



**T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÖZOFAGUS KANSERİ TEDAVİSİNDE
HEDEFE YÖNELİK YENİ NESİL
DİZİLEME ÇOKLU GEN PANELİNİN
PROGNOSTİK ÖNEMİ**

ZAFER TEKE

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. SEVGİ KALKANLI TAŞ**

**MOLEKÜLER ONKOLOJİ ANA BİLİM DALI
MOLEKÜLER ONKOLOJİ DOKTORA PROGRAMI**

**DOKTORA TEZİ
EYLÜL/2023**

İÇİNDEKİLER

İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
ÖZET.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.2.ÖZOFAGUS KANSERİNİN TEDAVİSİNDE YENİ NESİL DİZİLEME.....	3
2.1.1. Bir cerrah için genomik sözcükler kılavuzu.....	11
2.1.2. Yeni nesil dizilemeye giriş.....	12
2.1.3. Özofagus kanserinin histopatolojik sınıflandırması.....	15
2.1.4. Özofagus SHK'un moleküler özellikleri.....	12
2.1.5. Özofagus AK'unun moleküler özellikleri	15
2.1.6. Özofagus SHK ile AK arasındaki genomik farklılıklar.....	11
2.1.7. Özofagus kanserlerinde hedefe yönelik tedavi.....	12
2.1.8. Genel çıkarımlar.....	15
2.2.ÖZOFAGUS KANSERLERİ İLE İLİŞKİLİ GENETİK.....	16
2.2.1. Hücre döngüsünü veya farklılaşmasını düzenleyen genler.....	16
2.2.2. Epidermal büyüme faktörü reseptörü ve reseptör tirozin kinaz.....	16
2.2.3. VEGF sinyal yolağındaki genetik faktörler.....	17
2.2.4. Epigenetik faktörler.....	17

3. MATERYAL VE METOD.....	19
3.1. ÖRNEKLEME.....	19
3.2. YENİ NESİL DİZİLEME.....	20
3.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	24
4. BULGULAR.....	25
5. TARTIŞMA.....	47
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	65
KAYNAKLAR.....	67
EKLER.....	73

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 2.1: Temel yeni nesil dizileme terimleri.....	4
Tablo 2.2: Özofagus karsinomlarında sık görülen genetik değişiklikler.....	9
Tablo 3.1: Hedef zenginleştirme aşamasında kullanılan PCR prosedürü.....	21
Tablo 3.2: Kütüphane oluşturulması aşamasında kullanılan PCR prosedürü.....	22
Tablo 3.3: Klonal amplifikasyon aşamasında kullanılan PCR prosedürü.....	22
Tablo 4.1: Hastaların demografik özelliklerinin frekans ve yüzdelik dağılımları.....	25
Tablo 4.2: Hastaların varyant patojenitesine göre detaylı dağılımı.....	26
Tablo 4.3: Varyantların yüzdelik dağılımı.....	27
Tablo 4.4: Hastaların sayısal verilerinin tanımlayıcı parametreleri.....	28
Tablo 4.5: Hastalarda varyant durumuna göre bulguların karşılaştırılması.....	29
Tablo 4.6: Hastalarda örnekleme yöntemine göre bulguların karşılaştırılması.....	30
Tablo 4.7: Hastalarda varyant durumuna göre sayısal verilerin karşılaştırılması.....	31
Tablo 4.8: Tüm varyant türlerinin cinsiyete göre dağılımı.....	32
Tablo 4.9: Tüm varyant türlerinin tümör patolojisine göre dağılımı.....	33
Tablo 4.10: Tüm varyant türlerinin patojeniteye göre dağılımı.....	34
Tablo 4.11: Tüm varyant türlerinin tümör lokalizasyonuna göre dağılımı.....	35
Tablo 4.12: Mutasyon sayısına göre tümör lokalizasyonunun dağılımı.....	36
Tablo 4.13: Tüm varyant türlerinin operasyon tipine göre dağılımı.....	37
Tablo 4.14: Tüm varyant türlerinin ultrasonik N (uN) evresine göre dağılımı.....	37
Tablo 4.15: Tüm varyant türlerinin evreye göre dağılımı.....	38
Tablo 4.16: Tüm varyant türlerinin lenfovasküler invazyona göre dağılımı.....	39
Tablo 4.17: Tüm varyant türlerinin perinöral invazyona göre dağılımı.....	39
Tablo 4.18: Tümör patolojisi ile cinsiyetin karşılaştırılması.....	40
Tablo 4.19: Tümör patolojisi ile varyant varlığının karşılaştırılması.....	40

Tablo 4.20: Tümör patolojisi ile varyant türlerinin karşılaştırılması.....	41
Tablo 4.21: Tümör patolojisi ile varyant patojenitesi karşılaştırılması.....	42
Tablo 4.22: Tümör patolojisi ile tümör lokalizasyonu karşılaştırılması.....	42
Tablo 4.23: Tümör patolojisi ile tümör diferansiyasyonunun karşılaştırılması.....	43
Tablo 4.24: Tümör patolojisi ile operasyon tiplerinin karşılaştırılması.....	43
Tablo 4.25: Tümör patolojisi ile ultrasonik T (uT) evresinin karşılaştırılması.....	44
Tablo 4.26: Tümör patolojisi ile ultrasonik N (uN) evresinin karşılaştırılması.....	44
Tablo 4.27: Tümör patolojisi ile lenfovasküler invazyon grupları karşılaştırılması.....	45
Tablo 4.28: Tümör patolojisi ile perinöral invazyon grupları karşılaştırılması.....	45
Tablo 4.29: Tümör patolojisi ile sayısal verilerin karşılaştırılması.....	46

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 2.1:** Tüm ekzom diziliminin basitleştirilmiş şeması.....8
- Şekil 2.2:** Gastroözofageal karsinomların genomik alt tiplerinin anatomik ilişkisi.....11
- Şekil 2.3:** Metastatik mide kanseri için hedefe yönelik tedavi (trastuzumab).....13



SİMGELER VE KISALTMALAR

AK	: Adenokarsinom
BTG3	: B Hücre Translokasyon Geni 3
CIN	: Kromozomal İnstabilite
CTLA	: Sitotoksik T Lenfosit İlişkili Protein 4
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EGFR	: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
FFPE	: Formalinle Fikse Edilmiş Parafine Gömülmüş (Doku)
GİS	: Gastrointestinal Sistem
GÖB	: Gastroözofageal Bileşke
GPX7	: Glutasyon Peroksidaz 7
MMR	: DNA Yanlış Eşleşme Tamiri
MSI	: Mikrosatellit İnstabilite
NTRK	: Nörotrofik Tropomiyozin İle İlişkili Kinaz
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PD-1	: Programlanmış Hücre Ölümü Proteini 1
PD-L1	: Programlanmış Hücre Ölümü Ligandı 1
RNA	: Ribonükleik Asit
SHK	: Skuamöz Hücreli Karsinom
TCGA	: Kanser Genom Atlası
TMB	: Tümör Mutasyon Yüğü
VEGF	: Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
VUS	: Klinik Önemi Bilinmeyen Varyant
WES	: Tüm Ekzom Dizileme
YND	: Yeni Nesil Dizileme

ÖZOFAGUS KANSERİ TEDAVİSİNDE HEDEFE YÖNELİK YENİ NESİL DİZİLEME ÇOKLU GEN PANELİNİN PROGNOSTİK ÖNEMİ

ÖZET

Amaç: Yeni nesil dizileme (YND), özofagus kanseri için bireyselleştirilmiş tedaviye rehberlik edebilecek bir genomik profil oluşturma aracı olarak önerilmiştir. Biz bu çalışmada, özofagus kanseri tedavisinde klinikopatolojik özelliklerle ilişkili olarak hedeflenebilir mutasyon panelinin potansiyel faydalarını incelemeyi amaçladı.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada endoskopik biyopsiyle ya da özofagus cerrahisi uygulanmak suretiyle histopatolojik olarak özofagus karsinomu tanısı almış 85 hastanın formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü tümör dokularında YND aracılığıyla AKT1, ALK, BRAF, DDR, ERBB2, ESR1, KIT, KRAS, MAP2K1, NRAS, NTRK, PDGFRA, PIK3CA, PTEN, ROS1, RICTOR, EGFR, MET, FGFR1 ve ERBB2 olmak üzere toplam 20 gende hedeflenebilir varyantlar analiz edildi. Patojenik somatik ve germ hücre varyantlarının tespitini ölçtük. Gruplarda olgulara ait demografik, klinik ve patolojik veriler incelendi.

Bulgular: Hastaların 47'si (%55,3) erkek, 38'i (%44,7) ise kadındı ve 25 olguda (%29,4) örneklem yöntemi cerrahi spesimenden, 60 olguda (%70,6) ise endoskopik biyopsiyle yapıldı. Hastaların yaş ortalaması $58,01 \pm 11,45$ idi. Özofagus primer tümörlerinin çoğu alt torasik (n=23; %27) yerleşimli idi. YND yapılan vakalardan 17'sinde PIK3CA mutasyonu, 7'sinde KRAS mutasyonu, 5'inde EGFR mutasyonu, 5'inde EGFR VUS mutasyonu, 4'ünde ERBB2 mutasyonu, 3'ünde MET mutasyonu, 3'ünde FGFR1 mutasyonu ve 3'ünde NRAS mutasyonu tanımlandı. Mutasyon sayılarının 2 ve üzerinde görüldüğü artışlar özellikle alt torasik bölge grubunda yoğunlaştı.

Sonuç: Hedeflenebilir çoklu multigen panelinin kullanımı, prognoz tahminine ek olarak terapötik ajanlara yanıt verme veya yeni tedavi yöntemlerine yönelik endikasyonların öngörülmesi yoluyla klinik sonuçların pratik kullanımında iyi tasarlanmış bir yeni nesil dizileme iş akışının değerini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Çoklu gen paneli, Özofagus kanseri, Prognoz, Yeni nesil dizileme



PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF ACTIONABLE NEXT-GENERATION-SEQUENCING MULTIGENE PANEL IN ESOPHAGEAL CANCER TREATMENT

ABSTRACT

Aim: Next-generation sequencing (NGS) has been proposed as a genomic profiling tool to guide individualized treatment for esophageal cancer. In this study, we aimed to examine the potential benefits of a targeted mutation panel in relation to clinicopathological features in the treatment of esophageal cancer.

Materials and Methods: In this study, a total of 20 genes of AKT1, ALK, BRAF, DDR, ERBB2, ESR1, KIT, KRAS, MAP2K1, NRAS, NTRK, PDGFRA, PIK3CA, PTEN, ROS1, RICTOR, EGFR, MET, FGFR1 and ERBB2 were analyzed via NGS for actionable variants in formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissues of 85 patients whose diagnosis of esophageal carcinoma was confirmed histopathologically by endoscopic biopsy or esophageal surgery. We measured detection of pathogenic somatic and germ-line variants. Demographic, clinical and pathological data of the cases were examined in the groups.

Results: Of 85 patients, 47 patients (55.3%) were male and 38 (44.7%) were female, and the sampling method was from surgical specimen in 25 cases (29.4%) and by endoscopic biopsy in 60 cases (70.6%). The mean age of the patients was 58.01 ± 11.45 years. Most of the esophageal primary tumors were located in the lower thoracic segment ($n=23$; 27%). Among the cases in which NGS was performed, PIK3CA mutation was identified in 17 patients, KRAS mutation in 7, EGFR mutation in 5, EGFR *variants* of unknown clinical significance (*VUS*) in 5, ERBB2 mutation in 4, MET mutation in 3, FGFR1 mutation in 3 and NRAS mutation in 3. The increases in mutation numbers of 2 and above were especially concentrated in the lower thoracic region group.

Conclusion: The use of actionable multigene panel has demonstrated the value of a well-designed next-generation sequencing workflow in the practical use of clinical outcomes through predicting response to therapeutic agents or indications for new treatment modalities, in addition to prediction of prognosis.

Keywords: Esophageal cancer, Multigene panel, Next generation sequencing, Prognosis



1.GİRİŞ VE AMAÇ

İnsan genomunun ilk deoksiribonükleik asit (DNA) dizilimi Sanger yöntemi veya enzimatik zincir sonlandırma yöntemi olarak bilinir (1). Halen yaygın olarak kullanılan bu yöntem, DNA polimerizasyonunu bloke eden ve hidroksil içermeyen dideoksinükleotitlerin kullanımına dayanır. Bu nükleotitler, spesifik florokrom boya ile boyanarak ve nükleotide spesifik dalga boyunun tepe noktalarını oluşturarak DNA dizilimi gerçekleştirir. Klasik Sanger yönteminde yapılan analizlerde, seçilen her gen için her DNA dizisi ayrı ayrı okunmalıdır, zaman alıcı ve karmaşıktır, insan faktörüne bağlı olarak yüksek bir hata payı vardır. Yeni nesil dizileme (YND), birden fazla gen panelinin eşzamanlı olarak doğru ve güvenilir çalışmasına izin vererek, tespit edilen somatik mutasyonlar için hastaya özgü tedavi protokollerini tanımlamak için altın standart haline getirir. Genomik tıpla birlikte, bireysel riskler tanımlanabilir ve bireyselleştirilmiş tedavi mümkündür. Son 2 yılda, solid tümörlerle ilgili moleküler düzeyde etiyopatogeneze genetik mutasyonlara özgü 26 yeni molekül veya ilaç tanımlandı. Hastaya özgü tedavi içinde, spesifik hücre sinyal yollarındaki spesifik genler, potansiyel tedavilerin hedefi olmalıdır. Bu nedenle, çoklu gen panellere ihtiyaç vardır. İlk kez AKT kinaz ve MAP kinaz sinyal yollarında etkinliği olan yeni hedefe yönelik ilaçların kullanımı için çoklu gen panel tasarımı yapılmıştır. Testler, formalinle fiks edilmiş parafine gömülmüş (formalin-fixed paraffin-embedded - FFPE) doku üzerinde yapılabilir. Testler, primer kanserler ve/veya metastazlarda uygulanabilir. Literatürde, her iki örnek tipinde de yapılabileceği gösterilmiştir.

Yeni nesil dizileme teknolojileri, insan genomunun verimi yüksek, paralel dizilimine izin vererek genomik tıbbi kökten değiştirmiştir (2). Bununla birlikte, klinik YND girişimlerinin büyük bir kısmı, mevcut genomik ve biyoinformatik araştırma altyapılarına paylaşımlı erişim sağlayan büyük akademik kurumlar tarafından desteklenmektedir ve YND'nin rutin klinik uygulamaları, klinik performans, laboratuvar uzmanlığı, sonuç alma sürelerinin uzunluğu ve maliyet gibi faktörler ile komplike bir hale gelmektedir (3). Bu nedenle, bizde FFPE tümör örneklerinden yüksek kaliteli sekanslama verileri üreterek özofagus malignitelerinde klinikle ilgili mutasyonları araştırmayı planladık. Bu amaçla FFPE tümör örneklerinde AKT1, ALK, BRAF, DDR, ERBB2, ESR1, KIT, KRAS, MAP2K1, NRAS, NTRK, PDGFRA, PIK3CA, PTEN,

ROS1, Amplifikasyonlar: RICTOR, EGFR, MET, FGFR1, ERBB2 genlerini içeren bir gen paneli (GeneReader NG Sistemi, Qiagen, Hildenberg, Almanya) kullandık. Paralel sekanslama ile birlikte hedeflenen amplikon bazlı veri hazırlama yöntemleri pratik bir çözüm sunmakta ve son çalışmalar bu yaklaşımın faydasını göstermektedir (4).

Özofagus kanserleri de dahil olmak üzere solid tümörlerin taranması için GeneReader YND sistemi (Qiagen, Hildenberg, Almanya) üzerinde Qiagen solid tümör panelinin kullanımını doğrulanmış ve optimize edilmiştir. Bu YND paneli, özofagus kanseri dahil solid tümörler ile ilgili çoklu gen mutasyonel noktalarını kapsayan, multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction - PCR) bazlı bir veri hazırlama yöntemidir ve seçici olarak amplifiye edilir ve sekanslanır.

Bu çalışmada, özofagus kanseri için hedeflenebilir mutasyon panelinin klinikopatolojik özelliklerine göre potansiyel faydalarını gözden geçirmeyi amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. ÖZOFAGUS KANSERİNİN YÖNETİMİNDE YENİ NESİL DİZİLEME

Kanser, binlerce gen arasındaki karmaşık etkileşimden ortaya çıkan, her düzeyde hücresel işlevi yerine getirmek için karmaşık yollar meydana getiren ve çeşitli ve öngörülemeyen çevresel faktörlerin ömür boyu etkisine maruz kalan bir genom hastalığıdır. DNA dizisi ve epigenetik çerçevesi, gen ekspresyon mekanizması ve müteakip ribonükleik asit (RNA) işlenmesi ve proteinin kendisi düzeyinde etki eden kuvvetler arasındaki karmaşık etkileşimleri yansıtan sayısız onkojenez yolu vardır. Tüm bu süreçleri YND gibi yüksek verimli teknolojiler kullanarak genom çapında bir ölçekte inceleme olanağı mevcuttur. Bu deneyler yoluyla üretilen ham veri rakamlarının sayısı, anlamlı bilgileri ayırt etmek için birden çok veri düzeyini entegre etme gerekliliği ile birleştiğinde, tümleşik analitiksel boyut patlaması meydana getirecektir. Bu veri kümelerinin tam büyüklüğü, mevcut veri denizinin ortasında tekrarlayan kalıpları tespit etmek ve bunları klinik kazanç sağlamak amacıyla kullanmak için üstlenilen görevin büyüklüğünün naçizane bir göstergesidir.

Proksimal gastrointestinal sistem (GİS) maligniteleri sık görülmektedir ve kötü bir prognoza sahiptir. Genel 5 yıllık sağkalım oranları özofagus ve mide için sırasıyla %18,8 ve %30,6'dır (5). Tedavi yaklaşımları primer özofagus tümörleri ile mide tümörleri arasında önemli ölçüde farklılık gösterir ve her ikisi için de çok az hedefe yönelik tedavi mevcuttur. Büyük ölçüde yüksek verimli dizileme teknolojilerinin kullanılması sayesinde üst GİS malignitelerin genomik temellerine ilişkin bilgi artışıyla, anatomik lokalizasyondan ziyade daha çok tümöre özgü genomik faktörlere dayalı akılcı tedavi yaklaşımları tasarlama umuduyla, daha karmaşık, moleküler tabanlı sınıflandırma sistemleri geliştirilmektedir.

2.1.1 Bir cerrah için genomik sözcükler kılavuzu

Her hücre, kendi genomu içinde organizma tarafından üretilen her proteini kodlayan DNA yığını taşır. DNA, kendine özgü çift sarmal şeklinde sarılmış ve histon adı verilen özelleşmiş proteinlerin etrafında daha da katlanıp paketlenmiş, nükleotid

çiftlerinin meydana getirdiği uzun zincirlerinden oluşur. İnsan DNA'sı 23 çift kromozomda (aynı zamanda küçük bir mitokondriyal DNA tamamlayıcısında) taşınır ve hücre çekirdeğinde depolanır. İnsan genomu, yaklaşık %1 ila %2'sinin proteinleri kodladığı yaklaşık 3 milyar DNA baz çiftinden oluşur. DNA, daha sonra proteinlere çevrilen RNA'ya kopyalanır.

Genetik hastalıkların çoğu, ekzom olarak bilinen genomun protein kodlayan kısmındaki değişikliklerden kaynaklanır. Genomik değişiklikler, anlamı değişmeyen (kodlanmış amino asidin değişmediği anlamına gelir) veya anlamı değişen (üretilen proteindeki bir değişiklik anlamına gelir) şeklinde tek nükleotid varyasyonlarını içerir (Tablo 2.1). DNA dizisindeki kısa eklentiler veya silinmeler (indeller), translasyon okuma çerçevesinde kaymalara (sıklıkla kesik veya işlevsiz bir protein üretir) veya değişen etkiler gösteren bir veya daha fazla amino asidin eklenmesine veya silinmesine neden olabilir. Normal insan varyasyonu spektrumu içinde görülen tek nükleotid varyasyonları veya indelleri, sıklıkla tek nükleotid polimorfizmleri olarak adlandırılır ve popülasyon düzeyinde genetikte önemli bir anlayış kaynağıdır. Mutasyonlar, bir hastanın gamet hücrelerinde taşınabilir, yani ebeveyn DNA'sından kalıtılır ve organizmadaki her hücre tarafından taşınır veya somatik olabilir, yani tümör hücrelerince taşınan ancak komşu normal hücrelerce taşınmayan, kanseri tanımlayıcı bir mutasyon gibi belirli bir hücre veya dokuya özgü olabilir.

Tablo 2.1. Temel yeni nesil dizileme terimleri

<i>Yeni Nesil Dizileme Teknikleri</i>	
WES (Whole-Exome Sequencing) - Tüm ekzom dizilimi	Genomun protein kodlayan bölgelerinde tek nükleotid çözünürlüğü sağlar
Whole-genome sequencing - Tüm genom dizilimi	Ekzom dizilimine benzer ancak genomdaki tüm bazları kapsar
Targeted sequencing - Hedefe yönelik dizileme	Ekzom dizilimine benzer ancak aday genlerin sınırlı bir alt grubunu hedefler
Gene expression profiling - Gen ekspresyon profili oluşturma	Her gen için rölatif RNA düzeyi; daha fonksiyonel bir ilişkiye sahip olabilir ancak muhtemelen hücre ortamından etkilenebilir
RNA sequencing - RNA dizilimi	Gen ekspresyon analizine benzer, ancak aynı zamanda her bir RNA transkriptinin dizilim verilerini de içerir
<i>Genetik Değişiklik Türleri</i>	
Single-nucleotide variation - Tek nükleotid varyasyonu	C'den T'ye veya G'den A'ya gibi tek baz değişimi
Indel	Birkaç baz çiftinin kısa eklenmesi (insertion) veya silinmesi (deletion); amino asitlerin çerçeve kaymasına veya eklenmesine (insertion) / silinmesine (deletion) neden olabilir

Tablo 2.1 (devam)

Copy number alteration – Kopya sayısı değişimi	Genomun bir bölgesinin silinmesi (deletion) veya çoğaltılması (amplification)
Loss of heterozygosity - Heterozigosite kaybı	Belirli bir gen için 1 alelin silinmesi ve diğer alelin amplifikasyonu
Gene fusion - Gen füzyonu	Ayrı DNA dizilerinin kırılması ve rekombinasyonu, kimerik füzyon transkriptiyle sonuçlanır
MSI (Microsatellite instability) – Mikrosatellit instabilite	DNA onarımındaki başarısızlığın sonucu, rutin DNA replikasyon hatalarının onarılamaması ve tekrarlayan DNA bölgelerinde (mikrosatellitler) yaygın değişiklikler

Tek nükleotid polimorfizmlerinin ötesinde, genoma ait tam bir bölge silinebilir veya aynıysından ikinci kez kopyası çıkartılabilir (veya üçüncü kopya, dördüncü kopya vb.), bunlar protein üretimi üzerine değişen etkiler gösterebilecek kopya sayısı değişikliklerine neden olabilir. Bir gen çifti (allel) silinir ve diğerinin aynıysından ikinci kez kopya çıkartılırsa, bu bölgenin heterozigosite kaybına uğradığı söylenir ki bu özellikle normal allel kaybolurken mutant allel iki katına çıkıyorsa önemlidir. Genler normal yerlerinden kesilip ayrılabilir ve genomda başka bir yere konulabilir, bu da bir füzyon gen ürünü ile sonuçlanmaktadır. Son olarak, DNA onarımında rol alan bir gendeki mutasyon, zincirleme bir reaksiyonun başlangıcı olabilir, bu ise hücreler rutin DNA replikasyon hatalarını başarılı bir şekilde onaramadığı için sayısız ek mutasyona sebep olur.

Bu tür bir mutasyon sınıfı, insanlardaki çeşitli kanserlerde görülen mikrosatellit instabilite (MSI) olarak adlandırılan durumla sonuçlanır; burada *mikrosatellitler* (özellikle DNA onarım hatalarına yatkın) denilen, tekrarlayıcı, genellikle kodlamayan DNA bölgelerinin uzunluğu, DNA replikasyonu sırasında DNA polimerazların kayması nedeniyle değişir. Kanser immünoterapisinin ortaya çıkmasıyla birlikte, hipermutasyona uğramış tümörler (MSI ve diğer MSI olmayan hipermutatörler dahil) çok sayıda potansiyel itici güç unsuru mutasyonlar nedeniyle doğası itibarıyla daha agresif olabilmelerine karşın, sonuçta ortaya çıkan mutasyona uğramış proteinler hücre yüzeyinde eksprese edildiğinde neoantijen olarak işlev göreceği, bağışıklık hücreleri bu proteinleri kendinden olmayan olarak tanımladığından antitümör bir immun yanıt başlatacağı bilgisi gittikçe anlaşılır hale gelmiştir. Bu doğal bağışıklık yanıtı, pembrolizumab gibi kontrol noktası inhibitörleri ile artırılabilir (6).

