogenezinin eldesi ve kapsamlı gen taramaları uygun tedavi stratejilerinin belirlenmesi için yaygın hale getirilmesi öngörülmektedir.

Moleküler patogenezi en karmaşık kanser türlerinden biri olan akciğer kanserinde rutin testler olarak taranan EGFR, ALK, ROS, MET gibi genlerin dışında KRAS, BRAF, NRAS ve PIK3CA gibi henüz hedef molekülleri saptanmamış olan genlerinde taranması hasta popülasyonlarında bu genlerin insidansı ve prognoza etkisinin belirlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Akciğer kanseri multidisipliner olarak değerlendirilerek taranan gen bölgelerinin hücre içinde rol aldıkları yollar hedeflenerek, bu yolların inhibisyonunu sağlayacak yeni moleküllerin saptanması ile yeni ilaçların keşfi sonucunda akciğer kanserinde ilerleyici ve olumlu süreçlerden söz edebiliriz.

7.KAYNAKLAR

- Aredo, J. V., Padda, S. K., Kunder, C. A., Han, S. S., Neal, J. W., Shrager, J. B., & Wakelee, H. A. (2019). Impact of KRAS mutation subtype and concurrent pathogenic mutations on non-small cell lung cancer outcomes. *Lung Cancer*, 133, 144-150. doi:10.1016/j.lungcan.2019.05.015
- Arıkan, R., Yumuk, P.F. (2020). Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde hedefe yönelik tedaviler: ALK ROS-MET-RET-BRAF-NTRK-HER2-KRAS. *Türkiye Klinikleri 2020 Akciğer Kanseri*. (1)1, 61-9.
- Arıncı, K., & Elhan, A. (2006). *Anatomi*. 2(4). Ankara, Türkiye, Güneş Kitabevi.
- Asamura, H., Chansky, K., Crowley, J., Goldstraw, P., Rusch, V. W., Vansteenkiste, J. F., ... Rami-Porta, R. (2015). The International Association for the Study of Lung Cancer Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the N descriptors in the forthcoming 8th edition of the TNM classification for lung cancer. *Journal of thoracic oncology*. 10(12), 1675-1684. doi:10.1097/jto.0b013e31812f3c1a
- BARBAROS, M. B., & DİKMEN, M. (2015). Kanser immünoterapisi. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*. 31(4), 177-182.
- Belchis, D. A., Tseng, L. H., Gniadek, T., Haley, L., Lokhandwala, P., Illei, P., ... Lin, M. T. (2016). Heterogeneity of resistance mutations detectable by next-generation sequencing in TKI-treated lung adenocarcinoma. *Oncotarget*, 7(29). 45237. doi: 10.18632/oncotarget.9931
- Börekeçi, G. (2010). Flüoresan In Situ Hibridizasyon (FISH) Yönteminin Klinik Mikrobiyolojide Kullanımı The Use of Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Method in Clinical Microbiology. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*. 40(3), 101-142
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 68(6), 394-424. doi: 10.3322/caac.21492.
- Brenner, D. R., McLaughlin, J. R., & Hung, R. J. (2011). Previous lung diseases and lung cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 6(3), e17479. doi:10.1371/journal.pone.0017479
- Cheng, Y., Zhang, G., & Li, G. (2013). Targeting MAPK pathway in melanoma therapy. *Cancer and Metastasis Reviews*. 32(3), 567-584. doi:10.1007/s10555-013-9433-9
- Çalışkan, M., Bozkurt, G., Meydan, N., Meteoğlu, İ., & Günel, N. S. (2018). Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Hastalarında Onkogen Mutasyonlarının Araştırılması. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 25(3), 322-328. doi:10.17343/sdutfd.431726
- Dagogo-Jack, I., Martinez, P., Yeap, B. Y., Ambrogio, C., Ferris, L. A., Lydon, C., ... Awad, M. M. (2019). Impact of BRAF mutation class on disease characteristics and clinical outcomes in BRAF-mutant lung cancer. *Clinical Cancer Research*. 25(1), 158-165. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-2062
- Dere, F., & Yücel, B. D. (1994). *Spor eğitimi için fonksiyonel anatomi*. Okullar Pazarı Kitabevi s, 16-20.
- Eberhardt, W. E., Mitchell, A., Crowley, J., Kondo, H., Kim, Y. T., Turrisi III, A., ... Rami-Porta, R. (2015). The IASLC lung cancer staging project: proposals for the revision of the M descriptors in the forthcoming eighth edition of the TNM classification of lung cancer. *Journal of thoracic oncology*. 10(11), 1515-1522. doi: 10.1097/JTO.0000000000000673
- Engelman, J. A., Chen, L., Tan, X., Crosby, K., Guimaraes, A. R., Upadhyay, R., ... Wong, K. K. (2008). Effective use of PI3K and MEK inhibitors to treat mutant Kras G12D and PIK3CA H1047R murine lung cancers. *Nature medicine*. 14(12), 1351-1356. doi:10.1038/nm.1890
- Ergelen, R., & Cagatay Çimşit, N. (2013). AKCİĞER TÜMÖRLERİ. *Bulletin of Thoracic Surgery/Toraks Cerrahisi Bülteni*. 4(3). doi:10.5152/tcb.2013.30