Bu genetik varyasyon kaynaklarına ilaveten, her hücre, DNA diziliminde doğrudan kodlanmaksızın gen ekspresyonunu değiştiren epigenetik modifikasyonlar

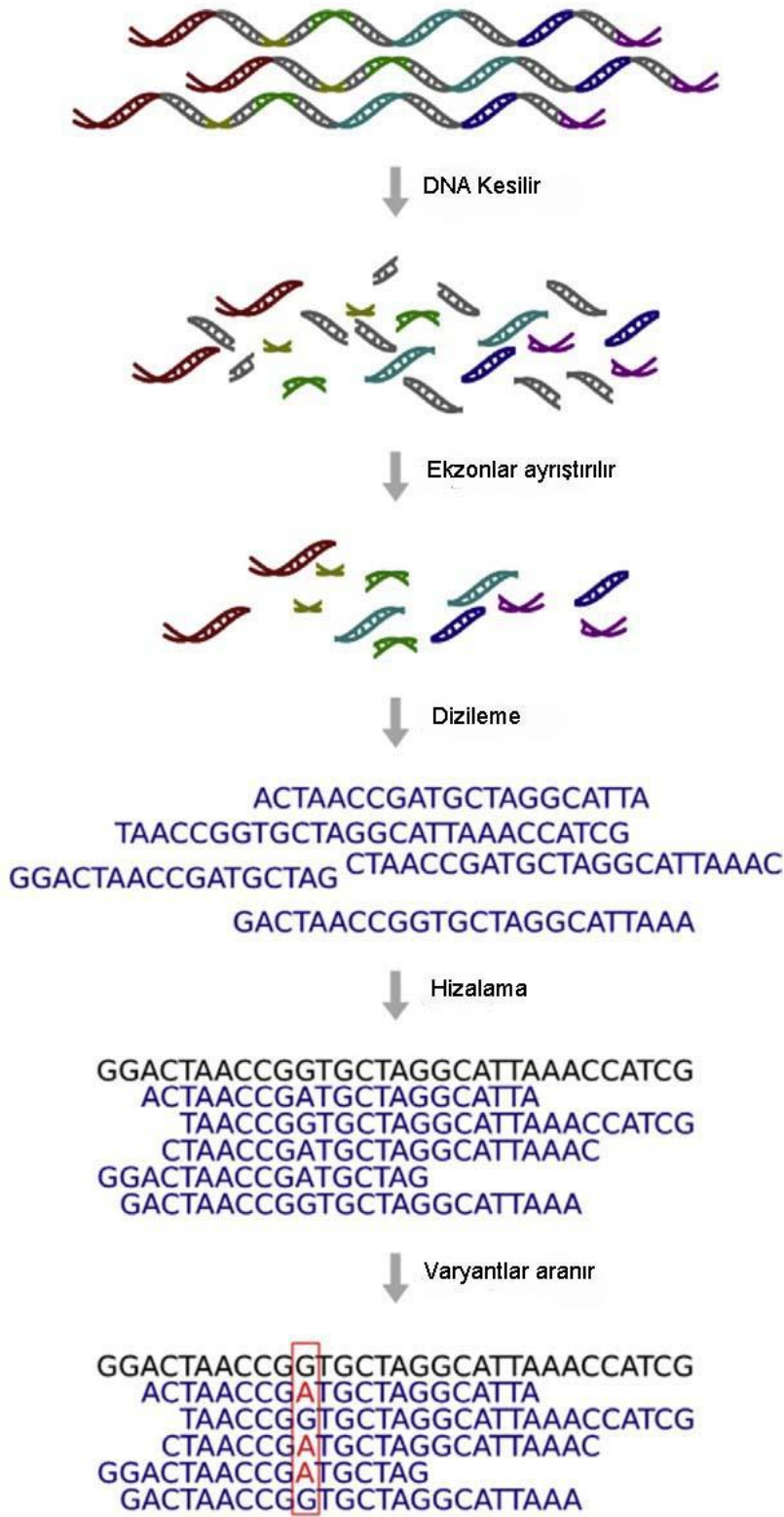
yoluyla çevresine uyum sağlar. Örneğin, komşu genlerin ekspresyonunu değiştirebilen bazı bazlar metillenebilir. Diğer genler, hücrenin kimliğine ve ihtiyaçlarına bağlı olarak, DNA'nın transkripsiyona hazır hale gelmesine (ökromatin) veya depolama için sıkıca bağlanmasına (heterokromatin) izin veren histonlar gibi ilişkili proteinlerin ve DNA yapısının modifikasyonu ile düzenlenir. Epigenetik, paylaşılan ve büyük ölçüde değişmeyen genetik koda rağmen, belirli bir organizma geninde görülen hücre yapısı ve işlevindeki muazzam çeşitlilikten sorumludur.

2.1.2 Yeni nesil dizilemeye giriş

Sanger dizileme olarak da bilinen birinci nesil dizileme teknolojisi, tek sarmallı bir DNA şablonunun in vitro replikasyonu sırasında dizilimini çıkarmak için zincir sonlandırıcı dideoksinükleotidlerin seçici olarak katılmasını ifade eder (7). Grup modunda, otomatik Sanger dizileme cihazları bir seferde birkaç yüz örnek dizileyebilir. Bunun aksine, ikinci nesil dizileme, yani YND, her iş başına milyonlarca ila milyarlarca okuma üreten yüksek verimli yöntemler kullanır (8). Bu yöntemlerin kanser genomisindeki en büyük avantajı, tüm genomu eş zamanlı olarak inceleyebilme kapasitesidir, bu da sadece seçilmiş kanser genlerini araştırma eğilimini ortadan kaldırır ve yeni hedefleri keşfetme potansiyelini açığa çıkartır. YND için Solexa (Illumina, San Diego, CA, Amerika), 454 Genome Sequencer (Roche Applied Science, Penzberg, Almanya) ve SOLİD platform (ThermoFisher, Waltham, MA, Amerika) dahil olmak üzere yaygın olarak kullanılan 3 ticari platform vardır. Kullanılan platformdan bağımsız olarak, YND'nin altında yatan temel ilke, boşlukta sabitlenmiş kısa, klonal olarak genişletilmiş DNA dizilerinin çok büyük ölçekte paralel, döngüsel şekilde araştırılmasıdır. YND'nin temel adımları aşağıdaki gibidir (9):

- i. **Kütüphane hazırlığı:** DNA'nın rasgele parçalanması, bilinen adaptör dizilerinin bağlanması
- ii. **Küme oluşturma:** uzaysal olarak sabit bir dizilişte her bir kütüphane bileşeninin polimeraz zincir reaksiyonuyla çoğaltılması
- iii. **Dizileme:** çok büyük ölçekte paralel, enzime dayalı biyokimyasal ve görüntüleme tabanlı veri işleme
- iv. **Veri analizi:** kısa okumaların referans genoma hizalanması, varyant tespiti

Tüm genomun dizilenmesi teknik olarak mümkün olmasına ve araştırma ortamında giderek daha yaygın hale gelmesine rağmen, tüm ekzom dizilemeye (Whole-Exome Sequencing - WES) ve hedefe yönelik dizilemeye klinik uygulamada daha rutin olarak rastlanmaktadır. Bu teknikler, ekzomu (genomun tüm protein kodlayan bölgeleri) veya önceden belirlenmiş kanserle ilişkili bir gen kümesini hedef alır ve tüm genom dizilemenin maliyet ve bilgi işlemsel gereksinimlerinin çok altında yüksek verimli yöntemlerden yararlanır (Şekil 2.1). Fiyatı uygun ve kısa sürede milyarlarca kısa dizi okuması yapan teknoloji, verilerin işlenmesi ve depolanması için çeşitli biçimsel zorluklar ortaya koyar. Bu hususların ötesinde, büyük verileri analiz ederken temelde var olan tuzaklar vardır; "boyutsallığın laneti", incelenen değişkenlerin sayısı arttıkça, istatistiksel olarak sağlam sonuçlar çıkarmak için gereken veri miktarının katlanarak arttığı gözlemine atıfta bulunur. Kanser genomik çalışmaları için bu durum, çok büyük miktarda moleküler veri setleri oluşturma kapasitesiyle analiz için elde mevcut az sayıda hasta arasında temel bir dengesizlik olduğu anlamına gelir. Bu olgu, kanser genomisinin çok büyük ölçekte paralel tekniklerle anlamlı bir şekilde çalışılmasını hiçbir şekilde engellemez, aksine yeni analiz modelleri ve çok büyük boyutlu verileri işleme konusunda uzman araştırmacılar dahil multidisipliner bir yaklaşım gerektirir. Giderek artan bir şekilde, bu tür araştırmalar, bilgi hastalar için erişilebilir ve uygulanabilir hale geldikçe, yalnızca yeni genomik kökenli bilgi üretimini teşvik eden cerrah bilim adamlarına değil, aynı zamanda bu yöntemleri anlamaya başlamak için klinikte uygulama yapan cerrahi onkologlara da gereksinim olacak kadar laboratuvar dan kliniğe taşınmaktadır. Mide ve özofagus kanserlerinde birtakım genetik değişiklikler tanımlanmıştır ve bunlardan hangilerinin terapötik etkinlik için hedeflenebilir mutasyonlar olduğunu belirlemek için bir yarış vardır (Tablo 2.2) (10).



Şekil 2.1. En sık kullanılan yeni nesil dizileme yaklaşımı olan tüm ekzom diziliminin basitleştirilmiş şeması. Genomik deoksiribonükleik asit kesilir, ekzonlar toplanır ve sıralanır ve okumalar referans genoma göre hizalanarak varyant aranmasına olanak sağlar. Söz konusu araştırmaya veya klinik ortama bağlı olarak, hücre için işlevsel sonuçlara sahip olma olasılığı en yüksek olanları vurgulamak için varyantlar daha da filtrelenir.

Tablo 2.2. Gastroözofageal adenokarsinomlarda ve özofagus skuamöz hücreli karsinomlarında sık görülen genetik değişiklikler (10).

Gastroözofageal Adenokarsinom		Özofagus Skuamöz Karsinomu	
Gen	Değişim Frekansı (%)	Gen	Değişim Frekansı (%)
<i>TP53</i>	14-59	<i>TP53</i>	60-93
<i>PIK3CA</i>	7-36	<i>CCND1</i>	33-46
<i>CDH1</i>	4-36	<i>CDKN2A</i>	12-47
<i>ERBB2 (HER2)</i>	2-32	<i>KRAS</i>	5-27
<i>ARID1A</i>	8-27	<i>FAT1</i>	14-27
<i>PTEN</i>	0-27	<i>KMT2D</i>	19-26
<i>KRAS</i>	0-27	<i>EGFR</i>	6-24
<i>RHOA</i>	0-23	<i>TERT</i>	0-22
<i>APC</i>	3-14	<i>NOTCH1</i>	9-19
<i>ERBB3</i>	0-10	<i>RB1</i>	0-11
<i>CTNNB1</i>	2-9	<i>PIK3CA</i>	4-10
<i>MET</i>	0-9	<i>MYC</i>	0-9
<i>FBXW7</i>	2-6		
<i>SMAD4</i>	4-6		
<i>EGFR</i>	0-6		
<i>NRAS</i>	0-5		
MSI^a	22-23		

^a MSI spesifik bir gen değil, genellikle deoksiribonükleik asit onarım genlerindeki mutasyonlarla ilişkilendirilen bir deoksiribonükleik asit değişiklikleri modelidir.

2.1.3. Özofagus kanserinin histopatolojik sınıflandırılması

Özofagus malignitelerinin çoğu ya skuamöz hücreli karsinom (SHK) ya da adenokarsinom (AK) olmak üzere farklı anatomik bölgeler, çevresel risk faktörleri, doğal seyir ve tedavi sonuçları ile ilişkili 2 ayrı kategoride incelenir (11). Özofageal SHK, ağırlıklı olarak özofagusun üst üçte ikisinden kaynaklanır ve risk, kronik tütün ve alkol kullanımı ile artar. Buna karşılık özofageal AK, distal özofagusta gastroözofageal bileşke'ye (GÖB) yakın bir yerde ortaya çıkma eğilimindedir ve kronik asit reflüsü ve Barrett özofagusu ile ilişkilidir (12). Histopatolojik olarak, SHK epitelyal displazinin karsinoma in situ'ya ve nihayetinde invaziv hastalığa ilerlemesinden gelişir (13), AK ise intestinal metaplazi zemininde ortaya çıkar ve Lauren intestinal tip gastrik AK'da görülen büyüme modeline paralel seyredir (14). Bu iki ana hastalık kategorisinin farklı

davranışları, özofageal SHK ve AK'un hem araştırma amacıyla hem de klinik yönetimde farklı antiteler olarak düşünülmesinin gerekip gerekmediği konusunda tartışmalara yol açmıştır (12,15).

2.1.4. Özofagus skuamöz hücreli karsinomunun moleküler özellikleri

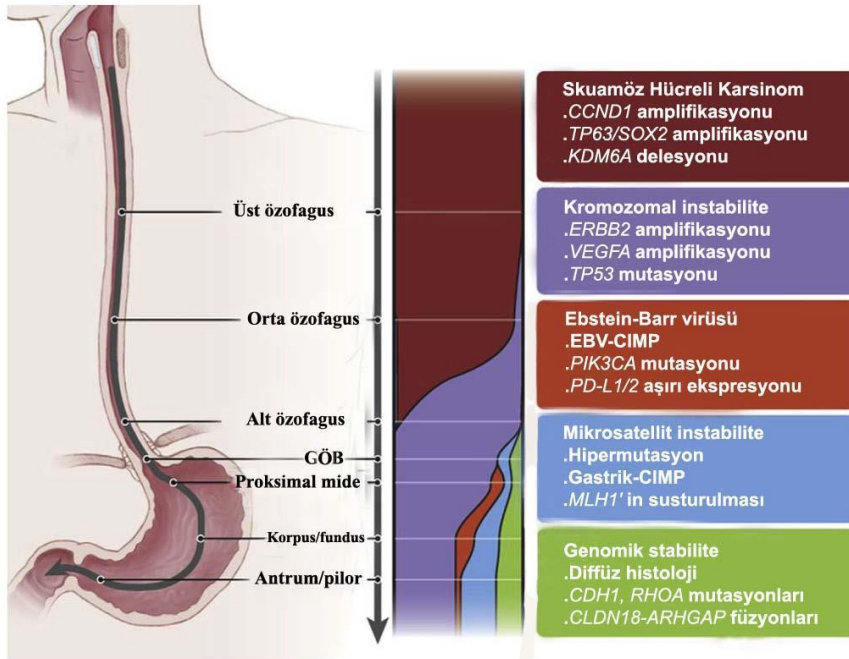
Tümör baskılayıcı genler *TP53* ve *NOTCH1*'in fonksiyon kaybına neden olan mutasyonlar ile AKT sinyal yolu geni *PIK3CA*'daki aktive edici mutasyonlar dahil olmak üzere, özofageal SHK'da birkaç güncel mutasyon rol oynamaktadır (16). 2014 yılında yüksek verimli teknolojileri kullanarak 139 özofagus SHK hastasında yapılan bir çalışma, daha önce tanımlanan bu genleri doğruladı ve *FAT1*, *FAT2*, *ZNF750* ve *KMT2D* dahil olmak üzere önceden bilinmeyen bir grup mutasyona uğramış gen keşfetti (17). FAT protein ailesi, hem hücre-hücre adezyonunda hem de hücre-hücre sinyal iletiminde rol alan kaderin süper ailesine aittir. *KMT2D*, kromatinin yeniden şekillenmesinde görev alan histon metiltransferaz ailesinin içindedir. *ZNF750*, TP63 yolağındaki epitel farklılaşmasında rol alan bir transkripsiyon faktörüdür. Hem histon metiltransferaz hem de FAT kaderin ailelerinin bazı kanser türlerinde somatik mutasyonlar barındırdığı bilinmektedir (18).

2.1.5. Özofagus adenokarsinomunun moleküler özellikleri

Tümör supresör *TP53* ve onkogen *PIK3CA* gibi SHK grubunda kaydedilen aynı adayların bazıları dahil olmak üzere özofagus AK'unda çok sayıda somatik mutasyon bildirilmiştir (19). 2013 yılında 149 özofagus AK numunesi içeren WES çalışmasında, Dulak ve ark.ları, *TP53* ve *PIK3CA* varyantları yanı sıra önceden tanımlanmış diğer aday genler olan *CDKN2A*, *SMAD4* ve *ARID1A*'nın varlığını doğruladı (20). *PIK3CA*, alt grupları için terapötik inhibitörlerin ya klinik kullanım için onaylandığı ya da geliştirilmekte olduğu en sık mutasyona uğramış gen idi. *ELMO1* ve *DOCK2* mutasyonu ile ilişkili invazyon ve motilite artış potansiyelini doğrulayan fonksiyonel akış analizleri ile kromatini yeniden şekillendirme genlerindeki fonksiyon kaybı mutasyonları da (*SPG20*, *TLR4*, *ELMO1* ve *DOCK2*) yaygın bir şekilde gözlenmiştir.

2.1.6 Özofagus skuamöz hücreli karsinom ile adenokarsinom arasındaki genomik farklılıklar

Özofagus kanseri genomlarının yüksek verimli analizine yönelik son zamanlardaki ilgi, SHK ve AK arasındaki genomik farklılıklar hakkında daha fazla bilgi sağlamaktadır ve tedavi planlaması için klasik anatomik ve histopatolojik hususlardan daha bilgilendirici olabilir. 2017 yılında yapılan bir çalışmada, Kanser Genom Atlası (The Cancer Genome Atlas – TCGA) Araştırma Grubu, hem SHK hem de AK dahil olmak üzere 164 özofagus karsinomunun kapsamlı bir moleküler analizini gerçekleştirdi (21). Özofagus SHK'unun moleküler özelliklerinin özofagus AK'undan ziyade baş ve boyun SHK'ununkine daha yakından benzediğini belirttiler (Şekil 2.2). SHK'lar, AK'lardaki CDH1 ve ilgili düzenleyici yollarda (ARF6 ve FOXA) artan sinyal iletiminin aksine, Wnt, sindekan ve p63 yollarında artış göstermiştir. Özellikle, ERBB2, SHK'ların yalnızca %3'üne kıyasla AK'ların %32'sinde değişmiştir. CDKN2A'nın susturulması, her iki tümör tipinin %76'sını etkileyen yaygın bir olaydı, ancak mekanizma değişti; SHK'ların çoğu delesyon yoluyla susturulurken, AK'daki aktivite, epigenetik susturma (silencing), delesyon ve yanlış anlam (missense) mutasyonunun bir kombinasyonu nedeniyle kaybedildi.



Şekil 2.2. Gastroözofageal karsinomların genomik alt tiplerinin anatomik ilişkisi. **GÖB:** Gastroözofageal bileşke, **CIMP:** CpG adacığı metilatör fenotipi (21).

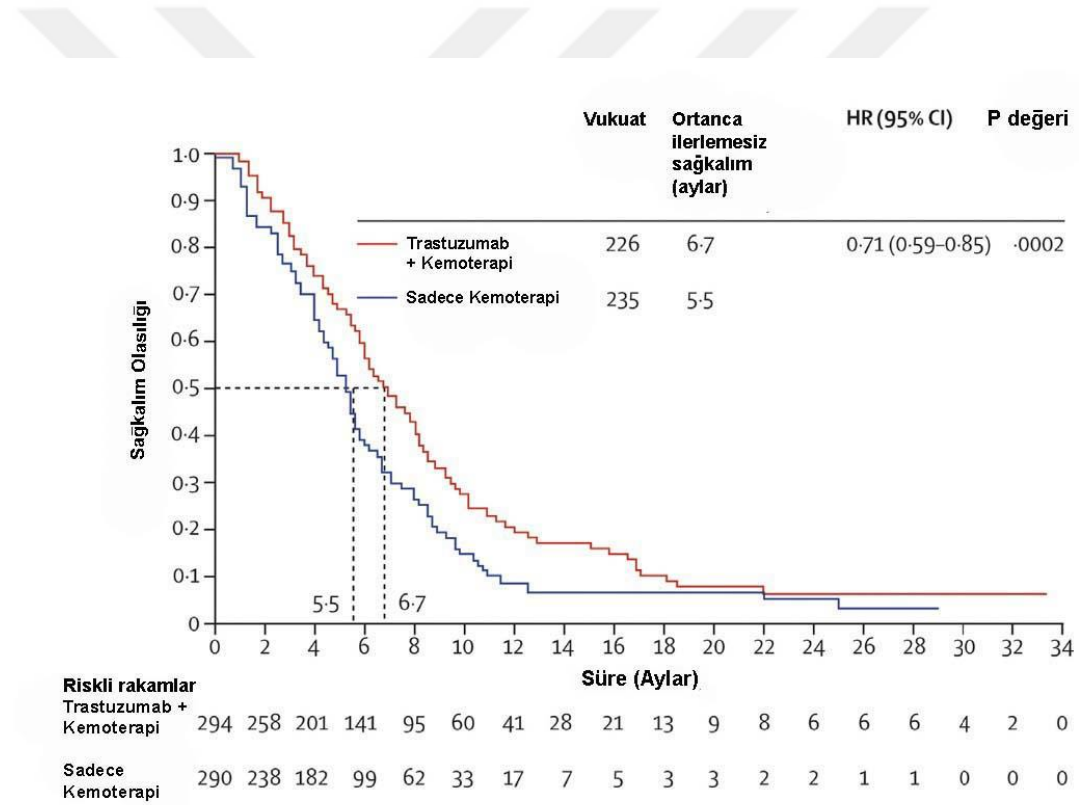
Farklı anatomik bölgelerdeki AK'lar arasındaki genomik ilişkiyi araştırmak için TCGA çalışması, GÖB'ye uzanan 359 mide AK'u ve 36 tümörü de çalışmaya dahil etmiştir. Özofagus AK'unun moleküler profili, mide AK'unun kromozomal olarak kararsız varyantıninkine (kromozomal instabilite (chromosomal instability - CIN) alt tipi) benzer bulunmuş olup bu durum 2 farklı kanser türü arasında belirsiz bir genomik sınırı vurgulamaktadır. Epigenetik analiz, özofagus tümörlerinde ve daha proksimal GÖB tümörlerinde, daha yüksek bir CDKN2A susturma insidansı dahil, hipermetilasyona eğilim artışı göstermiştir. Genel olarak, bu kapsamlı analizden elde edilen bulgular, özofagus kanserleri ve kromozomal instabil (CIN) mide kanserlerinin oldukça benzer kanser türleri olarak düşünülmesi gerektiğini göstermektedir. Buna karşılık, özofageal SHK ve özofagus AK, 2 farklı hastalık olarak tedavi edilmesi daha uygundur ve klinik çalışmaların amaçları doğrultusunda tek bir hastalıkmiş gibi düşünülmemelidir.

2.1.7. Özofagus kanserlerinde hedefe yönelik tedavi

Mide ve özofagus kanserlerinin moleküler özelliklerinin karşılaştırmalı analizi, pek çok potansiyel onkojenik etkeni gösteren modelleri de tanımlamıştır. Bu yüksek çözünürlüklü genomik ölçümler, klasik histopatolojik sınıflandırıcıları tamamlar ve bilinen hedeflere dayalı mantıksal tedavi planlamasını araştırmak için bir temel sağlar. Daha da önemlisi, ortak onkojenik yolları paylaşan tümör tipleri için bile, bozulmaya yol açan etkilerin doğası sıklıkla değişir, bu ise genomik değişimin spesifik fonksiyonel mekanizmaları için geliştirilmiş terapötik yaklaşımlara gereksinim olduğunu düşündürebilir. Örneğin, kromatin modifiye edici enzimler hem özofageal SHK'da hem de özofagus AK'unda ortak bir hedefti, fakat spesifik etkilenen genler tümör tipine göre değişiyordu. İlaveten, CDKN2A'yı susturma, SHK'da delesyon yoluyla, ancak AK'da başlıca epigenetik susturma olmak üzere pek çok mekanizmalar aracılığıyla olmuştur (21).

Mide AK'u ve özofagus AK'unun bireyselleştirilmiş tedavilerindeki ilk gelişmeler arasında HER-2 ekspresyon artışı gösteren tümörlerin spesifik olarak hedeflenmesi olmuştur. Diğer ErbB ailesi reseptörleri ile heterodimerizasyon yoluyla HER-2, RAS-MAPK ve PI3K-ALT yollarını aktive eder. Bu tümörlerde bildirilen HER-2 çoğaltım (amplifikasyon) oranı, ortalama olarak bildirilen %17,9'luk bir insidans (%4,4 ila %53,4 aralığında) ile literatürde geniş ölçüde değişiklik gösterir (22).

2010'da yapılan bir faz 3, randomize kontrollü çalışma olan Mide Kanseriinde Trastuzumab (Trastuzumab for Gastric Cancer - ToGA) çalışması, HER2 ekspresyon artışı gösteren metastatik mide veya GÖB tümörleri için tek başına kemoterapiye kıyasla kemoterapi ile kombine edilmiş trastuzumab ile ortalama sağkalım süresinde bir artış göstermiştir (13.8 aya karşı 11.1 ay) (23); ancak, güncellenmiş sağkalım analizinde tedaviye yanıt kalıcı olmamıştır (Şekil 2.3). Bu ilk veriler, halen devam etmekte olan birkaç ilave çalışmaya öncülük etmiştir (24). Her geçen gün artan sayıda çalışmalar sayesinde, tıpkı meme kanserinde olduğu gibi hekimlerin HER-2 amplifikasyon testini özofagus ve mide malignitelerinde de standart tedavinin bir parçası haline getirmesi önemlidir.