- Ersahin, T., Tuncbag, N., & Cetin-Atalay, R. (2015). The PI3K/AKT/mTOR interactive pathway. *Molecular BioSystems*. 11(7), 1946-1954. doi: 10.1039/x0xx00000x
- Eser, S., Schnieke, A., Schneider, G., & Saur, D. (2014). Oncogenic KRAS signalling in pancreatic cancer. *British journal of cancer*, 111(5), 817-822.
- Fang, J. Y., & Richardson, B. C. (2005). The MAPK signalling pathways and colorectal cancer. *The lancet oncology*. 6(5), 322-327. doi:10.1016/S1470-2045(05)70168-6
- Ferrer, I., Zugazagoitia, J., Herbertz, S., John, W., Paz-Ares, L., & Schmid-Bindert, G. (2018). KRAS-Mutant non-small cell lung cancer: From biology to therapy. *Lung cancer*. 124, 53-64. doi:10.1016/j.lungcan.2018.07.013
- Gandara, D. R., Philip, C. M., Tianhong, L. I., Primo, N. L., & Herbst, R. S. (2010). Evolving treatment algorithms for advanced non-small-cell lung cancer: 2009 looking toward 2012. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*. 13(3). doi:10.3779/cjlc.v13i3.1168
- Guo, Y. J., Pan, W. W., Liu, S. B., Shen, Z. F., Xu, Y., & Hu, L. L. (2020). ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 19(3), 1997-2007. doi:10.3892/etm.2020.8454
- Gültekin, M., & İstatistikleri, B. G. T. K. (2016). *TC Sağlık Bakanlığı. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Kanser Savaş Daire Başkanlığı*. 2016.
- Günbatar, H., Sertoğullarından, B., Özbay, B., Sünnetçioğlu, A., & Ekin, S. (2012). Akciğer kanserli olguların değerlendirilmesi; 3 yıllık analiz. *Van Tıp Dergisi*. 19(1), 13-20.
- Hyman, D. M., Puzanov, I., Subbiah, V., Faris, J. E., Chau, I., Blay, J. Y., ... & Baselga, J. (2015). Vemurafenib in multiple nonmelanoma cancers with BRAF V600 mutations. *New England Journal of Medicine*. 373(8), 726-736. doi:10.1056/NEJMoa1502309.
- Jackman, D. M., Miller, V. A., Cioffredi, L. A., Yeap, B. Y., Jänne, P. A., Riely, G. J., ... Johnson, B. E. (2009). Impact of epidermal growth factor receptor and KRAS mutations on clinical outcomes in previously untreated non-small cell lung cancer patients: results of an online tumor registry of clinical trials. *Clinical Cancer Research*. 15(16), 5267-5273. doi:10.1158/1078-0432.ccr-09-0888
- Kılıç C. (2014). Akciğerlerin Anatomisi. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*. doi: 10.4328/JCAM.964
- Koçana, C. Ç., Toprak, S. F., Hekimoğlu, H., & Tokdemir, S. S. (2019). Cell free DNA and genomastasis. *Experimed*. 9(2), 69-74. doi: 10.26650/experimed.2019.19015
- Köksoy, E.B., Demirkazık, A. (2020). Hedefe yönelik tedaviler; EGFR. *Türkiye Klinikleri 2020 Akciğer Kanseri (1)*1, 56-60.
- Landi, M. T., Chatterjee, N., Yu, K., Goldin, L. R., Goldstein, A. M., Rotunno, M., ... Caporaso, N. E. (2009). A genome-wide association study of lung cancer identifies a region of chromosome 5p15 associated with risk for adenocarcinoma. *The american journal of human genetics*. 85(5), 679-691. doi:10.1016/j.ajhg.2009.09.012
- Leonetti, A., Facchinetti, F., Rossi, G., Minari, R., Conti, A., Friboulet, L., ... Planchard, D. (2018). BRAF in non-small cell lung cancer (NSCLC): pickaxing another brick in the wall. *Cancer treatment reviews*. 66, 82-94. doi:10.1016/j.ctrv.2018.01.006
- Ludovini, V., Bianconi, F., Pistola, L., Chiari, R., Minotti, V., Colella, R., ... Crinò, L. (2011). Phosphoinositide-3-kinase catalytic alpha and KRAS mutations are important predictors of resistance to therapy with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Journal of thoracic oncology*. 6(4), 707-715. doi:10.1097/JTO.0b013e31820a3a6b
- Marchetti, A., Milella, M., Felicioni, L., Cappuzzo, F., Irtelli, L., Del Grammastro, M., ... Buttitta, F. (2009). Clinical implications of KRAS mutations in lung cancer patients treated with tyrosine kinase inhibitors: an important role for mutations in minor clones. *Neoplasia*. 11(10), 1084-1092. doi:10.1593/neo.09814.
- Millington, G. W. M. (2013). Mutations of the BRAF gene in human cancer, by Davies et al.(Nature 2002; 417: 949-54). *Clinical and experimental dermatology*. 38(2), 222-223. doi.org/10.1111/ced.12015

- Ohashi, K., Sequist, L. V., Arcila, M. E., Lovly, C. M., Chen, X., Rudin, C. M., ... Pao, W. (2013). Characteristics of lung cancers harboring NRAS mutations. *Clinical Cancer Research*. 19(9), 2584-2591. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3173
- Pignon, J. P., Tribodet, H., Scagliotti, G. V., Douillard, J. Y., Shepherd, F. A., Stephens, R. J., ... Le Chevalier, T. (2008). Lung adjuvant cisplatin evaluation: a pooled analysis by the LACE Collaborative Group. In Database of Abstracts of Reviews of Effects (DARE): Quality-assessed Reviews. *Centre for Reviews and Dissemination (UK)*. doi: 10.1200/JCO.2007.13.9030
- Rami-Porta, R., Bolejack, V., Crowley, J., Ball, D., Kim, J., Lyons, G., ... Prognostic Factors Committee. (2015). The IASLC lung cancer staging project: proposals for the revisions of the T descriptors in the forthcoming eighth edition of the TNM classification for lung cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 10(7), 990-1003. doi: 10.1097/JTO.0000000000000559
- Rami-Porta, R., Crowley, J. J., & Goldstraw, P. (2009). Review the revised TNM staging system for lung cancer. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 15(1), 5.
- Riely, G. J., & Helena, A. Y. (2015). EGFR: the paradigm of an oncogene-driven lung cancer. *Clinical cancer research*. 21(10), 2221-2226. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-3154
- Rothschild, S. I. (2015). Targeted therapies in non-small cell lung cancer—beyond EGFR and ALK. *Cancers*. 7(2), 930-949. doi:10.3390/cancers7020816
- Sandler, A., Gray, R., Perry, M. C., Brahmer, J., Schiller, J. H., Dowlati, A., ... Johnson, D. H. (2006). Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*. 355(24), 2542-2550. doi: 10.1056/NEJMoa061884
- Shi, L., Zheng, M., Hou, J., Zhu, B., & Wang, X. (2017, February). RETRACTED: Regulatory roles of epigenetic modulators, modifiers and mediators in lung cancer. *In Seminars in cancer biology*. (42), 4-12. doi:10.1016/j.semcancer.2016.11.007
- Swanton, C., & Govindan, R. (2016). Clinical implications of genomic discoveries in lung cancer. *New England Journal of Medicine*, 374(19), 1864-1873.
- Thiel, A., Moza, M., Kytölä, S., Orpana, A., Jahkola, T., Hernberg, M., ... Ristimäki, A. (2015). Prospective immunohistochemical analysis of BRAF V600E mutation in melanoma. *Human pathology*. 46(2), 169-175. doi:10.1016/j.humpath.2014.08.018
- Travis, W. D., Brambilla, E., Burke, A. P., Marx, A., & Nicholson, A. G. (2015). Introduction to the 2015 World Health Organization classification of tumors of the lung, pleura, thymus, and heart. *Journal of Thoracic Oncology*. 10(9), 1240-1242. doi:10.1097/JTO.0000000000000663
- Turaçlı, İ. D. (2017). Malign Melanom Oluşum ve İlerleme Sürecinde Gözlenen Bazı Moleküler Değişimler. *Türk Dermatoloji Dergisi*. 11(4). doi:10.4274/tdd.3000
- Vogelstein, B., Papadopoulos, N., Velculescu, V. E., & Zhou, S. (2013). Cancer genome landscapes. *Science*. (339). Doi:10.1126/science.1235122
- Yılmaz, D. N., Yurdakul, A.S. (2020). Epidemiyoloji, risk faktörleri. *Türkiye Klinikleri 2020 Akciğer Kanseri*. (1)1, 1-5.
- Zhang, T., Wan, B., Zhao, Y., Li, C., Liu, H., Lv, T., ... Song, Y. (2019). Treatment of uncommon EGFR mutations in non-small cell lung cancer: new evidence and treatment. *Translational lung cancer research*. 8(3), 302. doi: 10.21037/tlcr.2019.04.12