Şekil 2.3. Metastatik mide kanseri için hedefe yönelik tedavi (trastuzumab) ile tedavi edilen hastalarda, hastalık ilerlemesinin olmadığı sağkalım. HR, hazard ratio (risk katsayısı) (23).

Bir başka hedefe yönelik tedavi, vasküler endotelial büyüme faktörü sinyal yolağının bir antagonisti olan monoklonal antikor ramucirumab şeklinde gelmiştir. REGARD çalışması, birinci basamak kemoterapiden sonra hastalıkta artış gösteren ileri

evre mide kanseri hastalarında genel sağkalımda iyileşme (ortalama 5.2 aya karşı 3.8 ay) gösteren bir faz 3 randomize kontrollü çalışma idi (25). RAINBOW çalışmasında, paklitaksel ile kombine ramucirumab da, tek başına paklitaksele göre ortalama genel sağkalımda bir iyileşme göstermiştir (7.4 aya karşı 9.6 ay) (26). Bevacizumab, mide AK'u ve GÖB AK'unda (27) umut verici ilk sonuçlar gösteren, vasküler endotelial büyüme faktörüne karşı başka bir monoklonal antikordur; ancak, bilhassa başta hayatı tehdit edici hemoptizi olmak üzere akciğer SHK çalışmalarında görülen ağır toksisite nedeniyle özofageal SHK'da geniş kapsamlı bir şekilde çalışılmamıştır (28).

Hedefe yönelik tedavi için umut verici bir yol, gelişmekte olan immünoterapi alanındadır. Programlanmış hücre ölümü proteini 1 (PD-1), başlıca aktive T hücrelerinde eksprese edilen bir reseptör olup ligandlarına [programlanmış hücre ölümü ligand-1 (PD-L1) ve programlanmış hücre ölümü ligand-2 (PD-L2)] bağlanarak antitümör bağışıklığın baskılanması dahil immun yanıtın azalmasına yol açar. Daha önce tartışıldığı gibi, yanlış eşleşme onarım (mismatch repair - MMR) hataları veya MSI nedeniyle yüksek mutasyon yüküne sahip tümörlerin vücuda yabancı antijenleri eksprese etme potansiyelinde artış vardır ve immun kontrol noktası blokajına karşı duyarlı olacağı varsayılmaktadır (6). Bu önermeye dayanan 2017 yılına ait bir çalışma, anti-PD-1 monoklonal antikoru olan pembrolizumab'ı, özellikle kolorektal kökenli olmak üzere yanlış eşleşme onarımı yetersiz olan tümörler ile yanlış eşleşme onarımı yeterli olan tümörleri birbirleriyle karşılaştırarak test etmiştir. Bu çalışma, yanlış eşleşme onarım yetersizliğinin, immun kontrol noktası blokajına bir yanıtla ilişkili olduğunu gösterdi ve 12 farklı tümör tipinin kullanıldığı bir takip çalışması, bu bulgunun doku orijininin bağımsız olduğunu gösterdi (6,29). Faz 1b KEYNOTE-012 çalışması, pembrolizumab'ı PD-L1 pozitif nüks veya metastatik mide AK'larında ve GÖB AK'larında test etti (30). Daha çok sayıda faz 2 ve faz 3 çalışmalar devam ederken toksisite profili kabul edilebilir olarak sayıldı ve antitümör aktivite yeterince umut vericiydi. Anti-CTLA-4 (Anti-Sitotoksik T-Lenfositle İlişkili Protein-4) monoklonal antikorlar şeklindeki immün kontrol noktası inhibisyonu da mide ve GÖB kanserlerinde araştırılmış olup bugüne kadar az sayıda çalışma yapılmış ve hayal kırıklığı yaratan sonuçlar alınmıştır (31).

Hastaların yalnızca küçük bir kısmında bir yanıtın elde edildiği bu hedefe yönelik tedaviler, en iyi ihtimalle orta derecedeki ilerlemeleri temsil etmektedir, ancak

yüksek verimli moleküler çalışmalar sayesinde hazırlanan daha yeni sınıflandırma şemaları, fayda görmesi en olası tümör alt tiplerini bize gösterebilir. Örneğin, TCGA çalışmasında tanımlanan Epstein-Barr virüsü (+) mide alt tipi, yüksek düzeylerde PD-L1/L2 ekspresyonu göstermiştir. Bu hasta grubu anti-PD-1 monoklonal antikorlarla hedefe yönelik tedavi için en uygun hasta grubu olabilir (21).

2.1.8. Genel Çıkarımlar

Son yıllarda, hem özofagus kanserlerinin hem de mide kanserlerinin ağırlıklı olarak görüldükleri anatomik yerleşim yerinde bir değişim olduğundan bu durum distal özofagus AK'ları ile proksimal mide AK'larının yüzdesinde büyük bir artışla sonuçlanmıştır. Tümör yerleşimi ve histolojisindeki bu evrim, özofagus AK'u ve mide AK'unun birlikte gruplandırılmasının daha doğru olabileceğini ve özofageal SHK'un ayrı bir hastalık antitesi olarak düşünülebileceğini göstermektedir. Yüksek verimli dizileme teknolojilerinden türetilen moleküler alt sınıflandırmaya dayalı yeni sınıflandırma sistemleri, bu görüşe güçlü destek sağlamaktadır.

Mide ve özofagus kanserlerinin altında yatan moleküler yollara ilişkin bilgi artmaya devam ettikçe, bu anlayışı klinik olarak anlamlı ilerlemelere dönüştürmenin etkili yollarını bulma baskısı da artmaktadır. YND teknolojisinin doğuşuyla, tümör oluşumuna yol açan bildiğimiz bazı faktörler doğrulanmış ve çok sayıda başkaca aday genler tanımlanmıştır. Tüm genomun aynı anda değerlendirilebilmesi, bireysel genomik hataların, bu genlerin katkıda bulundukları yollar içinde ele alınmasına imkan vererek, başkaca potansiyel terapötik hedefler için yollar açacaktır. Tümörlerin moleküler olarak daha gelişmiş sınıflandırılmaları ve daha çok biyobelirteçlerin keşfedilmesi, daha fazla bireyselleştirilmiş tedavi kararlarına rehberlik etme potansiyeli taşır, ancak bu tümör gruplarının moleküler temellerine ilişkin yeni görüşleri klinik pratiğe dönüştürmede pekçok zorluk halen devam etmektedir. Klinik uygulama şekillerinin değişmesi yavaş olsa da, hastaların tümörlerinde klinik uygulamada giderek artan bir şekilde sekanslama analizinin yapılması yadsınamaz bir gerçektir. Cerrahlar, tek genlerden veya küçük gen panellerinden elde edilen gen mutasyon verilerini tedavi algoritmalarına entegre etme konusunda artık rahat hale gelmiştir. Araştırılmakta olan genlere ait panellerin durmaksızın büyümesiyle birlikte, pratik şemaların kanser genomisinin güncel durumuyla uyumlu olması ve hastaların bu gelişmelerden

potansiyel faydalar görmesi için yüksek verimli teknolojilerin temel kavramları konusunda yeterli bilinci kazanmak cerrahların üzerine düşen bir görevidir.

2.2. ÖZOFAGUS KANSERLERİ İLE İLİŞKİLİ GENETİK

2.2.1. Hücre döngüsünü veya farklılaşmasını düzenleyen genler

Yüksek verimli dizileme teknolojisi kullanılarak yapılan kapsamlı mutasyon kataloglarının analizleri, SHKda geniş çaplı genomik değişiklikler tespit etmiştir. Tüm genom dizileme, tüm ekzom dizileme ve dizi karşılaştırmalı genomik hibridizasyon, SHK'ların %83'ünden fazlasının TP53'te somatik bir mutasyon içerdiğini ortaya koymuştur (32). Hücre döngüsünü kontrol eden (CDKN2A, RB1, NFE2L2, CHEK1 ve CHEK2) veya farklılaşmayı deneyimleyen (NOTCH1 ve NOTCH3) genlerdeki mutasyonlar SHK'ların %2-10'unda bulunmuştur (33). Ayrıca, hücre döngüsünü kontrol eden birçok gen de SHK'larda aşırı eksprese edilir (vakaların %46,4'ünde CCND1, vakaların %23,6'sında CDK4/CDK6 ve vakaların %5,7'sinde MDM2), bu da SHK gelişimindeki varlıklarını gösterir (32).

Hücre döngüsü ilerlemesinde, P16/INK4A proteini RbE2F kompleksini hiperfosforile etmek için siklin D-CDK4/6 komplekslerini inhibe eder. Rb geni hiperfosforile olduğundan, E2F transkripsiyon faktörleri serbest kalır ve DNA replikasyonuna yol açar (34). S795, S780 ve T356'nın spesifik Rb fosforilasyon bölgeleri araştırılmıştır. Doku lizatlarında, normal skuamöz özofagus dokularına kıyasla özofagus AK'unda her üç pozisyonda da daha yüksek oranda Rb fosforilasyonu vardı (34). Ayrıca, çeşitli hücre tiplerinde hücre döngüsü ilerlemesini düzenleyebilen B-hücre translokasyon geni 3 (BTG3) tarafından kodlanan protein rapor edilmiştir (35). Özofagus AK'u hastalarında BTG3 ekspresyonu, komşu normal dokularla karşılaştırıldığında tümör dokularında önemli ölçüde azalmış ve seviyesinin lenf nodu metastazı ve tümör evrelemesi ile korele bulunmuştur (36).

2.2.2. Epidermal büyüme faktörü reseptörü ve reseptör tirozin kinaz veya RAS sinyali

Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) SHK hastalarının %59,6-76'sında aşırı eksprese edilir ve bu da kötü prognozla ilişkilidir (37). Ayrıca, SHK hastalarının

%78,6'sında reseptör tirozin kinaz, RAS ve AKT yolları dahil olmak üzere EGFR'nün aşağı akış faktörlerinde mutasyonlar ve/veya amplifikasyonlar vardır (32). Başka bir klinik çalışmaya, EGFR ekspresyonu ve gen amplifikasyon durumları değerlendirilen 193 SHK hastası alınmıştır. Sonuçlar, hastaların %49,2'sinin EGFR aşırı ekspresyonu sergilediğini ve bunun klinik evre ve lenf nodu metastazı ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu göstermiştir (38).

2.2.3. Vasküler endotelyal büyüme faktörü sinyal yolağındaki genetik faktörler

Anjiyogenez, karsinogenez için bir ön koşuldur ve tümör büyümesi için besin kaynağını artırarak tümör invazyonu ve metastaz olasılıklarını artırma fırsatı sunabilir. İmmünohistokimya ile tespit edilen vasküler endotelyal büyüme faktörü-C (VEGF-C) ekspresyonunun düzeyi, 128 GÖB AK hastasında patolojik özellikler ve sağkalım oranı ile ilişkisi açısından değerlendirilmiştir. Tümör örneklerinin %75'i güçlü VEGF-C ekspresyonu göstermiştir. Tümör dokularındaki VEGF-C seviyeleri tümör evreleri, lenf nodu metastaz durumu ve daha yüksek VEGF-C seviyeleri ile daha kısa olaysız sağkalım süreleri ile ilişkilendirilmiştir (39). Özofagus AK'u hastalarında FLT1 geni (rs3794405) için her bir varyant alleli mortalite riskinde %45-60 oranında bir artış yarattı (40). VEGF 936 C > T polimorfizminin de özofagus AK'u ile korelasyon içinde olduğu bildirilmiştir. Toplam 102 AK hastası değerlendirilmiş ve sonuçlar 72 hastada vahşi tip CC alleli ve 30 hastada mutant tip CT/TT tespit edildiğini göstermiştir. Ortanca olaysız sağkalım CC için 29,3 ay ve CT/TT için 11,7 ay olmuştur. (41).

2.2.4. Epigenetik faktörler

Deoksiribonükleik asit metilasyonu, histon modifikasyonu ve genom imprinting kaybı gibi epigenetik değişiklikler, diğer tümörlerin yanı sıra SHK gelişiminde de ilişkilidir (42). SHK'da APC, RB1 ve CDKN2A promotör bölgelerinde hipermetilasyon tespit edilebildiği bildirilmiştir (43). p16'yı kopyalayan ve RB1'i düzenleyebilen CDKN2A'nın metilasyonu p53 aşırı ekspresyonu ile ilişkilidir (44). Bu hücre döngüsü düzenleyici yollar SHK'un ilerlemesini destekleyebilir. TP53, MDM21, CASP8 ve COX2 gibi genlerdeki polimorfizmlerin SHK gelişme riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. SHK'lu hastaların genom genelinde ilişkilendirme çalışmasına dayalı son analizleri, birkaç tek nükleotid polimorfizmi tespit etmiştir ve bunlar arasında SHK

riskini artırma ile güçlü bir şekilde ilişkili olan beş aday gen (TDG, MBL2, CASP8, PLCE1 ve UCP3) bulunmaktadır (45). Geçtiğimiz yıl, glutatyon peroksidaz 7'nin (GPX7) normal özofagus epitelini asidik safra tuzlarının neden olduğu oksidatif stres, oksidatif DNA hasarı ve çift sarmal kırılmalarından koruma yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir (46). Bir HET1A hücreleri çalışmasında, GPX7 ekspresyonunun azaltılmasının ardından p73, p27, p21 ve p16 ekspresyonu azalmış ve Rb geni hiperfosforile olmuştur. Bir özofagus AK'undan alınan GPX7 promotör bölgesinin (-162'den +138'e kadar) sentez ile dizileme (pyrosequencing) testi, CpG +13 ve +64 bölgeleri arasında lokasyona özgü hipermetilasyon olduğunu göstermiştir (47). Özofagus AK'unun erken evresinde, siklin E1 geni tarafından kodlanan siklin E, tümör ilerlemesinde önemli bir rol oynamıştır. Toplam 116 özofagus AK'u hastasından elde edilen tümör dokuları tek nükleotid polimorfizm DNA mikrodizisi ile analiz edilmiştir. Sonuçlar, özofagus AK'u hastalarının %19'unun CCNE1 geninde amplifikasyon gösterdiğini ortaya koymuştur. Siklin E protein ekspresyonunda, yüksek siklin E seviyesi Barrett özofagusunda %5,8, düşük dereceli displazide %19, yüksek dereceli displazide %35,7 ve özofagus AK'unda %16,7 olarak bulunmuştur (48).

3. MATERYAL ve METOD

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 05.06.2020 tarih ve 28/100/05.06.2020 sayılı iznin alınmasının ardından çalışmaya 2010 - 2020 yılları arasında özofagus kanseri tanısıyla endoskopik biyopsi ve cerrahi tedavi uygulanan hastalar alındı. Olguların yaş, cinsiyet, klinik evre gibi klinik verileri dijital sistemde bulunan hasta bilgilerinden ve hasta dosyalarından; tümör lokalizasyonu, tümör boyutu gibi makroskopik verileri ise dijital sistemde bulunan hastalara ait patoloji raporlarından derlendi.

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği'nde histopatolojik olarak tanısı doğrulanmış kanser için küratif veya palyatif amaçlı özofagus cerrahisi uygulanan hastalar prospektif olarak kaydedilen veritabanından belirlenmiştir. FFPE tümör dokuları, YND yoluyla 20 gende AKT1, ALK, BRAF, DDR, ERBB2, ESR1, KIT, KRAS, MAP2K1, NRAS, NTRK, PDGFRA, PIK3CA, PTEN, ROS1, Amplifikasyonlar: RICTOR, EGFR, MET, FGFR1, ERBB2 genlerinde uygulanabilir değişkenler açısından analiz edildi.

Hastalar varyant durumuna göre gruplanmış olup gruplarda olgulara ait demografik veriler, histopatolojik tanı, tümör lokalizasyonu, tümör çapı, tümör derecesi (grade), tümör invazyon derinliği, lenfovasküler invazyon varlığı, perinöral invazyon varlığı, patolojik evre, lenf nodu metastazı, operasyon şekli ve neoadjuvant tedavi durumu incelendi.

3.1. ÖRNEKLEME

Genel Cerrahi Kliniği tarafından moleküler test talep edilen hastalardan alınmış tümör örnekleri analiz sonuçlarına ait veriler prospektif olarak toplandı. DNA, QIAamp FFPE doku kiti (Qiagen, Hildenberg, Almanya) kullanılarak FFPE tümör örneklerinden ekstrakte edildi. Daha önce tümör alanını belirleyen ve tümör yüzdesini ve tümör nekroz yüzdesini değerlendiren bir patolog tarafından incelenen aynı bloktan hematoksin ve eozin boyalı slaytlar, somatik varyant yorumu için bir kılavuz olarak kullanıldı. Elde edilen DNA, Qubit® dsDNA HS test kiti (Life Technologies, Gent, Belçika) ile birlikte Qubit® florometre kullanılarak ölçüldü.

3.2. YENİ NESİL DİZİLEME

Optimize edilmiş YND iş akışı daha önce tarif edildiği üzere gerçekleştirildi (49). Kısaca, AKT1, ALK, BRAF, DDR, ERBB2, ESR1, KIT, KRAS, MAP2K1, NRAS, NTRK, PDGFRA, PIK3CA, PTEN, ROS1, Amplifikasyonlar: RICTOR, EGFR, MET, FGFR1, ERBB2 dahil 20 gende hedeflenmiş sıcak nokta bölgelerini sıralamak için 40 ng DNA PCR ile zenginleştirildi. Daha sonra sekanslama aşaması için hazırlanan numuneye özgü barkodlar ve belgeler etiketlendi. Her adımın sonunda kapiller jel elektroforezi ile kalite kontrolü yapıldı. İş akışının sonunda, yeni nesil GeneReader YND sistemi (Qiagen, Hildenberg, Almanya) ile hazırlanmış örnekler dizilendi. Ham verileri ve dizilenen verilerin kalite kontrolü varyant yorumlanmasından önce değerlendirildi. Uygun sekanslama verilerine sahip örnekler, QCI-A yazılımı (Qiagen, Hildenberg, Almanya) kullanılarak somatik varyant analizinden geçirildi. Tüm dizilenmiş numuneler en az $\times 500$ kapsama sahip idi. QCI-I biyoinformatik araçlarındaki tüm hedeflenebilir varyantlar için biyoinformatik analizleri yapıldı. Yorumlar sırasında COSMIC (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer), NCCN (National Comprehensive Cancer Network), ESMO (European Society for Medical Oncology), FDA (US Food and Drug Administration), ASCO (American Society for Clinical Oncology), EMA (European Medicines Agency), ve PMDA (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency) gibi çeşitli veritabanları ve kılavuzlar kullanıldı.

Yapılan çalışmada, çoklu gen panelinin laboratuvar uygulaması, örnek temininden sonra DNA izolasyonu, hedef zenginleştirme, kütüphane oluşturulması, klonal amplifikasyon ve dizilemeden oluşmakta olup, klinik uygulamaya yönelik kısmı da data ve varyant analizi ile biyoinformatik analiz aşamalarından oluşmakta olup aşağıda detaylandırılmıştır.

3.2.1. DNA İzolasyonu

Çalışmanın ilk aşaması olan DNA izolasyonu, FFPE DNA izolasyon kiti (Qiagen GeneReader FFPE kiti) kullanılarak, izolasyon cihazında (Qiagen QIAcube) yapıldı. Bu aşamada FFPE materyalinden genomik DNA elde edilip, elde edilen genomik DNA florometrik DNA ölçüm cihazı (Qubit 3.0, ThermoFisher) ile ölçülerek, yeterli DNA elde edilen örnekler bir sonraki aşamaya aktarıldı.

3.2.2. Hedef Zenginleştirme

Hedef zenginleştirme aşaması, elde edilen genomik DNA'dan sekans yapılması istenilen bölgenin primer yardımı ile PCR yapılarak elde edilip çoğaltılması, saflaştırılması ve kalite kontrolünün yapılmasını içermektedir. Hedef zenginleştirme aşamasından önce, kullanıcıya yönelik hazırlanan protokollerde Quantimize kiti (Qiagen) ile RotorGene cihazı (Qiagen) kullanılarak kalite kontrolü yapılması öngörüldü.

Hedef zenginleştirme aşamasında kullanılan PCR prosedürü Tablo 3.1'de özetlenmiştir.

Tablo 3.1. Hedef zenginleştirme aşamasında kullanılan polimeraz zincir reaksiyonu prosedürü

Zaman	Sıcaklık	Döngü
15 dakika	95°C	1
15 saniye 4 dakika	95°C 60°C	26
10 dakika	72°C	1
Bekleme	4°C	∞

3.2.3. Kütüphane oluşturulması

Dizilenen DNA'ların sekans cihazı tarafından tanınması ve örneklerin birbirinden ayırt edilmesini sağlamak amacıyla hedef zenginleştirme yapılan, uzunlukları belli olan DNA parçalarına adaptör denilen, dizisi ve sayısı bilinen nükleotid dizileri eklendi. Her örnek tüpüne farklı diziye sahip nükleotid parçaları eklendiğinden her örneğe özgü, dizisi bilinen bir DNA bölgesi oluşturularak her bir örneğin bu bölgeler sayesinde birbirinden ayırt edilmesi sağlandı. Böylelikle bu çalışmaya özel bir kütüphane oluşturuldu.

Kütüphane oluşturulması aşamasında kullanılan PCR prosedürü Tablo 3.2'de özetlenmiştir.

Tablo 3.2. Kütüphane oluşturulması aşamasında kullanılan polimeraz zincir reaksiyonu prosedürü

Zaman	Sıcaklık	Döngü
15 dakika	95°C	1
30 saniye	94°C	10
30 saniye	52°C	
30 saniye	72°C	
5 dakika	72°C	1
Bekleme	4°C	∞

3.2.4. Klonal Amplifikasyon

Kütüphanesi oluşturulan örnekler, primer yüklenmiş boncuklara bağlanarak PCR ile klonal olarak çoğaltıldı. Ayrıca bu aşamada boncuk-DNA birleşiminin çevresine lipid bir kılıf oluşturulup lipid damlacık oluşumu sağlandı.

Klonal amplifikasyon aşamasında kullanılan PCR prosedürü Tablo 3.3’de özetlenmiştir.

Tablo 3.3. Klonal amplifikasyon aşamasında kullanılan polimeraz zincir reaksiyonu prosedürü

Zaman	Sıcaklık	Döngü
6 dakika	94°C	1
15 saniye	94°C	60
30 saniye	57°C	
60 saniye	70°C	
2 dakika	72°C	1
Bekleme	4°C	∞

3.2.5. Dizileme

Bu aşamada, yeterli konsantrasyonda olan örnekler, ön işlemlerden geçirildi. Dizileme cihazına ait solüsyonlar hazırlanıp flowcell'e (ölçüm kamarasına) yükleme yapıldı. Gerekli inkübasyon sonrası, flowcell'ler cihaza yüklenerek dizileme işlemi gerçekleştirildi.

3.2.6. Data Analizi ve Varyant Tespiti

Data analizi öncesi verilerin kalite kontrolü yapılarak yeterli kalitedeki veriler seçildi. Seçilen veriler ilgili genin referans genomu ile karşılaştırılarak varyant tespiti yapıldı. Dizileme işleminin sorunsuz olduğu kontrol edilip varyant seçimleri ilgili uzmanlarca titizlik ile yapıldıktan sonra çalışmanın en önemli aşaması olan, seçilen varyantların klinik öneminin değerlendirildiği biyoinformatik analize geçildi.

3.2.7. Biyoinformatik Analiz

Varyant analizinde seçilen varyantların, hastada yol açtığı klinik etkiye göre sınıflandırılması ve değerlendirilmesi, ayrıca tedavi sürecine etki edebilecek durumların araştırılması ve hastalığın tanısının kesinleştirilmesi biyoinformatik analizler ile yapıldı. Varyantların sınıflandırılmasında ACMG'nin (American College of Medical Genetics and Genomics) 2015 yılında yayımladığı ve bütün dünyaca kabul edilen kılavuzu kullanıldı. In-siliko analiz araçları da biyoinformatik analizin önemli bir parçası olup bu çalışmada, varyantların genel etkileri için CADD ve Mutation Taster; varyantların protein düzeyindeki etkileri için PolyPhen, SIFT, B-SIFT; varyantların bulundukları gen bölgelerindeki korunmuşluk düzeyi için BLOSUM, QCI Inferred Activation, PhyloP; ve varyantların, genlerin kesim bölgelerindeki etkileri için MaxEntScan ve Gene Splicer in-siliko analiz araçları kullanıldı. Bu analizlerde, QCI Analyze analiz aracı kullanılarak seçilen varyantlar analiz aracına (QCI Interpret) yüklendi. Bu araç üzerinden yapılan analizler HGMD (Human Gene Mutation Database), COSMIC (Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer), ClinVar, NCBI (National Center for Biotechnology Information), ExAC (The Exome Aggregation Consortium), 1000 Genome Frequency, ESP (Exome Sequencing Project), Ancestry, Ingenuity Knowledge Base, OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) veri bankaları ile karşılaştırmalı olarak ilgili uzmanlarca yapıldı. Daha sonra analizi tamamlanan örneklerin raporlama aşamasına geçildi. Tespit edilen bulgular doğrultusunda, ACMG kılavuzuna göre uluslararası kriterlere uygun olarak bu

alandanda tecrübeli ve projede araştırmacı görevi olan Tıbbi Genetik Uzmanı tarafından klinik raporlama yapıldı.

3.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Araştırmada yer alan vakaların sonuçları SPSS 25.0 programında analiz edilmiştir. Kategorik değişkenlere göre sayısal parametrelerin karşılaştırmasında Mann-Whitney *U* testi kullanılmıştır. İki kategorik değişkenin karşılaştırmasında ki-kare testi ile kullanılmıştır. Testte beklenen frekansı 5'ten az olan bölme sayısı %20'yi geçtiği durumlarda kategorilerde birleştirme sağlanamadığı durumlarda Likelihood ratio (olabilirlik oranı) değerine göre karar verilmiştir. İkili kategorilerin karşılaştırmasında ise Fisher's exact test (Fisher kesin testi) sonuçları dikkate alınmıştır. Tüm istatistiksel testlerde ($\alpha=0,05$) olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. GENEL ÖZELLİKLERİN TANIMLAYICI YÜZDELİK ORANLARI

Hastaların demografik özelliklerinin frekans ve yüzdelik dağılımları Tablo 4.1’de verilmiştir. Buna göre, hastaların %55,3’ü erkek, %44,7’si ise kadındı ve %29,4’ünde örnekleme yöntemi cerrahi spesimenden iken, %70,6 oranında ise endoskopik biyopsi idi. Operasyonlar ise %30,6 oranında Orringer prosedürü , %13,9 oranında McKeown prosedürü, %25 oranında Ivor-Lewis prosedürü ve %30,6 ise beslenme tüpü yerleştirilmesi şeklinde dağılım göstermiştir. Vakaların %49,4’ünde varyant tespit edilmiştir. Tümör patolojisinin %75,3 SHK ve %24,7 AK olduğu görülmektedir. Vakaların %47,1’inde varyant türü patojen değildir. Tümör lokalizasyonu ise %23,5 servikal, %8,6 üst torasik, %22,2 orta torasik, %25,9 alt torasik, ve %19,8 abdominal yerleşim şeklindedir. Vakaların %13,3’ü uT2 , %73,3’ü uT3 ve %13,3’ü ise uT4 evresindedir. uN0 evresi %26,7 iken, uN1 evresi ise %73,3 oranındadır. Vakaların evre dağılımı %16 evre 0, %4 evre 1A, %4 evre 1B, %4 evre 1C, %20 evre 2A, %20 evre 2B ve %32 evre 3B olarak tanımlanmıştır. Lenfovasküler invazyon (+) oranı %84,2, perinöral invazyon (+) oranı ise %53,8’dir.

Tablo 4.1. Hastaların demografik özelliklerinin frekans ve yüzdelik dağılımları

		<i>n</i>	%
Cinsiyet	Erkek	47	%55,3
	Kadın	38	%44,7
Örnekleme yöntemi	Cerrahi Spesimen	25	%29,4
	Endoskopik Biyopsi	60	%70,6
Operasyon	Orringer Prosedürü	11	%30,6
	McKeown Prosedürü	5	%13,9
	Ivor-Lewis Prosedürü	9	%25
	Beslenme tüpü	11	%30,6
Varyant durumu	Varyant yok	43	%50,6
	Varyant var	42	%49,4
Tümör patolojisi	SHK	64	%75,3
	AK	21	%24,7
Varyant patojenitesi	Patojenik değil	45	%52,9
	Patojenik	40	%47,1
Tümör lokalizasyonu	Servikal	19	%23,5

Tablo 4.1 (devam)

	Üst Torasik	7	%8,6
	Orta Torasik	18	%22,2
	Alt Torasik	21	%25,9
	Abdominal	16	%19,8
uT evresi	T2	2	%13,3
	T3	11	%73,3
	T4	2	%13,3
uN evresi	N0	4	%26,7
	N1	11	%73,3
Evre	0	4	%16,0
	1A	1	%4,0
	1B	1	%4,0
	1C	1	%4,0
	2A	5	%20,0
	2B	5	%20,0
	3B	8	%32,0
	4A	0	%0,0
Lenfovasküler İnvazyon	(-)	3	%15,8
	(+)	16	%84,2
Perinöral İnvazyon	(-)	6	%46,2
	(+)	7	%53,8

SHK: Skuamöz hücreli karsinom, **AK:** Adenokarsinom

uT: Endosonografik tümör evresi, **uN:** Endosonografik lenf nodu evresi

Hastaların varyant patojenitesine göre detaylı dağılımı Tablo 4.2’de verilmiştir. Buna göre, varyantların patojenite detayları incelendiğinde patojenik %55, VUS %12,5 ve muhtemel patojenik %7,5 idi. 1. ve 2. varyant patojenik %5, 1. varyant patojenik ve 2. varyant VUS %5, 1. varyant VUS ve 2. varyant patojenik %5, diğerleri ise %2,5 oranlarında olmak üzere; 1. ve 2. varyant muhtemel patojenik, 1. varyant patojenik ve 2. varyant muhtemel patojenik, 1. ve 2. varyant patojenik ve 3. varyant VUS, 1., 2. ve 3. varyant patojenik ve 4. varyant VUS şeklinde olduğu görülmüştür.

Tablo 4.2. Hastaların varyant patojenitesine göre detaylı dağılımı

Varyant Patojenitesi	n	%
Patojenik	22	55
VUS (Variant of Uncertain Significance – Klinik Önemi Bilinmeyen Varyant)	5	12,5
Muhtemel patojenik	3	7,5
1. Varyant patojenik; 2. Varyant patojenik	2	5
1. Varyant patojenik; 2. Varyant VUS	2	5
1. Varyant VUS; 2. Varyant patojenik	2	5
1. Varyant muhtemel patojenik; 2. Varyant muhtemel patojenik	1	2,5

Tablo 4.2 (devam)

1. ve 2. Varyantlar patojenik; 3. Varyant VUS	1	2,5
1., 2. ve 3. Varyantlar patojenik; 4. Varyant VUS	1	2,5

Varyantların yüzdelik dağılımı Tablo 4.3’de verilmiştir. Varyantların sayısal olarak dağılımında toplamda EGFR 9 adet, ERBB2 6 adet, FGFR1 3 adet, KRAS 8 adet, PIK3CA 17 adet, ALK 1 adet, CTNNB1 1 adet, ERBB4 2 adet, FBXW7 2 adet, MAP2K2 1 adet, MET 3 adet, NOTCH1 1 adet, SMAD4 2 adet, SOD2 1 adet, FGFR2 2 adet, FGFR3 1 adet, NRAS 1 adet ve ERBB3 1 adet olmak üzere kaydedilmiştir.

Tablo 4.3. Varyantların yüzdelik dağılımı

		Varyant 1		Varyant 2		Varyant 3		Varyant 4	
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Varyant Türleri	EGFR	5	%11,9	3	%18,8	1	%33,3	0	%0,0
	ERBB2	6	%14,3	0	%0,0	0	%0,0	0	%0,0
	FGFR1	2	%4,8	1	%6,3	0	%0,0	0	%0,0
	KRAS	5	%11,9	3	%18,8	0	%0,0	0	%0,0
	PIK3CA	12	%28,6	4	%25,0	1	%33,3	0	%0,0
	ALK	1	%2,4	0	%0,0	0	%0,0	0	%0,0
	CTNNB1	1	%2,4	0	%0,0	0	%0,0	0	%0,0
	ERBB4	1	%2,4	0	%0,0	1	%33,3	0	%0,0
	FBXW7	1	%2,4	1	%6,3	0	%0,0	0	%0,0
	MAP2K2	1	%2,4	0	%0,0	0	%0,0	0	%0,0
	MET	2	%4,8	1	%6,3	0	%0,0	0	%0,0
	NOTCH1	1	%2,4	0	%0,0	0	%0,0	0	%0,0
	SMAD4	1	%2,4	1	%6,3	0	%0,0	0	%0,0
	SOD2	1	%2,4	0	%0,0	0	%0,0	0	%0,0
	FGFR2	1	%2,4	1	%6,3	0	%0,0	0	%0,0
	FGFR3	1	%2,4	0	%0,0	0	%0,0	0	%0,0
	NRAS	0	%0,0	1	%6,3	0	%0,0	0	%0,0
	ERBB3	0	%0,0	0	%0,0	0	%0,0	1	%100,0

Hastaların sayısal verilerinin tanımlayıcı parametreleri Tablo 4.4’de verilmiştir. Hastaların yaş ortalaması 58,01±11,45 idi. Tümörün proksimal cerrahi sınıra olan

mesafe ortalaması $4,63 \pm 2,05$ cm, tümörün distal cerrahi sınıra olan mesafe ortalaması $5,55 \pm 3,54$ cm ve tümör çapı ortalaması $3,63 \pm 1,79$ cm olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.4. Hastaların sayısal verilerinin tanımlayıcı parametreleri

	mean (ortalama)	SD	minimum	maksimum
Yaş	58,01	11,4	29	86
Proksimal mesafe (cm)	4,63	2,05	1,5	10
Distal Mesafe (cm)	5,55	3,54	1	15
Tümör çapı (cm)	3,63	1,79	0,8	7,5

SD: Standard Deviation (Standart Sapma)

4.2. VARYANT OLUP OLMAMA DURUMUNA GÖRE YAPILAN KARŞILAŞTIRMALAR

Varyant varlığına göre yapılan araştırmada yer alan kategorik değişkenlerin karşılaştırması ki kare testi ile yapılmıştır. Testte beklenen frekansı 5'ten az olan bölme sayısı %20'yi geçtiği durumlarda kategorilerde birleştirme sağlanamadığı durumlarda likelihood ratio ki kare değeri kullanılmıştır.

Hastalarda varyant durumuna göre bulguların karşılaştırılması Tablo 4.5'de verilmiştir. Buna göre, varyant varlığına göre yapılan karşılaştırmalarda patojenite, operasyon, evre, lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon değişkenlerinde $p < 0,05$ bulunduğu anlaşılmıştır.

- Patojenitede, patojen olanların %75'inde varyant var, %25'inde varyant yoktur.
- Operasyon yöntemi olarak Orringer prosedüründe %72,7, McKeown prosedüründe %40, Ivor-Lewis prosedüründe %44,4 ve beslenme tüpü yerleştirilmesinde %54,5 oranında varyant söz konusudur.
- Evre 0 evresinde olanların %25'inde, 1A evresinin tamamında, 1C evresinin tamamında, 2B evresindekilerin %80'inde, 3B evresindekilerin %87,5'inde varyant olduğu anlaşılmaktadır.
- Lenfovasküler invazyon (+) olanlarda %75 varyant varken, (-) olanlarda varyanta rastlanmamıştır.

- Perinöral invazyon (+) olanların tamamında varyant varken, (-) olanlarda varyant %33,3 oranında tespit edilmiştir.

Tablo 4.5. Hastalarda varyant durumuna göre bulguların karşılaştırılması

		Varyant Durumu				p
		Varyant yok		Varyant var		
		n	%	n	%	
Cinsiyet	Erkek	20	%42,6	27	%57,4	0,099
	Kadın	23	%60,5	15	%39,5	
Örnekleme yöntemi	Cerrahi Spesimen	11	%44	14	%56	0,433
	Endoskopik Biyopsi	32	%53,3	28	%46,7	
Tümör patolojisi	SHK	33	%51,6	31	%48,4	0,754
	AK	10	%47,6	11	%52,4	
Varyant patojenitesi	Patojen değil	33	%73,3	12	%26,7	0,001**
	Patojen	10	%25	30	%75	
Tümör lokalizasyonu	Servikal	14	%73,7	5	%26,3	0,184
	Üst Torasik	2	%28,6	5	%71,4	
	Orta Torasik	9	%50	9	%50	
	Alt Torasik	9	%42,9	12	%57,1	
	Abdominal	7	%43,8	9	%56,3	
Operasyon	Orringer Prosedürü	3	%27,3	8	%72,7	0,024*
	McKeown Prosedürü	3	%60	2	%40	
	Ivor-Lewis Prosedürü	5	%55,6	4	%44,4	
	Beslenme Tüpü	5	%45,5	6	%54,5	
uT evresi	T2	1	%50	1	%50	0,988
	T3	6	%54,5	5	%45,5	
	T4	1	%50	1	%50	
uN evresi	N0	1	%25	3	%75	0,158
	N1	7	%63,6	4	%36,4	
Evre	0	3	%75	1	%25	0,019*
	1A	0	%0	1	%100	
	1B	1	%100	0	%0	
	1C	0	%0	1	%100	
	2A	5	%100	0	%0	
	2B	1	%20	4	%80	
	3B	1	%12,5	7	%87,5	
	4A	0	%0	0	%0	
Lenfovasküler invazyon	(-)	3	%100	0	%0	0,013*
	(+)	4	%25	12	%75	
Perinöral invazyon	(-)	4	%66,7	2	%33,3	0,009**
	(+)	0	%0	7	%100	

SHK: Skuamöz hücreli karsinom, AK: Adenokarsinom

uT: Endosonografik tümör evresi, uN: Endosonografik lenf nodu evresi

*p<0,05, **p<0,01

Hastalarda örnekleme yöntemine göre bulguların karşılaştırılması Tablo 4.6’da verilmiştir. Buna göre, hastalar örnekleme yöntemine göre ayrılarak varyant varlığına göre karşılaştırma yapıldığında cerrahi spesimen grubunda; cinsiyet, evre, lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon değişkenlerinde $p<0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık söz konusudur. Endoskopik biyopsi grubunda ise patojenite grubunda farklılık tespit edilmiştir. Operasyon, evre, lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon değişkenlerinde veri yetersizliğinden test uygulanamamıştır.

Tablo 4.6. Hastalarda örnekleme yöntemine göre bulguların karşılaştırılması

		Örnekleme Yöntemi									
		Cerrahi Spesimen					Endoskopik Biyopsi				
		Varyant yok		Varyant var		<i>p</i>	Varyant yok		Varyant var		<i>p</i> ^{1,2}
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
Cinsiyet	Erkek	3	%23,1	10	%76,9	0,028*	17	%50	17	%50	0,554
	Kadın	8	%66,7	4	%33,3		15	%57,7	11	%42,3	
Tümör patolojisi	SHK	9	%50	9	%50	0,332	24	%52,2	22	%47,8	0,744
	AK	2	%28,6	5	%71,4		8	%57,1	6	%42,9	
Varyant patojenitesi	Patojen değil	1	%20	4	%80	0,227	32	%80	8	%20	0,001**
	Patojen	10	%50	10	%50		0	%0	20	%100	
Tümör lokalizasyonu	Servikal	1	%100	0	%0		13	%72,2	5	%27,8	0,344
	Üst Torasik	0	%0	1	%100		2	%33,3	4	%66,7	
	Orta Torasik	4	%66,7	2	%33,3		5	%41,7	7	%58,3	
	Alt Torasik	2	%25	6	%75		7	%53,8	6	%46,2	
	Abdominal	3	%42,9	4	%57,1	0,343	4	%44,4	5	%55,6	
Operasyon	Orringer Prosedürü	3	%27,3	8	%72,7	0,324	0	%0	0	%0	-
	McKeown Prosedürü	3	%60	2	%40		0	%0	0	%0	
	Ivor-Lewis Prosedürü	5	%55,6	4	%44,4		0	%0	0	%0	
	Beslenme Tüpü	0	%0	0	%0		5	%45,5	6	%54,5	
uT evresi	T2	1	%50	1	%50	0,709	0	%0	0	%0	0,747
	T3	1	%33,3	2	%66,7		5	%62,5	3	%37,5	
	T4	0	%0	0	%0		1	%50	1	%50	
uN evresi	N0	1	%25	3	%75	0,171	0	%0	0	%0	-
	N1	1	%100	0	%0		6	%60	4	%40	
Evre	0	3	%75	1	%25	0,019*	0	%0	0	%0	-
	1A	0	%0	1	%100		0	%0	0	%0	
	1B	1	%100	0	%0		0	%0	0	%0	

Tablo 4.6 (devam)

	1C	0	%0	1	%100		0	%0	0	%0
	2A	5	%100	0	%0		0	%0	0	%0
	2B	1	%20	4	%80		0	%0	0	%0
	3B	1	%12,5	7	%87,5		0	%0	0	%0
	4A	0	%0	0	%0		0	%0	0	%0
Lenfovasküler	(-)	3	%100	0	%0	0,013*	0	%0	0	%0
İnvazyon	(+)	4	%25	12	%75		0	%0	0	%0
Perinöral	(-)	4	%66,7	2	%33,3	0,009**	0	%0	0	%0
İnvazyon	(+)	0	%0	7	%100		0	%0	0	%0

SHK: Skuamöz hücreli karsinom, AK: Adenokarsinom

uT: Endosonografik tümör evresi, uN: Endosonografik lenf nodu evresi

1: Pearson ki-kare p değeri 2: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) p değeri

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

Hastalarda varyant durumuna göre sayısal verilerin karşılaştırılması Tablo 4.7’de verilmiştir. Buna göre, hastalarda varyant durumuna göre sayısal parametreler karşılaştırıldığında, tamamında $p > 0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık söz konusu değildir.

Tablo 4.7. Hastalarda varyant durumuna göre sayısal verilerin karşılaştırılması

	Varyant	<i>n</i>	mean (ortalama)	SD	p^1
Yaş	Varyant yok	43	58,8372	12,16343	0,686
	Varyant var	42	57,1667	10,75428	
Proksimal mesafe (cm)	Varyant yok	10	5,0900	2,18502	0,622
	Varyant var	9	4,1111	1,88378	
Distal Mesafe (cm)	Varyant yok	7	6,5429	4,35846	0,522
	Varyant var	8	4,6875	2,63137	
Tümör çapı (cm)	Varyant yok	9	2,8667	1,37750	0,161
	Varyant var	14	4,1286	1,89348	

SD: Standard Deviation (Standart Sapma)

1: Mann-Whitney U testi p değeri

4.3.VARYANT TÜRLERİNİN KATEGORİK ÖZELLİKLERE GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI

Varyant türlerine göre kategorik değişkenlerin karşılaştırması ki kare testi ile yapılmıştır. Testte beklenen frekansı 5'ten az olan bölme sayısı %20'yi geçtiğinden likelihood ratio (olabilirlik oranı) ki-kare değeri kullanılmıştır.

Tüm varyant türlerinin cinsiyete göre dağılımı Tablo 4.8'de verilmiştir. Buna göre, varyant türlerinin cinsiyete göre yapılan karşılaştırmasında $p>0,05$ bulunduğu için anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Ancak, total varyant sayısının %67,7'sinin erkeklerde, %32,3'ünün ise kadınlarda olduğu da bu tablodan anlaşılmaktadır.

Tablo 4.8. Tüm varyant türlerinin cinsiyete göre dağılımı

Varyant Türleri		Cinsiyet		Total	P
		Erkek	Kadın		
EGFR	n	6	3	9	0,376 ¹
	%	%66,7	%33,3	%100	0,213 ²
ERBB2	n	5	1	6	
	%	%83,3	%16,7	%100	
FGFR1	n	1	2	3	
	%	%33,3	%66,7	%100	
KRAS	n	7	1	8	
	%	%87,5	%12,5	%100	
PIK3CA	n	12	5	17	
	%	%70,6	%29,4	%100	
ALK	n	1	0	1	
	%	%100	%0	%100	
CTNNB1	n	1	0	1	
	%	%100	%0	%100	
ERBB4	n	0	2	2	
	%	%0	%100	%100	
FBXW7	n	1	1	2	
	%	%50	%50	%100	
MAP2K2	n	0	1	1	
	%	%0	%100	%100	
MET	n	1	2	3	
	%	%33,3	%66,7	%100	
NOTCH1	n	1	0	1	
	%	%100	%0	%100	
SMAD4	n	2	0	2	
	%	%100	%0	%100	
SOD2	n	1	0	1	
	%	%100	%0	%100	

Tablo 4.8 (devam)

FGFR2	n	1	1	2
	%	%50	%50	%100
FGFR3	n	1	0	1
	%	%100	%0	%100
NRAS	n	1	0	1
	%	%100	%0	%100
ERBB3	n	0	1	1
	%	%0	100,0%	100,0%
Total	n	42	20	62
	%	%67,7	%32,3	%100

1: Pearson ki-kare p değeri, 2: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) p değeri

Tüm varyant türlerinin tümör patolojisine göre dağılımı Tablo 4.9’da verilmiştir. Buna göre, varyant türlerine göre yapılan karşılaştırmada tümör patolojisine göre $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Ancak, toplam 62 varyantın %71’inin SHK, %29’unun ise AK kategorisinde yer aldığı görülmektedir.

Tablo 4.9. Tüm varyant türlerinin tümör patolojisine göre dağılımı

Varyant Türleri	Tümör Patolojisi		Total	p
	SHK	AK		
EGFR	n	9	0	9
	%	%100	%0	%100
ERBB2	n	2	4	6
	%	%33,3	%66,7	%100
FGFR1	n	3	0	3
	%	%100	%0	%100
KRAS	n	4	4	8
	%	%50	%50	%100
PIK3CA	n	12	5	17
	%	%70,6	%29,4	%100
ALK	n	0	1	1
	%	%0	%100	%100
CTNNB1	n	1	0	1
	%	%100	%0	%100
ERBB4	n	2	0	2
	%	%100	0,0%	%100
FBXW7	n	1	1	2
	%	%50	%50	%100
MAP2K2	n	1	0	1
	%	%100	%0	%100

Tablo 4.9 (devam)

MET	<i>n</i>	2	1	3
	%	%66,7	%33,3	%100
NOTCH1	<i>n</i>	1	0	1
	%	%100	%0	%100
SMAD4	<i>n</i>	1	1	2
	%	%50	%50	%100
SOD2	<i>n</i>	1	0	1
	%	%100	%0	%100
FGFR2	<i>n</i>	1	1	2
	%	%50	%50	%100
FGFR3	<i>n</i>	1	0	1
	%	%100	%0	%100
NRAS	<i>n</i>	1	0	1
	%	%100	%0	%100
ERBB3	<i>n</i>	1	0	1
	%	%100	%0	%100
Total	<i>n</i>	44	18	62
	%	%71	%29	%100

SHK: Skuamöz hücreli karsinom, AK: Adenokarsinom

1: Pearson ki-kare *p* değeri, 2: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) *p* değeri

Tüm varyant türlerinin varyant patojenitesine göre dağılımı Tablo 4.10'da verilmiştir. Buna göre, varyant türlerine göre yapılan karşılaştırmada varyant patojenitesine göre $p < 0,05$ bulunduğu anlaşılmaktadır. EGFR varyantının tamamı patojen grupta, PIK3CA varyantının %88,2'si, ALK varyantının tamamı, CTNNB1 varyantının tamamı, ERBB4 varyantının tamamı, MAP2K2 varyantının tamamı, NOTCH1 varyantının tamamı, SOD2 varyantının tamamı, NRAS varyantının tamamı ve ERBB3 varyantının tamamı patojen gruptadır.

Tablo 4.10. Tüm varyant türlerinin varyant patojenitesine göre dağılımı

Varyant Türleri	Varyant Patojenitesi		Total	<i>p</i>
	Patojen değil	Patojen		
EGFR	<i>n</i>	0	9	0,05 ^{1*} 0,014 ^{2*}
	%	%0	%100	
ERBB2	<i>n</i>	5	1	6
	%	%83,3	%16,7	
FGFR1	<i>n</i>	2	1	3
	%	%66,7	%33,3	
KRAS	<i>n</i>	5	3	8
	%	%62,5	%37,5	

Tablo 4.10 (devam)

PIK3CA	n	2	15	17
	%	%11,8	%88,2	%100
ALK	n	0	1	1
	%	%0	%100	%100
CTNNB1	n	0	1	1
	%	%0	%100	%100
ERBB4	n	0	2	2
	%	%0	%100	%100
FBXW7	n	1	1	2
	%	%50	%50	%100
MAP2K2	n	0	1	1
	%	%0	%100	%100
MET	n	1	2	3
	%	%33,3	%66,7	%100
NOTCH1	n	0	1	1
	%	%0	%100	%100
SMAD4	n	1	1	2
	%	%50	%50	%100
SOD2	n	0	1	1
	%	%0	%100	%100
FGFR2	n	1	1	2
	%	%50	%50	%100
FGFR3	n	1	0	1
	%	%100	%0	%100
NRAS	n	0	1	1
	%	%0	%100	%100
ERBB3	n	0	1	1
	%	%0	%100	%100
Total	n	19	43	62
	%	%30,6	%69,4	%100

* $p < 0,05$, 1: Pearson ki-kare p değeri, 2: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) p değeri

Tüm varyant türlerinin tümör lokalizasyonuna göre dağılımı Tablo 4.11’de verilmiştir. Buna göre, varyant türlerine göre yapılan karşılaştırmada tümör lokalizasyonuna göre $p > 0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Ancak, varyant türleri içinde toplamda sayıca en sık görülmüş olan PIK3CA varyantının ($n=17$) sırasıyla %41,2’sinin alt torasik, %35,3’sünün abdominal ve %17,7’sinin servikal yerleşimli tümörlerde saptandığı görülmektedir.

Tablo 4.11. Tüm varyant türlerinin tümör lokalizasyonuna göre dağılımı

		Servikal (n:19) (%)	Üst Torasik (n:7) (%)	Orta Torasik (n:20) (%)	Alt Torasik (n:23) (%)	Abdominal (n:16) (%)	p^* 0,340 ¹ 0,374 ²
1. Mutasyon	PIK3CA	3 (%15,8)	0 (%)	1 (%)	4 (%17,5)	4 (%25)	
	MET	2 (%10,5)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	
	EGFR	1 (%5,3)	1 (%14,3)	1 (%)	0 (%)	0 (%)	
	FGFR1	0 (%)	1 (%14,3)	1 (%)	0 (%)	0 (%)	
	NOTCH1	0 (%)	1 (%14,3)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	
	SOD2 (VUS)	0 (%)	1 (%14,3)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	
	KRAS	0 (%)	1 (%14,3)	0 (%)	3 (%13,1)	1 (%6,25)	
	ERBB2 (VUS)	0 (%)	0 (%)	1 (%)	0 (%)	1 (%6,25)	
	ALK (VUS)	0 (%)	0 (%)	1 (%)	0 (%)	0 (%)	
	FBXW7	0 (%)	0 (%)	1 (%)	0 (%)	0 (%)	
	FGFR3	0 (%)	0 (%)	1 (%)	0 (%)	0 (%)	
	SMAD4	0 (%)	0 (%)	1 (%)	0 (%)	0 (%)	
	EGFR (VUS)	0 (%)	0 (%)	1 (%)	1 (%4,3)	0 (%)	
	MAP2K2	0 (%)	0 (%)	0 (%)	1 (%4,3)	0 (%)	
	ERBB2	0 (%)	0 (%)	0 (%)	2 (%8,7)	2 (%12,5)	
	FGFR2	0 (%)	0 (%)	0 (%)	1 (%4,3)	0 (%)	
	ERBB4 (VUS)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	1 (%4,3)	0 (%)	
	VARYANT YOK	13 (%68,4)	2 (%28,5)	11 (%55)	10 (%43,5)	8 (%50)	
2. Mutasyon	EGFR	1 (%5,3)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	1 (%6,25)	
	EGFR (VUS)	1 (%5,3)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	
	FBXW7	0 (%)	1 (%14,3)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	
	KRAS	0 (%)	0 (%)	1 (%)	1 (%4,3)	0 (%)	
	NRAS	0 (%)	0 (%)	1 (%)	2 (%8,7)	0 (%)	
	FGFR2	0 (%)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	
	KRAS (VUS)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	1 (%4,3)	0 (%)	
	PIK3CA	0 (%)	0 (%)	0 (%)	2 (%8,7)	2 (%12,5)	
	MET	0 (%)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	1 (%6,25)	
	FGFR1	0 (%)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	1 (%6,25)	
	SMAD4	0 (%)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	1 (%6,25)	
	VARYANT YOK	17 (%89,4)	6 (%85,7)	18 (%90)	17 (%74)	10 (%62,5)	
3. Mutasyon	PIK3CA	0 (%)	0 (%)	0 (%)	1 (%4,35)	0 (%)	
	ERBB4	0 (%)	0 (%)	0 (%)	1 (%4,35)	0 (%)	
	EGFR (VUS)	1 (%5,3)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	
	VARYANT YOK	18 (%94,7)	7 (%100)	20 (%100)	21 (%91,3)	16 (%100)	
4. Mutasyon	ERBB3 (VUS)	0 (%)	0 (%)	0 (%)	1 (%4,3)	0 (%)	
	VARYANT YOK	19 (%100)	7 (%100)	20 (%100)	22 (%95,7)	16 (%100)	

1:Pearson chi-square p value 2: Likelihood ratio p value,**VUS:** Variant of Uncertain Significance-Klinik Önemi Bilinmeyen Varyant

Tablo 4.12. Mutasyon sayısına göre tümör lokalizasyonunun dağılımı

		Servikal (n:19)(%)	Üst Torasik (n:7)(%)	Orta Torasik (n:20)(%)	Alt Torasik (n:23)(%)	Abdominal (n:16)(%)	p*
Mutasyon Sayısı	0	13(%68,4)	2(%28,6)	11 (%55)	10(%43,5)	7 (%43,7)	0.11
	1	4 (%21)	4(%57,1)	6 (%30)	8 (%34,8)	3 (%18,8)	
	2	1 (%5,3)	1(%14,3)	3 (%15)	3 (%13,1)	6 (%37,5)	
	3	1 (%5,3)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%4,3)	0 (%0)	
	4	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%4,3)	0 (%0)	

Mutasyon sayısına göre tümör lokalizasyonunun dağılımı Tablo 4.12’de verilmiştir. Buna göre, mutasyon sayısına göre tümör lokalizasyonlarının dağılımı incelendiğinde $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Ancak, 1 mutasyonun en sık %34,8 oranı ile alt torasik yerleşimli tümörlerde ($n=8$), 2’li mutasyonların %37,5 oranı ile abdominal yerleşimli tümörlerde ($n=6$), 3’lü mutasyonların sırasıyla %5,3 oranı ile servikal ($n=1$) ve %4,3 oranı ile alt torasik ($n=6$) yerleşimli tümörlerde, 4’lü mutasyonların ise %4,3 oranı ile yine alt torasik yerleşimli tümörlerde saptandığı görülmektedir.

Tüm varyant türlerinin operasyon tipine göre dağılımı Tablo 4.13’de verilmiştir. Buna göre, varyant türlerine göre yapılan karşılaştırmada operasyon tipine göre $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Ancak, toplam 26 varyantın %42,3’ünün Orringer prosedürü, %26,9’unun beslenme tüpü takılması, %10,23’ünün Ivor-Lewis prosedürü ve %11,5’inin McKeown prosedürü grubunda yer aldığı görülmektedir.

Tablo 4.13. Tüm varyant türlerinin operasyon tipine göre dağılımı

Varyant türleri		Operasyon				Total	p
		Orringer Prosedürü	McKeown Prosedürü	Ivor-Lewis Prosedürü	Beslenme Tüpü Takılması		
EGFR	n	1	1	1	0	3	0,324 ¹
	%	%33,3	%33,3	%33,3	%0	%100	0,723 ²
ERBB2	n	1	0	0	1	2	
	%	%50	%0	%0	%50	%100	
FGFR1	n	0	0	0	2	2	
	%	%0	%0	%0	%100	%100	

Tablo 4.13 (devam)

KRAS	<i>n</i>	2	1	1	0	4
	%	%50	%25	%25	%0	%100
PIK3CA	<i>n</i>	6	1	1	1	9
	%	%66,7	%11,1	%11,1	%11,1	%100
ERBB4	<i>n</i>	0	0	1	0	1
	%	%0	%0	%100	%0	%100
FBXW7	<i>n</i>	1	0	0	1	2
	%	%50	%0	%0	%50	%100
MET	<i>n</i>	0	0	0	1	1
	%	%0	%0	%0	%100	%100
SOD2	<i>n</i>	0	0	0	1	1
	%	%0	%0	%0	%100	%100
FGFR2	<i>n</i>	0	0	1	0	1
	%	%0	%0	%100	%0	%100
Total	<i>n</i>	11	3	5	7	26
	%	%42,3	%11,5	%19,2	%26,9	%100

1: Pearson chi-square *p* value 2: Likelihood ratio *p* value

Tüm varyant türlerinin endosonografik lenf nodu (uN) evresine göre dağılımı Tablo 4.14’de verilmiştir. Buna göre, varyant türlerine göre yapılan karşılaştırmada uN evresi gruplarında $p > 0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Ancak, toplam 9 varyantın %55,6’sı N1 ve %44,4 ‘ü N0 evresindedir.

Tablo 4.14. Tüm varyant türlerinin endosonografik lenf nodu evresine göre dağılımı

Varyant türleri	uN evresi			<i>p</i>
	uN0	uN1	Total	
EGFR	<i>n</i>	0	1	1
	%	%0	%100	0,342 ¹
ERBB2	<i>n</i>	0	1	1
	%	%0	%100	0,136 ²
KRAS	<i>n</i>	1	0	1
	%	%100	%0	%100
PIK3CA	<i>n</i>	1	0	1
	%	%100	%0	%100
ERBB4	<i>n</i>	1	0	1
	%	%100	%0	%100
FBXW7	<i>n</i>	0	1	1
	%	%0	%100	%100
SMAD4	<i>n</i>	0	1	1
	%	%0	%100	%100
FGFR2	<i>n</i>	1	0	1
	%	%100	%0	%100
FGFR3	<i>n</i>	0	1	1
	%	%0	%100	%100
Total	<i>n</i>	4	5	9
	%	%44,4	%55,6	%100

1: Pearson ki-kare *p* değeri, 2: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) *p* değeri,
uN: Endosonografik lenf nodu evresi

Tüm varyant türlerinin evreye göre dağılımı Tablo 4.15’de verilmiştir. Buna göre, varyant türlerine göre yapılan karşılaştırmada evre gruplarında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Ancak, toplam 19 varyantın %52,6’sı 3B evresinde ve %26,3’ü de 2B evresindedir.

Tablo 4.15. Tüm varyant türlerinin evreye göre dağılımı

Varyant Türleri	Evre					Total	p
	0	1A	1C	2B	3B		
EGFR	n	0	0	0	2	1	3
	%	%0	%0	%0	%66,7	%33,3	%100
ERBB2	n	0	0	0	0	1	1
	%	%0	%0	%0	%0	%100	%100
KRAS	n	0	0	1	1	2	4
	%	%0	%0	%25	%25	%50	%100
PIK3CA	n	0	1	1	0	6	8
	%	%0	%12,5	%12,5	%0	%75	%100
ERBB4	n	1	0	0	0	0	1
	%	%100	%0	%0	%0	%0	%100
FBXW7	n	0	0	0	1	0	1
	%	%0	%0	%0	%100	%0	%100
FGFR2	n	0	0	0	1	0	1
	%	%0	%0	%0	%100	%0	%100
Total	n	1	1	2	5	10	19
	%	%5,3	%5,3	%10,5	%26,3	%52,6	%100

1:Pearson ki-kare p değeri 2: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) p değeri

Tüm varyant türlerinin lenfovasküler invazyon durumuna göre dağılımı Tablo 4.16’da verilmiştir. Buna göre, varyant türlerine göre yapılan karşılaştırmada sıklık sırasına göre PIK3CA varyantı saptanan 8 hastada, KRAS varyantı saptanan 4 hastada, EGFR varyantı saptanan 2 hastada, ERBB2 varyantı saptanan 1 hastada, FBXW7 varyantı saptanan 1 hastada ve FGFR2 varyantı saptanan 1 hastada lenfovasküler invazyon (+) bulunmuştur. Ancak, tablodaki tüm hastalar lenfovasküler invazyon (+) durumunda yer aldığından ki-kare testi uygulanamamıştır.

Tablo 4.16. Tüm varyant türlerinin lenfovasküler invazyon durumuna göre dağılımı

			Lenfovasküler İnvazyon	
			(+)	Total
Varyant Türleri	EGFR	n	2	2
		%	%100	%100
	ERBB2	n	1	1
		%	%100	%100
	KRAS	n	4	4

Tablo 4.16 (devam)

	%	%100	%100
PIK3CA	n	8	8
	%	%100	%100
FBXW7	n	1	1
	%	%100	%100
FGFR2	n	1	1
	%	%100	%100
Total	n	17	17
	%	%100	%100

1:Pearson ki-kare p değeri 2: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) p değeri

Tüm varyant türlerinin perinöral invazyon durumuna göre dağılımı Tablo 4.17’de verilmiştir. Buna göre, varyant türlerine göre yapılan karşılaştırmada perinöral invazyona göre $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı anlaşılmaktadır. Ancak, toplam 13 varyantın %76,9’unun perinöral invazyon (+) grubunda yer aldığı görülmektedir.

Tablo 4.17. Tüm varyant türlerinin perinöral invazyon durumuna göre dağılımı

		Perinöral İnvazyon			<i>p</i>	
		(-)	(+)	Total		
Varyant Türleri	EGFR	<i>n</i>	1	0	1	0,511 ¹
		%	%100	%0	%100	0,474 ²
	ERBB2	<i>n</i>	0	1	1	
		%	%0	%100	%100	
	KRAS	<i>n</i>	1	3	4	
		%	%25	%75	%100	
	PIK3CA	<i>n</i>	1	4	5	
		%	%20	%80	%100	
	FBXW7	<i>n</i>	0	1	1	
		%	%0	%100	%100	
	FGFR2	<i>n</i>	0	1	1	
		%	%0	%100	%100	
	Total	<i>n</i>	3	10	13	
		%	%23,1	%76,9	%100	

1:Pearson ki-kare p değeri 2: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) p değeri

4.4 TÜMÖR PATOLOJİSİNİN KATEGORİK ÖZELLİKLERE GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI

Tümör patolojisi ile cinsiyetin karşılaştırılması Tablo 4.18’de verilmiştir. Buna göre, tümör patolojisi ile cinsiyet karşılaştırıldığında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık söz konusu değildir. Tümör patolojisi, cinsiyet ile ilişkili bulunmamıştır.

Tablo 4.18. Tümör patolojisi ile cinsiyetin karşılaştırılması

		Tümör Patolojisi				
			SHK	AK	Total	<i>P</i>
Cinsiyet	Erkek	<i>n</i>	32	15	47	0,129 ¹
		%	%68,1	%31,9	%100	0,082 ²
	Kadın	<i>n</i>	32	6	38	
		%	%84,2	%15,8	%100	
Total		<i>n</i>	64	21	85	
		%	%75,3	%24,7	%100	

SHK: Skuamöz hücreli karsinom, AK: Adenokarsinom

1:Pearson ki-kare p değeri 2: Fisher’s exact test (Fisher kesin testi) p değeri

Tümör patolojisi ile varyant varlığı durumunun karşılaştırılması Tablo 4.19’da verilmiştir. Tümör patolojisi ile varyant olup olmama durumu karşılaştırıldığında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık söz konusu değildir. Tümör patolojisi varyant varlığı veya yokluğu ile ilişkili bulunmamıştır.

Tablo 4.19. Tümör patolojisi ile varyant varlığı durumunun karşılaştırılması

		Tümör Patolojisi				
			SHK	AK	Total	<i>p</i>
Varyant varlığı	Varyant yok	<i>n</i>	33	10	43	0,805 ¹
		%	%76,7	%23,3	%100	0,754 ²
	Varyant var	<i>n</i>	31	11	42	
		%	%73,8	%26,2	%100	
	Total	<i>n</i>	64	21	85	
		%	%75,3	%24,7	%100	

1:Pearson ki-kare p değeri 2: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) p değeri

Tümör patolojisi ile varyant türlerinin karşılaştırılması Tablo 4.20’de verilmiştir. Buna göre, tümör patolojisi ile varyant türleri karşılaştırıldığında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Ancak, toplam 62 varyantın %71’i SHK grubunda, %29’u ise AK grubunda tespit edilmiştir.

Tablo 4.20. Tümör patolojisi ile varyant türlerinin karşılaştırılması

		Tümör Patolojisi			<i>P</i>
			SHK	AK	Total
Varyant Türleri	EGFR	<i>n</i>	9	0	9
		%	%100	%0	%100
	ERBB2	<i>n</i>	2	4	6
		%	%33,3	%66,7	%100
	FGFR1	<i>n</i>	3	0	3
		%	%100	%0	%100
	KRAS	<i>n</i>	4	4	8
		%	%50	%50	%100
	PIK3CA	<i>n</i>	12	5	17
		%	%70,6	%29,4	%100
	ALK	<i>n</i>	0	1	1
		%	%0	%100	%100
	CTNNB1	<i>n</i>	1	0	1
		%	%100	%0	%100
	ERBB4	<i>n</i>	2	0	2
		%	%100	%0	%100
	FBXW7	<i>n</i>	1	1	2
		%	%50	%50	%100
	MAP2K2	<i>n</i>	1	0	1
		%	%100	%0	%100
	MET	<i>n</i>	2	1	3
		%	%66,7	%33,3	%100
	NOTCH1	<i>n</i>	1	0	1
		%	%100	%0	%100
	SMAD4	<i>n</i>	1	1	2
		%	%50	%50	%100
	SOD2	<i>n</i>	1	0	1
		%	%100	%0	%100
	FGFR2	<i>n</i>	1	1	2
		%	%50	%50	%100
	FGFR3	<i>n</i>	1	0	1
		%	%100	%0	%100
	NRAS	<i>n</i>	1	0	1
		%	%100	%0	%100
	ERB3	<i>n</i>	1	0	1
		%	%100	%0	%100
Total		<i>n</i>	44	18	62
		%	%71	%29	%100

SHK: Skuamöz hücreli karsinom, AK: Adenokarsinom

1:Pearson ki-kare *p* değeri 2: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) *p* değeri

Tümör patolojisi ile varyant patojenite durumunun karşılaştırılması Tablo 4.21’de verilmiştir. Buna göre, tümör patolojisi ile varyant patojenite durumunun

karşılaştırılmasında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Ancak, toplam varyantın %75,3'ü SHK, %24,7'si ise AK grubunda tespit edilmiştir.

Tablo 4.21. Tümör patolojisi ile varyant patojenite durumunun karşılaştırılması

		Tümör Patolojisi				
			SHK	AK	Total	<i>p</i>
Varyant Patojenitesi	Patojen değil	<i>n</i>	32	13	45	0,343 ¹
		%	%71,1	%28,9	%100	0,341 ²
	Patojen	<i>n</i>	32	8	40	
		%	%80	%20	%100	
Total		<i>n</i>	64	21	85	
		%	%75,3	%24,7	%100	

SHK: Skuamöz hücreli karsinom, AK: Adenokarsinom

1:Pearson ki-kare p değeri 2: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) p değeri

Tümör patolojisi ile tümör lokalizasyonunun karşılaştırılması Tablo 4.22'de verilmiştir. Buna göre, tümör patolojisi ile tümör lokalizasyonu karşılaştırıldığında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Ancak, toplam varyantın %77,8'i SHK, %22,2'si ise AK grubunda tespit edilmiştir.

Tablo 4.22. Tümör patolojisi ile tümör lokalizasyonunun karşılaştırılması

		Tümör Patolojisi			<i>p</i>	
		SHK	AK	Total		
Tümör Lokalizasyonu	Servikal	<i>n</i>	15	4	19	0,348 ¹
		%	%78,9	%21,1	%100	0,299 ²
	Üst Torasik	<i>n</i>	4	3	7	
		%	%57,1	%42,9	%100	
	Orta Torasik	<i>n</i>	13	5	18	
		%	%72,2	%27,8	%100	
	Alt Torasik	<i>n</i>	16	5	21	
		%	%76,2	%23,8	%100	
	Abdominal	<i>n</i>	15	1	16	
		%	%93,8	%6,3	%100	
	Total	<i>n</i>	63	18	81	
		%	%77,8	%22,2	%100	

SHK: Skuamöz hücreli karsinom, AK: Adenokarsinom

1:Pearson ki-kare p değeri 2: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) p değeri

Tümör patolojisi ile tümör diferansiyasyon durumunun karşılaştırılması Tablo 4.23'de verilmiştir. Buna göre, tümör patolojisi ile tümör diferansiyasyon grupları karşılaştırıldığında $p<0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olduğu anlaşılmıştır. Tümör

diferansiyasyonu az olan grup %55,6 oranında SHK grubunda, orta olan grup %70 oranında SHK grubunda ve iyi olan grup ise % 100 oranında SHK grubunda tespit edilmiştir.

Tablo 4.23. Tümör patolojisi ile tümör diferansiyasyon durumunun karşılaştırılması

		Tümör Patolojisi				
			SHK	AK	Total	<i>P</i>
Tümör Diferansiyasyonu	Az	<i>n</i>	5	4	9	0,054 ¹
		%	%55,6	%44,4	%100	0,018 ^{2*}
	Orta	<i>n</i>	7	3	10	
		%	%70	%30	%100	
	İyi	<i>n</i>	11	0	11	
		%	%100	%0	%100	
Total	<i>n</i>	23	7	30		
	%	%76,7	%23,3	%100		

SHK: Skuamöz hücreli karsinom, AK: Adenokarsinom

1:Pearson ki-kare p değeri 2*: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) p değeri

Tümör patolojisi ile operasyon türlerinin karşılaştırılması Tablo 4.24’de verilmiştir. Buna göre, tümör patolojisi ile operasyon türleri karşılaştırıldığında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı anlaşılmıştır. Ancak, toplam operasyonların %75’inin SHK grubunda, %25’inin ise AK grubunda yer aldığı görülmektedir.

Tablo 4.24. Tümör patolojisi ile operasyon türlerinin karşılaştırılması

		Tümör Patolojisi				
		SHK	AK	Total	p	
Operasyon	Orringer Prosedürü	n	8	3	11	0,872 ¹
		%	%72,7	%27,3	%100	0,872 ^{2*}
	McKeown Prosedürü	n	4	1	5	
		%	%80	%20	%100	
	Ivor-Lewis Prosedürü	n	6	3	9	
		%	%66,7	%33,3	%100	
	Beslenme Tüpü	n	9	2	11	
		%	%81,8	%18,2	%100	
	Total	n	27	9	36	
		%	%75	%25	%100	

SHK: Skuamöz hücreli karsinom, AK: Adenokarsinom

1:Pearson ki-kare p değeri 2*: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) p değeri

Tümör patolojisi ile endosonografik tümör evresinin (uT) karşılaştırılması Tablo 4.25’de verilmiştir. Buna göre, tümör patolojisi ile uT evresi grupları karşılaştırıldığında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı anlaşılmıştır. Ancak, uT evresi incelenen vakaların %73,3’ünün SHK grubunda, %26,7’sinin ise AK grubunda yer aldığı görülmektedir.

Tablo 4.25. Tümör patolojisi ile endosonografik tümör evresinin karşılaştırılması

		Tümör Patolojisi				
			SHK	AK	Total	<i>p</i>
uT evresi	T2	<i>n</i>	2	0	2	0,371 ¹
		%	%100	%0	%100	0,226 ²
	T3	<i>n</i>	7	4	11	
		%	%63,6	%36,4	%100	
	T4	<i>n</i>	2	0	2	
		%	%100	%0	%100	
Total	<i>n</i>	11	4	15		
	%	%73,3	%26,7	%100		

SHK: Skuamöz hücreli karsinom, AK: Adenokarsinom, uT: Endosonografik tümör evresi
1:Pearson ki-kare p değeri 2: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) p değeri

Tümör patolojisi ile endosonografik lenf nodu evresinin (uN) karşılaştırılması Tablo 4.26’da verilmiştir. Buna göre, tümör patolojisi ile uN evresi grupları karşılaştırıldığında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı anlaşılmıştır. Ancak, toplam varyantların %73,3’ünün SHK grubunda, %26,7’sinin ise AK grubunda yer aldığı görülmektedir.

Tablo 4.26. Tümör patolojisi ile endosonografik lenf nodu evresinin karşılaştırılması

		Tümör Patolojisi				
		SHK	AK	Total	<i>P</i>	
uN evresi	N0	<i>n</i>	2	2	4	0,516 ¹
		%	%50	%50	%100	0,233 ²
	N1	<i>n</i>	9	2	11	
		%	%81,8	%18,2	%100	
Total		<i>n</i>	11	4	15	
		%	%73,3	%26,7	%100	

SHK: Skuamöz hücreli karsinom, AK: Adenokarsinom,
uN: Endosonografik lenf nodu evresi
1:Pearson ki-kare p değeri 2: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) p değeri

Tümör patolojisi ile lenfovasküler invazyon durumunun karşılaştırılması Tablo 4.27’de verilmiştir. Buna göre, tümör patolojisi ile lenfovasküler invazyon durumu karşılaştırıldığında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı anlaşılmıştır. Ancak, toplam varyantların %68,4’ünün SHK grubunda, %31,6’sının ise AK grubunda yer aldığı görülmektedir.

Tablo 4.27. Tümör patolojisi ile lenfovasküler invazyon durumunun karşılaştırılması

		Tümör Patolojisi				
		SHK	AK	Total	<i>P</i>	
Lenfovasküler invazyon	(-)	<i>n</i>	3	0	3	0,517 ¹
		%	%100	%0	%100	0,200 ²
	(+))	<i>n</i>	10	6	16	
		%	%62,5	%37,5	%100	
Total		<i>n</i>	13	6	19	
		%	%68,4	%31,6	%100	

SHK: Skuamöz hücreli karsinom, AK: Adenokarsinom

1:Pearson ki-kare p değeri 2: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) p değeri

Tümör patolojisi ile perinöral invazyon durumunun karşılaştırılması Tablo 4.28’de verilmiştir. Buna göre, tümör patolojisi ile perinöral invazyon durumu karşılaştırıldığında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı anlaşılmıştır. Ancak, toplam varyantların %61,5’inin SHK kategorisinde, %38,5’inin ise AK grubunda yer aldığı görülmektedir.

Tablo 4.28. Tümör patolojisi ile perinöral invazyon durumunun karşılaştırılması

		Tümör Patolojisi			<i>p</i>	
		SHK	AK	Total		
Perinöral invazyon	(-)	<i>n</i>	5	1	6	0,266 ¹
		%	%83,3	16,7%	%100	0,125 ²
	(+))	<i>n</i>	3	4	7	
		%	%42,9	57,1%	%100	
Total		<i>n</i>	8	5	13	
		%	%61,5	%38,5	%100	

SHK: Skuamöz hücreli karsinom, AK: Adenokarsinom

1:Pearson ki-kare p değeri 2: Likelihood ratio (Olabilirlik oranı) p değeri

Tümör patolojisi ile sayısal verilerin karşılaştırılması Tablo 4.29’da verilmiştir. Tümör patolojisi ile sayısal verilerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Buna göre, tümör patolojisi grupları ile sayısal parametrelerin karşılaştırılmasında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir.

Tümör patolojisinin SHK ya da AK olması incelenen sayısal verilerde farklılık oluşturmamıştır.

Tablo 4.29. Tümör patolojisi ile sayısal verilerin karşılaştırılması

	Tümör Patolojisi	n	mean (ortalama)	SD	t	p ¹
Yaş	SHK	64	57,6094	11,50930	-0,563	0,575
	AK	21	59,2381	11,46257		
Proksimal mesafe (cm)	SHK	14	4,3143	1,58641	-1,116	0,280
	AK	5	5,5000	3,08221		
Distal Mesafe (cm)	SHK	10	6,5300	3,58982	1,593	0,135
	AK	5	3,6000	2,77038		
Tümör çapı (cm)	SHK	17	3,6647	1,82994	0,132	0,896
	AK	6	3,5500	1,83712		

SHK: Skuamöz hücreli karsinom, AK: Adenokarsinom

SD: Standard Deviation (Standart Sapma)

1: Mann-Whitney U testi p değeri

5. TARTIŞMA

Özofagus kanserleri dünyada en sık görülen 8. kanser tipi olup kansere bağlı ölümlerde 6. sırada yer almaktadır (50). Özofagus karsinomları tüm tümörlerin %1.5 ile 2'sini, GİS tümörlerin %5 ile 7'sini oluşturmaktadır. T.C. Sağlık Bakanlığı Kansere Savaş Dairesi'nin istatistiklerine göre Türkiye'deki görülme sıklığı %1,06 olarak hesaplanmıştır (51). Özofagus kanserlerinde en sık 1/3 orta ve alt özofagus yerleşimi görülmektedir. Bu bölge tümörlerini histolojik olarak başlıca SHK ve AK oluşturmaktadır. Son dekatlarda, bilhassa gelişmiş batılı ülkelerde özofagus AK'larının prevalansı artış göstermekle birlikte küresel boyutta SHK'lar en sık görülen primer malign özofagus tümörüdür (52).

Özofagus maligniteleri geç semptom vermesinden dolayı pekçok olguda tanı ileri evrelerde konabilmektedir. Endoskopik girişimlerle erken dönemde yakalanma şansı gitgide artmaktadır. Ancak, endoskopik biopsinin yüzeysel alındığı hastalarda tanısal zorluklar yaşanır. Bu durum, erken tanı şansını yükseltmek için kullanılabilecek yeni tümör belirteçlerini arama ihtiyacını doğurmuştur. Çalışmamızda, özofagus tümörlerinin biyolojik davranışlarının belirlenmesi ve kliniğe yardımcı olacak yeni moleküler genetik prognostik parametrelerin araştırılması amaçlanmıştır. Serimizde bu amaç için son zamanlarda gündeme gelen, özofagus kanserlerinde biyolojik davranışı öngörececek belirteçleri saptamak üzere çoklu gen tarama paneli (GeneReader NG Sistemi, Qiagen, Hildenberg, Almanya) kullanılarak FFPE tümör örneklerinde AKT1, ALK, BRAF, DDR, ERBB2, ESR1, KIT, KRAS, MAP2K1, NRAS, NTRK, PDGFRA, PIK3CA, PTEN, ROS1, RICTOR, EGFR, MET, FGFR1, ERBB2 genleri araştırılmıştır. Ayrıca bu belirteçler ile prognozu belirleyecek yaş, cinsiyet, tümör çapı, invazyon derinliği, lenf nodu metastazı varlığı, metastatik lenf nodu sayısı, cerrahi sınır pozitifliği vb. kliniko-patolojik faktörlerin birbirlerine ve son duruma etkileri araştırılmıştır.

Bizim arşivimizde de 85 adet özofagus karsinom vakasından 64'ü (%75,3) SHK tanısı almıştır ve en sık görülen histolojik tipi oluşturmaktadır. Özofagus karsinomları erken tanı ve prognozu önceden belirleyecek yöntemlerin azlığı nedeniyle son derece kötü prognoza sahiptir. Teşhis ve tedavi konusunda son dekattaki gelişmelere rağmen 5 yıllık sağ kalım %15 ila 34 arasında seyretmekte olup hala düşük oranlardadır (53). GLOBOCAN verilerine göre 2020 yılında 0,6 milyon yeni özofagus kanseri vakası

teşhis edilmiş ve bu hastalık sonucu 0,54 milyon ölüm meydana gelmiştir (54). Özofagus kanserleri, bilhassa Asya ülkelerinde diğer ülkelere kıyasla daha sık görülmektedir. Türkiye’de en sık Doğu Anadolu Bölgesinde, bilhassa Erzurum, Kars, Ağrı, Van, Artvin, Gümüşhane, Hakkâri, Muş, Bitlis ve Erzincan’da görülmektedir (55).

Özofagus kanserlerinde çoğunlukla 50’li ve 60’lı yaşlar en sık görüldüğü yaş gruplarıdır. İnsidansı 50 yaş sonrası artarak 70’li yaşlarda pik yapar (50,56). Bizim çalışmamızda yaş dağılımı 29-86 arasında olup tüm vakaların yaş ortalaması $58,01 \pm 11,45$, erkeklerin yaş ortalaması $59,4 \pm 12,1$, kadınların yaş ortalaması $57,9 \pm 11,3$ olarak izlendi. Böylece, literatürdeki verilerle bizim çalışmamızdaki vakaların yaş aralığı aynıydı. Bizim olgularımızda ROC analizi ile yaş için saptanan eşik değeri 50 olup 50 yaş üstü vaka sayısı 68 (% 80), 50 yaş altı vaka sayısı 17 (%20) olup 50 yaş üstü vaka sayısının 50 yaş altı vaka sayısına oranı 4 idi. Bu sonuçlar literatürle uyumludur (57). Literatürde 50’li ve 60’lı yaşlarda daha sık görüldüğü ve aradaki farkın çok daha büyük olduğu, yani <50 yaş vaka sayısının çok daha az olduğu bildirilmiştir (55,58). Greenstein ve ark.’larının serisinde ise vakaların çoğunluğu (%74) >60 yaş olarak bulunmuştur (52). Bizim hastalarımızda 60 yaş üstü vaka sayısı 35 (%41,17) idi. Bizim çalışmamızda bu rakamın çok daha düşük olmasını sosyoekonomik, sosyokültürel, çevresel ve genetik faktörlere bağlayabiliriz. Ayrıca, yaş ile cinsiyet arasında herhangi bir korelasyon izlenmemiştir ($p>0,05$). Hastalarda varyant durumu ile yaş değerinin karşılaştırılmasında tamamında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık söz konusu değildir. Ancak, opere edilen hastalarda patojenik varyant tespit edilen hastaların yaş ortalaması 57 olup en sık tespit edilen patojenik 1. varyant PIK3CA ($n=5$) ve KRAS ($n=4$) olup bunu sırasıyla her biri $n=1$ olacak şekilde ERBB2 ve FGFR2 varyantları izlemiştir. İkinci varyant olarak ise en sık tespit edilen patojenik varyant PIK3CA ($n=3$) olup bunu sırasıyla her biri $n=1$ olacak şekilde EGFR ve FBXW7 varyantları izlemiştir. Endoskopik biyopsi grubundaki hastalarda patojenik varyant tespit edilen hastaların yaş ortalaması ise 56,7 olup en sık tespit edilen patojenik 1. varyant PIK3CA ($n=6$) olup bunu sırasıyla ERBB2 ($n=4$), EGFR ($n=3$), FGFR1 ($n=2$), MET ($n=2$) izlemiştir. Diğer varyantlar ise her biri $n=1$ olacak şekilde KRAS, FGFR3, SMAD4, MAP2K2, FBXW7, CTNNB1 ve NOTCH1 varyantları idi. İkinci varyant olarak ise en sık tespit edilen patojenik varyant KRAS ($n=2$) olup bunu sırasıyla her biri $n=1$ olacak şekilde EGFR, FGFR2, MET, PIK3CA, FGFR1, SMAD4 ve NRAS varyantları izlemiştir. Üçüncü varyant olarak ise tespit edilen patojenik varyantlar

KRAS ($n=1$) ve ERBB4 ($n=1$) varyantları idi. Yine, tümör patolojisi grupları ile yaş değerinin karşılaştırılmasında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Patolojinin SHK ya da AK olması incelenen yaş aralıkları için farklılık oluşturmamıştır.

Özofagus karsinomlarının insidansının küresel boyutta erkek cinsiyette kadınlara kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmektedir. GLOBOCAN 2020 verilerine göre erkeklerde kadınlara oranla 2-3 kat daha fazla görülmektedir (54). Eroğlu ve ark.larının 1990-1995 yılları arasında yaptığı bir çalışmada olgularda erkek/kadın oranı 1.43 (133/93) olarak hesaplanmıştır (59). Çalışmamızda vakaların 47'si erkek (%55,3), 38'i kadın (%44,7) olup literatürdeki bilgilerle uyumlu olarak erkek/kadın oranı 1.2 idi. Serimizdeki bu veriler Türkiye Sağlık Bakanlığı Kanseri Savaş Dairesi'nin istatistikleri (erkek/kadın oranı: 1,5/1) ile de uyumludur (51). Ancak, literatürde bu oran 2 ila 10 arasında saptanmıştır (52,58,60). Orta ve Güneydoğu Asya, Türkiye ve Moğolistan gibi yüksek riskli bölgelerde ise görülme sıklığında cinsiyet farkı izlenmediği bildirilmektedir (58). Varyant türlerinin cinsiyete göre yapılan karşılaştırmasında cinsiyete göre $p>0,05$ bulunduğu için anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Ancak, total varyant sayısının %67,7'sinin erkeklerde, %32,3'ünün ise kadınlarda olduğu Tablo 8'den anlaşılmaktadır. Opere edilen hastalarda patojenik varyant tespit edilen hastaların 9'u erkek 2'si kadın olup en sık tespit edilen patojenik 1. varyant erkek hastalarda PIK3CA ($n=4$) ve KRAS ($n=3$) olup bunu sırasıyla her biri $n=1$ olacak şekilde ERBB2 ve FGFR2 varyantları izlemiştir. Erkek hastalarda ikinci varyant olarak ise en sık tespit edilen patojenik varyant PIK3CA ($n=2$) olup bunu sırasıyla her biri $n=1$ olacak şekilde EGFR ve FBXW7 varyantları izlemiştir. Kadın hastalarda en sık tespit edilen patojenik 1. varyant PIK3CA ($n=1$) ve KRAS ($n=1$) idi. Kadın hastalarda 2. varyant olarak ise tespit edilen tek patojenik varyant PIK3CA ($n=1$) olmuştur. Endoskopik biyopsi grubundaki hastalarda patojenik varyant tespit edilen hastaların 14'ü erkek 10'u kadın olup en sık tespit edilen patojenik 1. varyant erkek hastalarda PIK3CA ($n=4$) olup bunu sırasıyla ERBB2 ($n=3$) izlemiştir. Diğer varyantlar ise her biri $n=1$ olacak şekilde KRAS, MET, EGFR, NOTCH1, CTNN1, FGFR3 ve SMAD4 varyantları idi. Erkek hastalarda ikinci varyant olarak ise en sık tespit edilen patojenik varyant KRAS ($n=2$) olup bunu sırasıyla her biri $n=1$ olacak şekilde EGFR, PIK3CA, FGFR1, SMAD4 ve NRAS varyantları izlemiştir. Erkek hastalarda üçüncü varyant olarak tespit edilen tek patojenik varyant PIK3CA ($n=1$) varyantı idi. Kadın hastalarda en sık tespit edilen

patojenik 1. varyant PIK3CA ($n=3$), FGFR1 ($n=2$) ve EGFR ($n=2$) olup bunu sırasıyla her biri $n=1$ olacak şekilde MAP2K2, MET ve FBXW7 varyantları izlemiştir. Kadın hastalarda 2. varyant olarak ise tespit edilen patojenik varyantlar FGFR2 ($n=1$) ve MET ($n=1$) varyantları olmuştur. Kadın hastalarda üçüncü varyant olarak tespit edilen tek patojenik varyant ERBB4 ($n=1$) varyantı idi. Yine, tümör patolojisi ile cinsiyetin karşılaştırılmasında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık söz konusu değildir. Tümör patolojisi cinsiyet ile ilişkili bulunmamıştır.

Özofagus karsinomlarının en sık görüldüğü lokalizasyonlar literatürde %56 oranında 1/3 orta özofagus, %32 oranında 1/3 alt özofagus ve %15 oranında 1/3 üst özofagus olarak tespit edilmiştir (61). Çalışmamızda servikal yerleşimli 19 (%23,5), üst torasik yerleşimli 7 (%8,6), orta torasik yerleşimli 18 (%22,2), alt torasik yerleşimli 21 (%25,9) ve abdominal yerleşimli 16 (%19,8) vaka saptandı. Tuncer ve ark.'larının özofagus kanserinin sık görüldüğü bir bölgede yaptığı çalışmada vakaların 4/5'i alt özofagus yerleşimliydi (62). 2000 yılında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından 1987-1998 yılları arası yapılan, ancak yayınlanmamış olan, özofagus kanseri tanısı almış 49 vakalık seride, bizim serimizle benzer şekilde en sık 1/3 alt özofagus yerleşimi (%50) izlenmiştir (63). Halbuki, literatürde özofagus kanserleri için en sık görülen lokalizasyon olarak 1/3 orta özofagus bildirilmektedir (58,60,64). Greenstein ve ark.'larının 2007 yılında yaptıkları 1159 vaka içeren serilerinde ise bizim serimizle benzer şekilde en sık yerleşim yeri 1/3 alt özofagus (%62) olarak bildirilmiştir (52). Çalışmamızda literatürdeki bilgilere göre alt özofagusda yerleşen tümör oranı orta özofagustaki yerleşme oranına göre biraz fazla çıkmakla birlikte genel olarak uyumludur. Opere edilen hasta grubunda tümör lokalizasyonlarına göre tespit edilen patojenik varyantlar incelendiğinde servikal bölgede PIK3CA ($n=1$), üst torasik bölgede KRAS ($n=1$), orta torasik bölgede PIK3CA ($n=1$) ve EGFR ($n=1$, VUS varyantı), alt torasik bölgede KRAS ($n=2$), EGFR ($n=2$, VUS varyantı), PIK3CA ($n=1$), FGFR2 ($n=1$) ve ERBB4 ($n=1$, VUS varyantı) ve abdominal bölgede PIK3CA ($n=2$), ERBB2 ($n=1$) ve KRAS ($n=1$) varyantları tespit edilmiştir. İkinci varyant olarak ise üst torasik bölgede FBXW7 ($n=1$), alt torasik bölgede PIK3CA ($n=2$) ve abdominal bölgede PIK3CA ($n=1$) saptanmıştır. Endoskopik biyopsi grubunda tümör lokalizasyonlarına göre tespit edilen patojenik varyantlar incelendiğinde servikal bölgede PIK3CA ($n=2$), MET ($n=2$) ve EGFR ($n=1$), üst torasik bölgede FGFR1 ($n=1$), EGFR ($n=1$), NOTCH1 ($n=1$) ve SOD2 ($n=1$, VUS varyantı),

orta torasik bölgede EGFR ($n=1$), FBXW7 ($n=1$), FGFR3 ($n=1$), SMAD4 ($n=1$), ERBB2 ($n=1$, VUS varyantı) ve ALK ($n=1$, VUS varyantı), alt torasik bölgede PIK3CA ($n=3$), ERBB2 ($n=2$) ve MAP2K2 ($n=1$) ve abdominal bölgede PIK3CA ($n=2$), ERBB2 ($n=1$), CTNNB1 ($n=1$) ve ERBB2 ($n=1$, VUS varyantı) varyantları tespit edilmiştir. İkinci varyant olarak servikal bölgede EGFR ($n=1$) ve EGFR ($n=1$, VUS varyantı), orta torasik bölgede KRAS ($n=1$) ve NRAS ($n=1$), alt torasik bölgede FGFR2 ($n=1$) ve KRAS ($n=1$, VUS varyantı) ve abdominal bölgede MET ($n=1$), PIK3CA ($n=1$), FGFR1 ($n=1$) ve SMAD4 ($n=1$) saptanmıştır. Üçüncü varyant olarak servikal bölgede EGFR ($n=1$, VUS varyantı) ve alt torasik bölgede ERBB4 ($n=1$) varyantları tespit edilmiştir. Serimizde tek dördüncü varyant alt torasik bölgede tespit edilen ERBB3 c.3353G>A p.(R1118Q) (NM_001982.4) (VAF % 1.69) ($n=1$) VUS varyantıdır. Çalışmamızda tümör lokalizasyonu ile hiçbir prognostik parametre arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Varyant türlerine göre yapılan karşılaştırmada tümör lokalizasyonuna göre $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Ancak, varyant türleri içinde sayıca en sık görülmüş olan PIK3CA varyantının ($n=17$) sırasıyla %41,2'sinin alt torasik, %35,3'sünün abdominal ve %17,7'sinin servikal yerleşimli tümörlerde saptandığı görülmektedir. Tümör patolojisi ile tümör lokalizasyonu karşılaştırmasında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Ancak, toplam varyantın % 77,8'i SHK, %22,2'si ise AK grubunda tespit edilmiştir.

Özofagus kanserlerinde tümörlerin boyutları, diğer GİS tümörlerinin çoğunda olduğu gibi hastanın doktora başvurduğu zamana bağlı olarak değişkenlik gösterir. Özofagus maligniteleri oldukça geç dönemde bulgu verdikleri için genellikle tümörler saptandığında büyük boyutlara ulaşmış durumdadır. Vakalarımızda en büyük makroskopik tümöral çap 7,5 cm iken en küçük makroskopik tümöral çap 0,8 cm olarak belirlendi. Serimizde 17 SHK'da tümör çapı ortalaması $3,66\pm1,82$ cm iken 6 AK'da tümör çapı ortalaması $3,55\pm1,83$ cm olarak bulundu. Wang ve ark.'ları yaptıkları çalışmada tümör boyutu >3 cm olan tümörlerde prognozun <3 cm olanlara göre daha kötü olduğunu bildirmişlerdir (65). Gertler ve ark.'ları ise çalışmalarında tümör çapının prognostik bir faktör olmadığını, prognoz ile ilişkisinin bulunmadığını göstermişlerdir (66). Bizim serimizde tümörlerin 8'sinde (%34,78) tümör çapı 4,5 cm'den büyük, 15 vakada (%65,21) ise 4,5 cm ve daha küçüktü. Zimmermann ve ark.'larının serisinde tümör çapı vakaların çoğunda ≤ 5 cm (%68,6) idi (67). Çalışmamızda çap ile yaş, cinsiyet, invazyon derinliği, lenf nodu metastazı varlığı, metastatik lenf nodu sayısı,

cerrahi sınır pozitifliği vb. diğer prognostik parametreler arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Opere edilen hasta grubunda tümör çapı $\geq 4,5$ cm olan vakalarda tespit edilen patojenik varyantlar PIK3CA ($n=4$), KRAS ($n=2$) ve FGFR2 ($n=1$) olup ikinci varyant olarak tespit edilen patojenik varyantlar ise PIK3CA ($n=2$) ve EGFR ($n=1$) idi. Yine, tümör çapı $\leq 4,5$ cm olan vakalarda tespit edilen patojenik varyantlar KRAS ($n=2$), PIK3CA ($n=1$) ve ERBB2 ($n=1$) varyantları olup ikinci varyant olarak tespit edilen patojenik varyantlar ise FBXW7 ($n=1$) ve PIK3CA ($n=1$) idi. Hastalarda varyant varlığı ya da yokluğu durumuna göre tümör çapının karşılaştırılmasında tamamında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık söz konusu değildir. Tümör patolojisi grupları ile tümör çapının karşılaştırılmasında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Patolojinin SHK ya da AK olması incelenen tümör çapı değerlerinde farklılık oluşturmamıştır.

Özofajektomi sonrası lokal nüks ve uzun süreli sürviyi etkileyen kilit rolündeki prognostik faktörlerden biri de cerrahi sınır hattıdır. Proksimal ve distal cerrahi sınır pozitifliği ve olumsuz sağkalım sonuçları arasındaki ilişki çok iyi bilinmemektedir. En mükemmel proksimal, distal veya radial cerrahi sınırının ne olması gerektiğine dair yayınlanmış kılavuzlar halihazırda bulunmamaktadır. Klasik bilgiler ışığında pekçok cerrah 10 cm proksimal ve minimum 5 cm distal sınırı tercih etmektedir (68). Özofajektomide distal özofagusun tamamen rezeke edilebileceği göz önüne alındığında geride kalan proksimal özofagus sınırı daha fazla önem arzetmektedir. Önerilen güvenli proksimal cerrahi sınırın boyu belirsiz olmakla birlikte literatürde 3 ila 10 cm arasında değişmektedir. Son dekatta ileri endoskopik teknikler, yüksek rezolüsyonlu 3 boyutlu görüntüleme cihazları, multimodal tedaviler ve uygun hasta seçimleri uzunca bir proksimal cerrahi sınırının pek de şart olmadığını göstermiştir. Barbour ve ark.'ları neoadjuvant tedavi almadan direkt özofajektomi uygulanan 352 hastada yaklaşık 5 cm net proksimal cerrahi sınırın sürvide bağımsız bir prognostik faktör olduğunu bulmuşlardır (69). Kang ve ark.'ları rezeksiyon uygulanan 516 SHK hastası üzerinde yaptıkları çalışmada proksimal cerrahi sınırın ortalama 3.4 ± 2.5 cm olarak belirtmişlerdir (70). Ayrıca, N (+) olan hastalarda sınır boyu <5 cm olması durumunda nüks olasılığının anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Sınır >5 cm olan grupta lokal nüksün %72 iken, <5 cm olan grupta nüks oranını %93 olarak saptamışlardır. Lokal nüksli hastalarda da 5 yıllık sağkalım oranlarını anlamlı olarak daha düşük saptamışlardır. Çalışmamızda tümörün proksimal cerrahi sınıra olan mesafe ortalaması

4,63±2,05 cm iken tümörün distal cerrahi sınıra olan mesafe ortalaması 5,55±3,54 cm olarak hesaplandı. Serimizde en kısa proksimal cerrahi sınır uzunluğu 1,5 cm olup bu olguda PIK3CA varyantı tespit edilmiş olup patojenik olarak kategorize edilmiştir. Yine, en uzun proksimal cerrahi sınır uzunluğu 7 cm olup bu olguda 1. varyant olarak KRAS ve 2. varyant olarak PIK3CA varyantı tespit edilmiş olup her ikisinde patojenik olarak sınıflandırılmıştır. Hastalarda varyant varlığı ya da yokluğu durumuna göre proksimal ve distal cerrahi sınır uzunluklarının karşılaştırılmasında örneklerin tamamında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık söz konusu değildir. Tümör patolojisi ile proksimal ve distal cerrahi sınır uzunluklarının karşılaştırılmasında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Patolojinin SHK ya da AK olması incelenen verilerde farklılık oluşturmamıştır.

Özofagus kanserlerinde hastaların prognozunu tayin eden en kritik klinikopatolojik değişkenler, duvar invazyonu, lenf nodu ve organ metastazı, dolayısıyla evre ve tedavi şekli olduğu günümüzde artık ortak bir görüş olarak kabul edilmektedir (71). Bir seride bunlara ilaveten tümör çapının da hastaların sürvisini etkileyebildiği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda Evre 0 evresinde olan vakaların %25'inde, 1A evresindeki vakaların tamamında, 1C evresindeki vakaların tamamında, 2B evresindeki vakaların %80'inde ve 3B evresindeki vakaların % 87,5'inde varyant (+) olduğu tespit edilmiştir. Bizim bulgularımız da literatürle uyumlu şekilde evre ilerledikçe prognozun bundan kötü etkilendiği şeklindedir ve bu değerler istatistiki olarak anlamlı çıkmıştır ($p<0.05$). Ancak, varyant türlerine göre yapılan karşılaştırmada ise evre gruplarında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Toplamda 19 varyantın %52,6'sı 3B evresinde ve % 26,3'ü de 2B evresindedir. PIK3CA varyantının 6'sı (%75) evre 3B olgularda tespit edilmiş olup tamamı patojenik olarak sonuç vermiştir. KRAS varyantının 2'si (%50) yine evre 3B olgularda tespit edilmiş olup ikisinde patojenik olarak sınıflandırılmıştır. EGFR varyantının 2'si (%66,7) ise evre 2B olgularda tespit edilmiş olup bunlar VUS grubunda yer almıştır.

Tümör invazyon derinliğini temsil eden T evresi literatürde yer alan çalışmalarda hayati bir prognostik faktör olarak gösterilmiştir (72). Bizim çalışmamızda opere edilen hastaların cerrahi spesimenlerinin histopatolojik incelemelerinde 3 vaka (%12) lamina propria, muskularis mukoza veya submukoza invazyonu göstermekteydi (pT1). Bunlardan biri (%4) lamina propria (pT1a), biri (%4) muskularis mukoza (pT1b)

ve biri de (%4) submukozada (pT1c) sınırlı idi. Dokuz (%36) vakada muskularis propria invazyonu izlendi (pT2). Sekiz (%32) vakada adventisya invazyonu (pT3) izlenirken bir (%2,5) vakada komşu yapılara invazyon tespit edildi (pT4). Ayrıca, endoskopik ultrasonografi ile T evresi hesaplanan hastaların 2'si (%13,3) uT2 evresinde, 11'i (73,3) uT3 evresinde ve 2'si (%13,3) uT4 olarak saptanmış olup tümör patolojisi ile endosonografik T evresi (uT evresi) grupları karşılaştırılmasında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı anlaşılmıştır. Ancak, uT evresi incelenen vakaların %73,3'ünün SHK grubunda, %26,7'sinin ise AK grubunda yer aldığı görülmektedir. Çalışmamızda invazyon derinliği ile varyant varlığına göre yapılan karşılaştırmalarda literatür ile uyumlu olarak aralarında ilişki bulunmuştur ($p=0,019$). Serimizde T evresine göre varyant türleri incelendiğinde T0 evresindeki 1 olguda ERBB4 varyantı saptanmış olup VUS grubunda yer almıştır. T1 evresindeki 1 olguda PIK3CA varyantı ve 1 olguda 1.varyant olarak KRAS ve 2. olarak varyant PIK3CA saptanmış olup hepside patojenik idi. T2 evresindeki 1 olguda 1.varyant olarak KRAS ve 2. varyant olarak FBXW7 olarak saptanmış olup ikiside patojenik idi. T2 evresindeki diğer 2 olguda da EGFR varyantı saptanmış olup ikiside VUS grubunda yer almıştır. T3 evresindeki 3 olguda PIK3CA varyantı, 1 olguda 1.varyant olarak PIK3CA ve 2. varyant olarak EGFR, 2 olguda 1.varyant olarak KRAS ve 2. varyant olarak PIK3CA ve 1 olguda 1.varyant olarak KRAS ve 2. varyant olarak FBXW7 saptanmış olup tümü patojenik idi. T4 evresindeki birinci olguda FGFR2 varyantı saptanırken ikinci olguda 1.varyant olarak KRAS ve 2. varyant olarak PIK3CA saptanmış olup tamamı patojenik idi. Bu bulgular invazyon derinliğinin önemli bir prognostik faktör olduğunu destekler özellikteydi. Chen ve ark.'ları yaptıkları çalışmada invazyon derinliğini, lenf nodu metastazı ve uzak organ metastazından bağımsız olarak ayrı bir prognostik faktör olarak değerlendirmişlerdir (73). Çalışmamızda da invazyon derinliği ile varyant varlığı arasında anlamlı ilişki izlenmiştir ve bu bulgu Chen ve ark.'larının çalışmasını destekler niteliktedir. Serimizde literatürle uyumlu olarak invazyon derinliği arttıkça lenf düğümü metastazı ($p<0,05$) ve perinöral invazyon olasılığı ($p<0,05$) artmaktaydı. Bu sonuçlar invazyon derinliğinin özofagus kanseri vakalarında önemli bir prognostik faktör olduğunu destekler niteliktedir. Öte yandan, invazyon derinliği ile yaş, cinsiyet, tümör çapı, tümör lokalizasyonu, cerrahi sınır pozitifliği, histolojik grade vb. arasında anlamlı ilişki tespit edilmemiştir.

Tüm solid yapıdaki tümörlerde görüldüğü üzere çoğunlukla diferansiyasyon derecesi azaldıkça tümörlerin daha hızlı ve kötü bir seyir sergileyecekleri görüşü hakimdir. Özofagus SHK'ları genel olarak orta ve iyi diferansiye tümörlerden oluşur. Ancak, özofagusun anatomik ve histolojik özellikleri yüzünden prognoz kötü yönde etkilenmektedir. Literatürde orta derecede differansiye tümörlerin (grade 2) SHK'ların ortalama 2/3'ünü oluşturduğu bildirilmiştir (58,64). Bir çalışmada tümörlerin %32'si iyi diferansiye, %51'i orta diferansiye ve %17'si ise az diferansiye olarak bulunmuştur (74). İyi diferansiye vakalarda tümörün çoğalma hızı yavaş, az diferansiye olanlarda ise çok hızlıdır. Ancak, burada kritik olan unsur hastadaki tümörün hangi evrede yakalanmış olduğudur. Bizim çalışmamızda histolojik grade literatürden farklı olarak dağılmaktaydı ve grade 1 tümörler vakaların çoğunluğunu oluşturmaktaydı. Bizim serimizde 11 vaka (%36,66) grade 1 (iyi diferansiye), 10 vaka (%33,33) grade 2 (orta diferansiye) ve 9 vaka (%30) grade 3 (kötü diferansiye) şeklindeydi. Bu oranlar az diferansiye karsinomun diğerlerine göre daha az görüldüğü tezini destekler niteliktedir. Serimizde histolojik diferansiyasyona göre varyant türleri incelendiğinde iyi diferansiye tümörlerde patojenik varyantlardan 2 olguda PIK3CA varyantı, 1 olguda 1.varyant olarak KRAS, 2. varyant olarak KRAS ve 3.varyant olarak PIK3CA ve 1 olguda ise VUS grubunda yer alan SOD2 varyantı saptanmıştır. Orta diferansiye tümörlerde patojenik varyantlardan 2 olguda PIK3CA varyantı, 2 olguda 1.varyant olarak KRAS ve 2. varyant olarak PIK3CA, 1 olguda 1.varyant olarak PIK3CA ve 2. varyant olarak EGFR, 1 olguda ERBB2 varyantı, 1 olguda FGFR2 varyantı ve 1 olguda ise VUS grubunda yer alan EGFR varyantı saptanmıştır. Az diferansiye tümörlerde patojenik varyantlardan 1 olguda PIK3CA varyantı, 1 olguda 1.varyant olarak KRAS ve 2. varyant olarak PIK3CA saptanmıştır. Yine 1 olguda 1.varyant olarak VUS grubunda ERBB2 varyantı ve 2. varyant olarak patojenik grupta MET varyantı, 1 olguda 1.varyant olarak VUS grubunda ALK varyantı ve 2. varyant olarak patojenik grupta KRAS varyantı, 1 olguda muhtemel patojenik grupta yer alan FBXW7 varyantı ve 1 olguda ise VUS grubunda yer alan EGFR varyantı saptanmıştır. Gertler ve ark.'ları 2920 hasta üzerinde yaptıkları uzun süreli kohort çalışmasında histolojik grade ile sürvi arasında anlamlı ilişki gösterememişlerdir (66). Çalışmamızda da bu çalışma ile uyumlu olarak histolojik grade ile prognostik parametrelerden hiç birisi arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Öte yandan, tümör patolojisi ile tümör diferansiyasyonu grupları karşılaştırmasında $p<0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olduğu anlaşılmıştır. Tümör

diferansiyasyon derecesine göre az diferansiye olan grup %55,6 oranında SHK grubunda, orta diferansiye olan grup %70 oranında SHK grubunda ve iyi diferansiye olan grup ise % 100 oranında SHK grubunda tespit edilmiştir.

Lenf nodu metastazı en hayati prognostik faktörlerden biridir. Bilhassa tutulan lenf nodu sayısı uzun dönemde prognozu belirlemede çok kritik bir role sahiptir (72). Çalışmamızda lenf nodu metastazı olan vaka sayısı 9 (%36) olup 16 vakada (%64) lenf nodu metastazı izlenmemiştir. Lenf nodu metastazı bulunan vakaların 3'ünde (%33,33) metastatik lenf nodu sayısı 1-2 (N1), beşinde (%55,55) 3-6 (N2), birinde (%11,11) ise ≥ 7 (N3) olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak metastatik lenf nodu sayısı arttıkça (N değeri) prognoz kötüleşmekteydi ($p=0,001$) Lenfovasküler invazyon ile lenf nodu metastazı arasında anlamlı bir ilişki izlenmiştir ($p=0,001$). Diğer prognostik parametreler ile lenf nodu metastazı arasında ilişki saptanmadı. Bu bulgular da lenf nodu metastazının diğer prognostik parametrelerden bağımsız olarak etkili olan bir prognostik faktör olduğunu destekler nitelikteydi. Li ve ark.'larının 2009 yılında yaptıkları çalışmada 605 özofagus SHK tanılı hastalardan oluşan seride olguların %74,2'sinde (449'unda) lenf nodu metastazı tespit edilmiştir (75). Bu seride görülen metastatik lenf nodu sayılarının oranı 239 vaka N1 (%39,5), 210 vaka ise (%34,7) N2 ve N3 idi. Serimizde tümörün invazyon derinliği ($p<0,05$) ve histolojik grade ($p<0,05$) arttıkça lenf nodu metastazı olasılığının arttığı tespit edildi. Literatürde ≥ 2 lenf nodu metastazı bulunan vakaların 1 lenf nodu metastazı olanlara kıyasla daha kötü prognoza sahip oldukları bildirilmektedir (76). Ancak bizim çalışmamızda lenf nodu metastazı varlığı veya metastatik lenf nodu sayısı ile prognoz arasında ilişki bulunmadı. Serimizde N1 grubunda patojenik varyantlardan 1 olguda ERBB2 varyantı, 1 olguda PIK3CA varyantı, 1 olguda 1.varyant olarak KRAS ve 2. varyant olarak PIK3CA varyantı saptanmıştır. N2 grubunda patojenik varyantlardan 2 olguda PIK3CA varyantı, 1 olguda 1.varyant olarak PIK3CA varyantı ve 2. varyant olarak EGFR varyantı ve 1 olguda ise 1.varyant olarak KRAS varyantı ve 2. varyant olarak PIK3CA varyantı saptanmıştır.

Lenfovasküler invazyon literatürde negatif prognostik faktör olarak ele alınmaktadır. Schacht ve ark.'ları lenfovasküler invazyonun pN sınıflamasında yer alması gerektiğini ve bunun onkologlar için agresif tedavi yönünde bir işaret olabileceğini bildirmişlerdir (77). Çalışmamızda da lenfovasküler invazyon ve prognoz arasında anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,01$). Aynı zamanda lenfovasküler invazyonun

olduğu vakaların çoğunun ileri evre vakalar olduğu izlenmiştir ($p<0,001$). Serimizde invazyon derinliği arttıkça lenfatik invazyon olasılığının arttığı tespit edildi ($p=0,019$). Bu sonuçta literatürle uyumludur. Dolayısıyla çalışmamız literatürle uyumlu olarak lenfovasküler invazyonun ve dolayısıyla lenfatik belirteçlerin önemini destekler özellikteydi. Serimizde lenfovasküler invazyon (+) olan vakalarda %75 oranında varyant (+) iken, lenfovasküler invazyon (-) olanlarda hiç varyanta rastlanmamıştır. Lenfovasküler invazyon (+) olan vakalarda patojenik varyantlardan 4 olguda PIK3CA varyantı, 1 olguda ERBB2 varyantı, 1 olguda FGFR2 varyantı, 3 olguda 1.varyant olarak KRAS ve 2. varyant olarak PIK3CA varyantı, 1 olguda 1.varyant olarak PIK3CA ve 2. varyant olarak EGFR varyantı, 1 olguda 1.varyant olarak KRAS ve 2. varyant olarak FBXW7 varyantı, 1 olguda EGFR VUS varyantı saptanmıştır.

Özofagus kanserinin primer tedavi yöntemi cerrahi tedavidir. Ancak, özofagus kanserli hastaların büyük çoğunluğu hastaneye başvurduğu sırada inoperabl evrededir. İnoperabilite nedenleri, ileri yaş, genel durum bozukluğu, kaşeksi, uzak metastaz, yandaş pulmoner ve kardiyak hastalıklar, kontrolsüz diyabet, trakeo-bronşial ağaç ve mediastene perforasyon, supraklaviküler lenfadenopati, lokal invazyon, kord vokal paralizi, karaciğer metastazı ve hastanın operasyonu reddetmesidir (78). Serimizde 11 hastaya (%30,6) inoperabilite kriterleri taşıdığından palyatif amaçlı gastrotomi veya jejunostomi şeklinde beslenme tüpü takılmıştır. Özofajektomi yüksek morbidite ve mortalite oranlarına rağmen kürabilite ve iyi planlanmış palyasyon ile uzun süreli sürvi sağlayan tek yöntem olması nedeniyle kontrendikasyon taşımayan tüm olgularda en iyi seçenektir (79,80). Fakat, en mükemmel cerrahi teknik konusunda tartışmalar halen sürmektedir. Özofagus kanseri için ameliyat yönteminin seçiminde cerrahın tecrübesi, tümörün yerleşim yeri, hastanın performans durumu, geçirilmiş operasyonlar, özofagus replasmanında kullanılacak organ tercihi ve daha önceden radyoterapi görmesi gibi faktörler kritik rol oynar (81). Cerrahi olarak hangi tekniğin tercih edileceği postoperatif morbidite ve mortalite açısından da önem arz etmektedir. Biz serimizde üst ve orta torasik tümörlerde daha çok transtorasik yaklaşımı, distal yerleşimli tümörlerde ise transhiatal yaklaşımı uyguladık. Orringer prosedürü dediğimiz transhiatal rezeksiyonun potansiyel avantajları daha az invaziv olması ve hızlıca yapılabilmesidir. Torakotominin olmaması postoperatif ağrının daha az hissedilmesine, pulmoner komplikasyonlarının daha az görülmesine ve daha çabuk iyileşmeye imkan sağlamaktadır. Ivor-Lewis prosedürü dediğimiz transtorasik girişimde ise diseksiyonun direk görüş altında

yapılması ve böylece olası trakeo-bronşial ağaç, vena azigos ve duktus torasikus yaralanmalarının daha az gelişmesi söz konusu olmaktadır. Transtorasik özofajektominin diğer bir avantajı ise mediastinal ve paraözofageal lenfatik diseksiyon yapılmasına imkan vermesidir. Son dekatta ise minimal invaziv yöntemler özofajektomilerde gitgide artan kullanım oranlarına erişmiştir. Rindani ve ark.'ları 44 çalışmayı içeren bir meta-analizde hem Ivor-Lewis prosedürünü hem de transhiatal özofajektomiye irdeledi (82). Ciddi kanama, kardiyak komplikasyonlar veya pnömonide her iki grup arasında anlamlı fark yoktu. Ancak, anastomoz kaçak oranında (transhiatal %16, transtorasik %10), striktür oranında (transhiatal %28, transtorasik %16) ve rekürren sinir hasarında (transhiatal %11, transtorasik %5) anlamlı farklılıklar görüldü. Uzun dönem sürvi her iki grupta da ortalama %25 idi. Hulscher ve ark.'ları 1990-1999 yılları arasında yapılmış olan 50 çalışmadan oluşan bir meta-analiz yaparak transhiatal ve transtorasik özofajektomiye kıyaslamışlardır (83). Kardiyak komplikasyonlar (%20'ye karşı %17), anastomoz kaçağı (%24'e karşı %7) ve kord vokal paralizi (%10'a karşı %4) transhiatal grupta daha yüksekti. Pulmoner komplikasyonlar (%19'a karşı %13), hastane mortalitesi (%9'a karşı %6) ve operasyon süresi transtorasik özofajektomi grubunda daha yüksekti. Kapsamlı uzun dönem sürvi oranları her iki grupta da benzerdi (transhiatal %21,7, transtorasik %23). Bizim serimizde hastaya ait faktörler ve tümör lokalizasyonu da göz önünde bulundurularak sıklık sırasına göre 11 hastaya (%30,6) transhiatal özofajektomi (Orringer prosedürü), 9 hastaya (%25) transtorasik özofajektomi (Ivor-Lewis prosedürü) ve 5 hastaya da servikal anastomozlu transtorasik özofajektomi (McKeown prosedürü) uygulanmıştır. Transhiatal özofajektomi'de mortalite daha düşük idi, bu durum toraksın açılmamasına bağlandı ve diğer 2 yönteme nazaran postoperatif hasta memnuniyeti daha iyi, analjezik ihtiyacı daha az ve hasta mobilizasyonu ve taburculuğunun daha erken olduğu görüldü. Çalışmamızda cerrahi tekniklerin, patolojik materyaller incelendiğinde lenf nodu diseksiyon yetersizliğine yol açmadığı görüldü. Operasyon yöntemi olarak Orringer prosedüründe %72,7, McKeown prosedüründe %40, Ivor-Lewis prosedüründe %44,4 ve beslenme tüpü yerleştirilmesinde %54,5 oranında varyant söz konusu idi. Varyant türlerine göre yapılan karşılaştırmada operasyon tipine göre $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı söylenebilir. Ancak, toplam 26 varyantın %42,3'ü Orringer prosedürü, %26,9'u beslenme tüpü takılması, %10,23'ü Ivor-Lewis prosedürü ve %11,5 oranında McKeown prosedürü grubunda yer aldığı görülmektedir. Operasyon grupları içinde en yüksek frekansa sahip varyant incelendiğinde Orringer prosedürü uygulanmış hastalarda 6 adet (%66,7) PIK3CA varyantı tespit edilmiş olup bunların tamamının

patojenik olduğu görülmüştür. Tümör patolojisi ile operasyon tipleri karşılaştırmasında $p>0,05$ bulunduğundan anlamlı farklılık olmadığı anlaşılmıştır. Ancak, tüm operasyonların %75'inin SHK grubunda, %25'inin ise AK grubunda yer aldığı görülmektedir.

Bu çalışma, özofagus alt uçtaki tümör mutasyon profilinin, YND'ye göre özofagus üst uçtaki tümör mutasyon profilinden farklı olduğunu gösterdi. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da YND sonuçları özofagus distalindeki kanserlerinin onkolojik olarak neden daha agresif davrandığını açıklayabilir. Bu durum hem mutasyon profili hem de mutasyon sayısı ile analiz edildi. Bu çalışmanın kemoterapötik direnç ve tedaviyi değiştirme duyarlılığı hakkında önemli bilgiler sağlayacağını düşünüyoruz. Tanımlanan polimorfizmler aynı zamanda özofagus kanser riskinin arttığı ve yakın takip protokollerinin gerekli olduğu prognostik belirteçler hakkında da fikir vermektedir.

Yeni nesil dizileme teknolojisi, kanser dokularındaki genomik anormallikleri analiz etme yeteneğinde devrim yarattı (84). Son yıllarda bu teknoloji daha uygun fiyatlı hale geldi ve kanserler üzerinde geniş kapsamlı, işbirlikçi tam genom çalışmalarına yol açtı (85). Toplanan veriler, tümör gelişimine yön veren genler ve yolaklar hakkındaki anlayışımızı geliştirdi, ilaç geliştirme ve tedavi stratejileri için rasyonel bir temel sağladı ve kanser sınıflandırması, tanısı ve prognozunun belirlenmesi için potansiyel belirteçlerin tespit edilmesini sağladı (86). Sonuç olarak, şu anda test için talep edilen spesifik gen anormalliklerinin sayısı hızla artmaktadır. YND teknolojisinin klinik ortamında geçerliliğinin acilen doğrulanması gerekmektedir. Numune alımından raporlamaya kadar tüm iş akışını ele alan çalışmalar, klinikte uygulanması açısından kritik öneme sahiptir (87). Klinik biyobelirteçlerin sayısının hızla artmasıyla birlikte, tek bir hasta numunesi için sıklıkla birden fazla test talep edilmekte ve bu nedenle sıklıkla çeşitli kanser türlerinde ortak olan çoklu bir test grubuna daha fazla gereksinim vardır. Bu bağlamda, YND'nin bu talepleri karşılamaya son derece uygun olduğu giderek daha fazla kabul edilmektedir (88).

Yeni nesil dizilemenin bu bağlamda özellikle yüksek duyarlılık ve düşük DNA giriş gereksinimi ile tek bir tahlilde birden fazla numunedeki birden fazla hedefi tarama kapasitesi gibi bir takım belirgin avantajları vardır. Refleks testi için son derece uygundur ve daha hızlı geri dönüş süresine sahiptir, daha fazla maliyet-etkindir ve klasik platformlara göre daha az numune DNA girişi gerektirir. YND çok yönlüdür

çünkü tek nükleotid varyantlarını, delesyonları ve insersiyoları kolaylıkla tanımlayabilir. Ayrıca, kesin varyant allel sıklıklarını gösterebilir ve yeni dizi varyantlarını da tespit edebilir. Bazı laboratuvarlar, birkaç farklı gen paneli ve platformu kullanarak bir dizi farklı kanser türü için YND ile ilgili bulgularını yayınlamıştır (89). YND'nin klinik teşhis ortamında kullanımına ilişkin kılavuzlar yakın zamanda Avrupa Genetik Derneği ve Amerikan Patologlar Koleji gibi düzenleyici kurumlar tarafından yayımlanmıştır. Bununla birlikte, YND'nin klinik ortamda kullanımı hala erken gelişim aşamasındadır ve tanı laboratuvarları tarafından yürütülen daha ileri geçerlilik doğrulama çalışmalarına ihtiyaç vardır. Tesadüfen saptanan veya yeni keşfedilen anormalliklerin raporlanmasıyla ilgili olarak da daha açık politikalara gereksinim vardır.

Günümüzde, Onkolojide Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı (National Comprehensive Cancer Network - NCCN) Klinik Uygulama Kılavuzlarına göre (Esophageal and Esophagogastric Junction Cancers Version 2.2023 — April 2023), ileri evre özofagus ve özofagogastrik bileşke kanserlerinin klinik yönetiminde HER2/ERBB2 durumu, MSI veya MMR durumu, PD-L1 ekspresyonu, tümör mutasyon yükü-yüksek (tumor mutational burden-high - TMB-H) durumu, nörotrofik tropomiyozin ile ilişkili kinaz (neurotrophic tropomyosin-related kinase - NTRK) gen füzyonları, transfeksiyon sırasında yeniden düzenlenen gen füzyonları (rearranged during transfection - RET) ve BRAF V600E mutasyonları için immünohistokimya ve/veya moleküler testler kullanılmaktadır (90). Test için sınırlı doku mevcut olduğunda veya hastaya klasik biyopsi yapılamadığında, ERBB2 amplifikasyonu, MSI durumu, MMR eksikliği, TMB, NTRK gen füzyonları, RET gen füzyonları ve BRAF V600E mutasyonlarının tanımlanması için geçerli bir YND testi aracılığıyla kapsamlı genomik profil oluşturma kullanılabilir. İlk önce immünohistokimya, in situ hibridizasyon veya hedefe yönelik PCR kullanımı düşünülmeli, ardından uygun şekilde YND testi yapılmalıdır. Daha fazla alt grup tanımlandıkça biyobelirteç panelinin genişlemesi beklenmektedir.

Bu çalışmada hedeflenebilir YND kullanılarak rutin klinik uygulamada tümörün retrospektif olarak analiz edildiği geniş bir özofageal kanser hasta serisini rapor etmekteyiz. Peşpeşe 85 özofageal kanser hastasında tümörün moleküler profillemeye işlemi %100 başarılı oldu. Bu çalışmada bildirilen özofageal tümörlerin moleküler profili, literatürde ve kamuya açık veritabanlarında bildirilenlere benzerdir (21). Serimizde, pek çoğu PIK3CA ($n=17$), KRAS ($n=7$), EGFR ($n=5$), EGFR-VUS ($n=5$),

ERBB2 ($n=4$), MET ($n=3$), FGFR1 ($n=3$) ve NRAS ($n=3$) mutasyonu taşıyan 85 hasta için potansiyel olarak hedeflenebilir mutasyonlar tespit ettik. Bir ile dört arasında olan mutasyon sıklığının çoğunlukla özofagus alt uçta yoğunlaştığını gözlemledik. Çalışmamızda gözlemlenen bir hastanın ≥ 2 mutasyon taşıyıcısı olması hastada yüksek kemoterapötik ilaç direnci gelişimine katkıda bulunmuş olabilir.

Son zamanlarda yapılan birçok büyük ölçekli dizileme ve çoklu platform çalışmaları, özofageal SHK'un mutasyonel, transkriptomik ve epigenetik profillerini değerlendirmiştir (17,21,32,33) TCGA verilerine göre, nokta mutasyonları ve küçük insersiyolar veya delesyonlar (indeller) en yaygın olarak TP53, KMT2D (lizin metiltransferaz-2D'yi kodlayan; MLL2 olarak da bilinir) ve NFE2L2'de (nükleer faktör eritroid-2 benzeri 2'yi kodlayan) tespit edilirken, amplifikasyonlar da sıklıkla SOX2, TP63 ve FGFR1'de (sırasıyla SRYbox 2'yi, tümör proteini 63'ü ve fibroblast büyüme faktörü reseptörü 1'i kodlar) identifiye edildi. EGFR sinyal yolağı, tümörlerin %19'unda mutasyon veya amplifikasyon yoluyla aktive olmaktadır ve PIK3CA tümörlerin %13'ünde aktive haldedir (91). Bu yolların her biri, şu anda diğer tümör türlerinde kullanım için onaylanmış olan tirozin kinaz inhibitörleri kullanılarak başarıyla hedeflenmiştir. Uluslararası kılavuzlara göre RAS mutasyonunun varlığı, anti-EGFR tedavisine kontrendikasyondur (92). Bununla birlikte, nadir genlerdeki belirli mutasyonların keşfi, hastanın bir klinik çalışmaya veya tıbbi gereksinim programına dahil edilmesiyle tedavide değişikliğe sebep olabilir.

Özofageal AK, diğer kanserlere göre yüksek nokta mutasyon yüküne sahiptir [(Mb başına 9,9 mutasyon (aralık: Mb başına 7,1-25,2)], ancak bu mutasyon yükü akciğer kanseri ve malign melanomunkinden daha düşüktür (20,93). Bununla birlikte, özellikle TP53, CDK2NA ve ARID1A (AT-rich interaction domain 1A'yı kodlayan) gibi tümör baskılayıcı genlerde nokta mutasyonlar bol miktarda bulunmasına rağmen, yapısal değişiklikler AK'un doğasına hakimdir (16,20,21,93,94). Kopya sayısı değişiklikleri (amplifikasyonlar ve delesyonlar) yaygındır; potansiyel tedaviye uygun amplifikasyonlar sıklıkla reseptör tirozin kinazları (yani, HER2 (insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2'yi kodlayan; ERBB2 olarak da bilinir), EGFR, KRAS ve FGFR2), hücre döngüsü düzenleyicilerini (örneğin, CCND1 ve CDK6 (sikline bağımlı kinaz 6'yı kodlar)) ve transkripsiyon faktörleri (örneğin, MYC, GATA4 (GATA bağlayıcı protein 4'ü kodlar) ve GATA6) kodlayan genlerde bulunur (20,21,95). Reseptör tirozin

kinazların ko-amplifikasyonu (yani, aynı tümörde birden fazla genin amplifikasyonu) yaygındır (özellikle *HER2* ve *EGFR* için) ve muhtemelen hedefe yönelik tedaviye hem *de novo* hem de sonradan kazanılmış dirençle ilişkilidir, bu durum da ilaç seçimi ve geliştirilmesi açısından zorluk teşkil etmektedir (96).

Özofagus maligniteleri histopatolojiye göre ya SHK ya da AK olarak ikiye ayrılır ve bu 2 kategori farklı anatomik bölgeler, çevresel risk faktörleri, doğal seyir ve tedavi sonuçlarıyla ilişkilidir. Özofagus SHK'ı ağırlıklı olarak özofagusun üst 2/3'ünden kaynaklanır. Buna karşılık, özofagus AK'u, GÖB'nin yakınında, distal özofagusta ortaya çıkma eğilimindedir. AK'un lokalizasyonu %94 oranında trakeal bifürkasyonun altındadır, SHK'un ise %75'inde trakeal bronş ağacına teması vardır. SHK daha erken lenfatik yayılım ve daha kötü prognoz gösterir (12). Farklı lokalizasyon ve farklı komorbiditeler, farklı tedavi stratejileri gerektirir. Bu nedenle günümüzde SHK ve AK'un farklı patogenezi, epidemiyolojisi, tümör biyolojisi ve prognozu olan, farklı tedavi stratejileri gerektiren iki farklı hastalık olduğuna şüphe yoktur. Gelecekte karşılaştırılabilir sonuçlar sağlamak için iki farklı tümör varlığının ayrı ayrı analiz edilmesi ve raporlanması gerekmektedir.

Özofageal SHK veya AK hastaları geçmişte benzer yöntemler kullanılarak tedavi edilmiş olsa da, bu iki histolojik alt tip arasında bariz biyolojik farklılıklar mevcuttur (21). Bu heterojenliğin radyoterapiye verilen yanıtlar, metastatik yayılma şekilleri ve klinik çalışma sonuçlarının yorumlanması üzerinde etkileri vardır. Özellikle, SHK'un radyoterapiye karşı yüksek duyarlılığı, kemoradyoterapiyi takiben hastaların büyük bir bölümünde (hastaların %40'a varan oranında ilk 2 yılda hastalık ilerlemesi durmuştur) tam ve kalıcı patolojik yanıtlara yol açar ve hatta tam yanıt verenlerin bir kısmında ameliyat gereksiz hale bile gelebilir (90,97,98). SHK'lu hastaların aksine, AK'lu hastalara kemoradyoterapiye iyi bir klinik yanıt alınsa bile cerrahi rezeksiyon yapılması önerilir çünkü kemoradyoterapiye tam histopatolojik yanıt oranı SHK'da AK'ya göre daha düşüktür ve primer tümör bölgesinde mikroskopik pozitif hastalık oranı daha yüksektir (90,97). Biyolojik ve klinik kanıtlar, proksimal ve distal özofagus kanserlerin farklı moleküler yolları izlediğini desteklemektedir. Serimizdeki hastalarda tespit edilen genetik değişikliklerin tümör lokalizasyonu açısından dağılımına baktığımızda en yüksek mutasyon sayılarının ve en fazla patojenik varyant türlerinin

özofagusun alt uç gruplarında bulunduğunu söyleyebiliriz. Bu durum, özofagus distal kanserlerinin agresif davranışını açıklayabilir.

Yeni nesil dizileme sistemleri son on yılda rutin klinik uygulamalarda yer almaya başlamış ve özellikle kanser alanında hasta tedavisi açısından ön plana çıkmıştır. Adjuvan tedavi protokollerinin moleküler genetik inceleme sonuçları dikkate alınarak planlanması ve yüksek riskli olarak tanımlanan hastaların yakın takibi, daha iyi onkolojik sonuçlarla ilişkilendirilebilir. YND sistemleri kullanılarak, klinik tanı ve korelasyonun belirlenmesi ile kişiye özel tedavi mümkündür. Moleküler araştırmalara yönelik adjuvan tedavi protokollerinin planlanması daha iyi onkolojik sonuçlarla ilişkilendirilebilir. Yüksek riskli olarak tanımlanan hastaların daha yakından takip edilmesi gerekmektedir. Ailesel özofageal kanser (polimorfizm) riski taşıyan hastalarda daha değerli bir öneridir.

Hastalarda çalışılan genetik testler ile tespit edilen ancak protein üzerindeki rolü veya patojenitesi bilinmeyen mutasyonların izlendiği varyantlar, klinik önemi bilinmeyen varyant, yani VUS olarak adlandırılmaktadır. Genetik testler ve YND neticesinde VUS görülmesi, kanserin erken tanı ve teşhisi esnasında ortaya çıkan en kritik güçlüklerden birini oluşturur. Klinik önemi belirsiz varyantların tespitinde VUS'ların kanser türüyle bağdaştırılması amacıyla toplumsal veri elde edilmesi ve VUS'ların kanserle ilişki içinde olduğu proteinin işlevi üzerindeki etkisinin ortaya konulmasına yönelik moleküler analizler yapılması önem taşımaktadır. VUS'lar bilhassa coğrafi bölge bazında farklılık gösterebileceğinden, bu çalışmaların ülkemiz için de yapılması önem teşkil eder. VUS'ların hastalıkla bağdaştırılması ve bu anlamı bilinmeyen mutasyonların proteinler üzerinde ne gibi etkiler gösterdiğinin araştırılması konusunda bilimsel çalışmalara gereksinim duyulduğu yadsınamaz bir gerçektir. Bizim çalışmamıza göre özofagus kanser oluşumunda rol oynamış olan EGFR, ERBB2, ERBB3, ERBB4, KRAS, ALK ve SOD2 genlerinde YND multigen panelleri aracılığı ile hastalarda tespit edilen VUS'ların kanserle ilinti derecesinin ve anlamının belirlenebilmesi için bu genlerin ürettiği mutasyona uğramış proteinlerde görülen işlevsel değişikliklerinde araştırılması büyük öneme haizdir.

Özofagus kanserinin tedavisi için birçok yeni terapi veya tedavi hedefleri test edilmiştir ve birçok umut verici çalışma devam etmektedir. Son on yılda özofagus kanserinde hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesi, trastuzumab dışında hayal kırıklığı

yarattı. Uluslararası randomize kontrollü çalışmalarda EGFR'yi, tirozin-protein kinaz MET'i (hepatosit büyüme faktörü reseptörü olarak da bilinir), rapamisinin mekanik hedefini (mTOR) ve VEGF ve FGFR yollarını hedef alan ajanları araştırmış ancak başarılı olamamıştır (99-106). Özofageal AK için biyobelirteç seçimi ve hedefe yönelik tedaviyle ilişkili zorluklara HER2 ekspresyonu örnek olarak gösterilmektedir; HER2'nin aynı hastada ciddi anlamda heterojen oluşu ve anti-HER2 tedavisine yanıtta heterojenitenin olumsuz etkisine dair açık kanıtlar birikmektedir (107-109). Hedefe yönelik tedaviye yanıt üzerine gen kopya yükünün, tümör içi heterojenitenin ve reseptör tirozin kinaz ko-amplifikasyonunun rolü, EGFR-amplifiye, FGFR-amplifiye ve MET-amplifiye gastroözofageal tümörler için de gösterilmiştir (110-112). Reseptör tirozin kinazların amplifikasyonu, özofageal AK'da (ve kromozomal olarak instabil mide kanserinde) hedeflenebilir anahtar lezyonlardan biri olduğundan, tümörünün gerçekten reseptör tirozin kinaz sinyal yolağına bağımlı olan ve bu yolları hedef alan ilaçlardan fayda görme olasılığı en yüksek olan hastaların belirlenmesi gelecekte karşılaşılabilecek önemli bir sorundur.

Sonuç olarak, hedeflenebilir multigen panelinin kullanımı, prognoz tahminine ilaveten terapötik ajanlara yanıtın tahmin edilmesi veya yeni tedavi yöntemlerinin endikasyonlarının belirlenmesi yoluyla klinik sonuçların pratik kullanımında iyi tasarlanmış bir YND akış şemasının değerini gösterdi. Bu çalışma, YND'nin bizi bireyselleştirilmiş onkolojiye yaklaştıran ilerlemelere nasıl götüreceğini ve onkoloji pratiğinde tıbbın nihai amacını gerçekleştirmek için kişiselleştirilmiş tedavi kararlarına rehberlik etmek üzere giderek daha fazla nasıl kullanıldığını ortaya koymuştur.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tek merkezli retrospektif çalışmada özofagus kanserlerinde moleküler farklılıkların analizi ve prognostik sonuçları üzerine, klinik pratik kaynaklı gerçek yaşam verilerini sunduk. Çalışmamızın sonuçları tedavi etkinliğini optimize etmede primer tümör lokalizasyonu ve moleküler özellik durumlarına göre hasta seçiminin desteklenilmesinin, onkolojik sonlanım noktalarında anlamlı iyileşme sağlayacağını düşündürerek, daha önce yapılmış randomize çalışmaların bu yöndeki sonuçları ile örtüşmektedir.

Bu çalışmanın bazı kısıtlamaları vardır. İlk olarak, tek merkezli retrospektif bir çalışmadır ve bu nedenle seçim yanlılığı olasılığını taşır. Bu yanlılığı azaltmak için, endoskopik biyopsi yapılan ve ameliyat geçiren özofagus kanserli hastalar için rutin YND testi başlatıldıktan hemen sonra çalışma popülasyonuna ardışık tüm hastaları kaydettik. İkincisi, bu çalışma kemoterapinin kesin etkisini dikkate almamıştır. Ayrıca çalışmamızda uzun dönem onkolojik sonuçlar eksik olduğundan prognostik önemi ile ilgili yeteri kanıt sağlayamadık.

Yeni nesil dizileme, özofagus kanserlerinde çok önemli tanısal, prognostik ve öngörücü etkileri olan önemli bir testtir. Bu nedenle, mutasyon durumunun test edilmesi özofagus kanserlerinde kritik öneme sahiptir ve yeni teşhis edilmiş özofagus kanseri olan tüm hastalar için önerilmelidir. Patojenik ve çoklu mutasyon taşıyan ileri evre özofagus kanserleri için immünoterapinin ortaya çıkışı, bu tümörleri olan hastalar için terapötik senaryoyu değiştirmiştir ve mevcudiyeti küçük bir hasta alt grubuyla sınırlı olmasına rağmen, özofagus kanserlerinin tedavisinde uygulamaları değiştiren en büyük olaylardan biridir. Bildirilen sonuçlar, özellikle artık kemoterapiye yanıt vermeyen hastalarda, ilaç tedavisi seçiminde YND'nin önemli rolünün altını çizmektedir. Bugüne kadar literatürde bildirilen veriler ve çalışmamızdaki bulgular değerlendirildiğinde; patojenik varyant varlığının tespitinin, tümör davranışını, klinik seyri, prognozu ve öngörmede büyük önem arz ettiği sonucuna vardık. Biz, daha ucuz ve daha kolay uygulanabilir olması açısından çalışmamızda rutin laboratuvarıda uygulanabilecek çoklu gen paneli yöntemini tercih ettik. Hastalar örnekleme yöntemine göre ayrılarak varyant varlığına göre karşılaştırma yapıldığında cerrahi spesimen grubunda; cinsiyet, evre, lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon değişkenlerinde bulunduğundan anlamlı farklılık söz

konusu idi. Endoskopik biyopsi grubunda ise varyant patojenitesi grubunda farklılık tespit edildi. Varyant varlığına göre yapılan karşılaştırmalarda patojenite, operasyon tipi, evre, lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon değişkenlerinde anlamlı farklılık söz konusu idi. Özofagus primer tümörlerinin çoğu alt torasik yerleşimli olup, bunu orta torasik, servikal abdominal ve üst torasik lokalizasyonlar takip ediyordu. YND yapılan vakalardan 17'sinde PIK3CA mutasyonu, 7'sinde KRAS mutasyonu, 5'inde EGFR mutasyonu, 5'inde EGFR VUS mutasyonu, 4'ünde ERBB2 mutasyonu, 3'ünde MET mutasyonu, 3'ünde FGFR1 mutasyonu ve 3'ünde NRAS mutasyonu tanımlandı. Mutasyon sayılarının 2 ve üzerinde görüldüğü artışlar özellikle alt torasik bölge grubunda yoğunlaştı.

Yeni nesil dizileme ile özellikle benzer evrede farklı prognoz seyreden tümörlerdeki bu farklılığı saptamak önemlidir. Ancak bu şekilde kanser tedavisinde bireysel bir tedavi planı çizilebilir. Bu farklılıkları saptamak için tümörlerin moleküler ve genetik özelliklerini baz alan testler önemlidir. Patojenik varyantların prognoz üzerindeki etkisinin keşfedilmemiş moleküler biyolojik mekanizmasının aydınlatılması gerekmektedir. Gelecekteki çabalar, yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine rehberlik etmek ve immünoterapiye direnç mekanizmalarını incelemek ve inoperabl tümörlerin tedavisini iyileştirmek için ilgili bulguları potansiyel olarak genişletmek için bu tümörlerin daha iyi karakterize edilmesine yönelik olmalıdır. Bununla birlikte, hasta sayısının yüksek olduğu randomize klinik çalışmalar ile konu desteklenmelidir.

KAYNAKLAR

1. Kircher M, Kelso J. (2010). High-throughput DNA sequencing - concepts and limitations. *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, 32(6):524–536.
2. Metzker ML. (2010). Sequencing technologies - the next generation. *Nature reviews. Genetics*, 11(1):31-46.
3. Xuan J, Yu Y, Qing T, Guo L, Shi L. (2013). Next-generation sequencing in the clinic: promises and challenges. *Cancer letters*, 340(2):284-295.
4. Li Y, Bare LA, Bender RA, Sninsky JJ, Wilson LS, Devlin JJ, Waldman FM. (2015). Cost effectiveness of sequencing 34 cancer-associated genes as an aid for treatment selection in patients with metastatic melanoma. *Molecular diagnosis & therapy*, 19(3):169-177.
5. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Bishop K, Kosary CL, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2014, National Cancer Institute. Bethesda, MD, Erişim site adı: https://seer.cancer.gov/csr/1975_2014/, Erişim based on November 2016 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2017.
6. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. (2015). PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *The New England journal of medicine*, 372(26):2509–2520.
7. Sanger F, Coulson AR. (1975). A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of molecular biology*, 94(3):441–448.
8. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. (2016). Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature reviews. Genetics*, 17(6):333–351.
9. Rusk N, Kiermer V. (2008). Primer: sequencing–the next generation. *Nature methods*, 5(1):15.
10. Lee HS, Kim WH, Kwak Y, Koh J, Bae JM, Kim KM, et al. (2017). Molecular testing for gastrointestinal cancer. *Journal of pathology and translational medicine*, 51(2):103–121.
11. Siewert JR, Stein HJ, Feith M, Bruecher BL, Bartels H, Fink U. (2001). Histologic tumor type is an independent prognostic parameter in esophageal cancer: Lessons from more than 1,000 consecutive resections at a single center in the western world. *Annals of surgery*, 234(3):360-367.
12. Siewert JR, Ott K. (2007). Are squamous and adenocarcinomas of the esophagus the same disease? *Seminars in radiation oncology*, 17(1):38-44.
13. Kuwano H, Saeki H, Kawaguchi H, Sonoda K, Kitamura K, Nakashima H, et al. (1998). Proliferative activity of cancer cells in front and center areas of carcinoma in situ and invasive sites of esophageal squamous-cell carcinoma. *International journal of cancer*, 78(2):149–152.
14. de Jonge PJ, van Blankenstein M, Grady WM, Kuipers EJ. (2014). Barrett's oesophagus: epidemiology, cancer risk and implications for management. *Gut*, 63(1):191–202.
15. Suh YS, Han DS, Kong SH, Lee HJ, Kim YT, Kim WH, et al. (2012). Should adenocarcinoma of the esophagogastric junction be classified as esophageal cancer? A comparative analysis according to the seventh AJCC TNM classification. *Annals of surgery*, 255(5):908–915.
16. Agrawal N, Jiao Y, Bettgowda C, Hutfless SM, Wang Y, David S, et al. (2012). Comparative genomic analysis of esophageal adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. *Cancer discovery*, 2(10):899–905.
17. Lin DC, Hao JJ, Nagata Y, Xu L, Shang L, Meng X, et al. (2014). Genomic and molecular characterization of esophageal squamous cell carcinoma. *Nature genetics*, 46(5):467–473.
18. Rao RC, Dou Y. (2015). Hijacked in cancer: the KMT2 (MLL) family of methyltransferases. *Nature reviews. Cancer*, 15(6):334–346.
19. Chung SM, Kao J, Hyjek E, Chen YT. (2007). p53 in esophageal adenocarcinoma: a critical reassessment of mutation frequency and identification of 72Arg as the dominant allele. *International journal of oncology*, 31(6):1351–1355.
20. Dulak AM, Stojanov P, Peng S, Lawrence MS, Fox C, Stewart C, et al. (2013). Exome and whole-genome sequencing of esophageal adenocarcinoma identifies recurrent driver events and mutational complexity. *Nature genetics*, 45(5):478–486.
21. The Cancer Genome Atlas Research Network. (2017). Integrated genomic characterization of oesophageal carcinoma. *Nature*, 541(7636):169-175.
22. Abrahao-Machado LF, Scapulatempo-Neto C. (2016). HER2 testing in gastric cancer: an update. *World journal of gastroenterology*, 22(19):4619–4625.
23. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, et al. (2010). Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive

- advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet*, 376(9742):687–697.
24. Young K, Chau I. (2016). Targeted therapies for advanced oesophagogastric cancer: recent progress and future directions. *Drugs*, 76(1):13–26.
 25. Fuchs CS, Tomasek J, Yong CJ, Dumitru F, Passalacqua R, Goswami C, et al. (2014). Ramucirumab monotherapy for previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (REGARD): an international, randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*, 383(9911):31–39.
 26. Wilke H, Muro K, Van Cutsem E, Oh SC, Bodoky G, Shimada Y, et al. (2014). Ramucirumab plus paclitaxel versus placebo plus paclitaxel in patients with previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (RAINBOW): a double-blind, randomised phase 3 trial. *The Lancet. Oncology*, 15(11):1224–1235.
 27. Shah MA, Ramanathan RK, Ilson DH, Levrnor A, D'Adamo D, O'Reilly E, et al. (2006). Multicenter phase II study of irinotecan, cisplatin, and bevacizumab in patients with metastatic gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma. *Journal of clinical oncology*, 24(33):5201–5206.
 28. Johnson DH, Fehrenbacher L, Novotny WF, Herbst RS, Nemunaitis JJ, Jablons DM, et al. (2004). Randomized phase II trial comparing bevacizumab plus carboplatin and paclitaxel with carboplatin and paclitaxel alone in previously untreated locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer. *Journal of clinical oncology*, 22(11):2184–2191.
 29. Le DT, Durham JN, Smith KN, Wang H, Bartlett BR, Aulakh LK, et al. (2017). Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*, 357(6349):409–413.
 30. Muro K, Chung HC, Shankaran V, Geva R, Catenacci D, Gupta S, et al. (2016). Pembrolizumab for patients with PD-L1-positive advanced gastric cancer (KEYNOTE-012): a multicentre, open-label, phase 1b trial. *The Lancet. Oncology*, 17(6):717–726.
 31. Ralph C, Elkord E, Burt DJ, O'Dwyer JF, Austin EB, Stern PL, et al. (2010). Modulation of lymphocyte regulation for cancer therapy: a phase II trial of tremelimumab in advanced gastric and esophageal adenocarcinoma. *Clinical cancer research*, 16(5):1662–1672.
 32. Song Y, Li L, Ou Y, Gao Z, Li E, Li X, et al. (2014). Identification of genomic alterations in esophageal squamous cell cancer. *Nature*, 509(7498):91–95.
 33. Gao YB, Chen ZL, Li JG, Hu XD, Shi XJ, Sun ZM, et al. (2014). Genetic landscape of esophageal squamous cell carcinoma. *Nature genetics*, 46(10):1097–1102.
 34. Davelaar AL, Straub D, Parikh KB, Lau L, Fockens P, Krishnadath KK. (2015). Increased phosphorylation on residue S795 of the retinoblastoma protein in esophageal adenocarcinoma. *International journal of oncology*, 47(2):583–591.
 35. Winkler GS. (2010). The mammalian anti-proliferative BTG/Tob protein family. *Journal of cellular physiology*, 222(1):66–72.
 36. Du Y, Liu P, Zang W, Wang Y, Chen X, Li M, et al. (2015). BTG3 upregulation induces cell apoptosis and suppresses invasion in esophageal adenocarcinoma. *Molecular and cellular biochemistry*, 404(1–2):31–38.
 37. Zhang W, Zhu H, Liu X, Wang Q, Zhang X, He J, et al. (2014). Epidermal growth factor receptor is a prognosis predictor in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *The Annals of thoracic surgery*, 98(2):513–519.
 38. Wang X, Niu H, Fan Q, Lu P, Ma C, Liu W, et al. (2016). Predictive value of EGFR overexpression and gene amplification on icotinib efficacy in patients with advanced esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotarget*, 7(17):24744–24751.
 39. Xie LX, Zhai TT, Yang LP, Yang E, Zhang XH, Chen JY, et al. (2013). Lymphangiogenesis and prognostic significance of vascular endothelial growth factor C in gastro-oesophageal junction adenocarcinoma. *International journal of experimental pathology*, 94(1):39–46.
 40. Eng L, Azad AK, Qiu X, Kong QQ, Cheng D, Ying N, et al. (2015). Discovery and validation of vascular endothelial growth factor (VEGF) pathway polymorphisms in esophageal adenocarcinoma outcome. *Carcinogenesis*, 36:956–962.
 41. Lorenzen S, Panzram B, Keller G, Lordick F, Herrmann K, Becker K, et al. (2011). Association of the VEGF 936C>T polymorphism with FDG uptake, clinical, histopathological, and metabolic response in patients with adenocarcinomas of the esophagogastric junction. *Molecular imaging and biology*, 13(1):178–186.
 42. Ahrens TD, Werner M, Lassmann S. (2014). Epigenetics in esophageal cancers. *Cell and tissue research*, 356(3):643–655.

43. Zare M, Jazii FR, Alivand MR, Nasser NK, Malekzadeh R, Yazdanbod M. (2009). Qualitative analysis of Adenomatous Polyposis Coli promoter: hypermethylation, engagement and effects on survival of patients with esophageal cancer in a high risk region of the world, a potential molecular marker. *BioMed Central cancer*, 9:24.
44. Taghavi N, Biramijamal F, Sotoudeh M, Khademi H, Malekzadeh R, Moaven O, et al. (2010). p16INK4a hypermethylation and p53, p16 and MDM2 protein expression in esophageal squamous cell carcinoma. *BioMed Central cancer*, 10:138.
45. Yang X, Zhu H, Qin Q, Yang Y, Yang Y, Cheng H, et al. (2015). Genetic variants and risk of esophageal squamous cell carcinoma: a GWAS-based pathway analysis. *Gene*, 556(2):149-152.
46. Peng D, Belkhir A, Hu T, Chaturvedi R, Asim M, Wilson KT, et al. (2012). Glutathione peroxidase 7 protects against oxidative DNA damage in oesophageal cells. *Gut*, 61(9):1250-1260.
47. Peng D, Hu T, Soutto M, Belkhir A, Zaika A, El-Rifai W. (2014). Glutathione peroxidase 7 has potential tumour suppressor functions that are silenced by location-specific methylation in oesophageal adenocarcinoma. *Gut*, 63(4):540-551.
48. Zhou Z, Bandla S, Ye J, Xia Y, Que J, Luketich JD, et al. (2014). Cyclin E involved in early stage carcinogenesis of esophageal adenocarcinoma by SNP DNA microarray and immunohistochemical studies. *BioMed Central Gastroenterology*, 14:78.
49. D'Haene N, Le Mercier M, De Nève N, Blanchard O, Delaunoy M, El Housni H, et al. (2015). Clinical Validation of Targeted Next Generation Sequencing for Colon and Lung Cancers. *Public Library of Science one*, 10:0138245.
50. Zhang Y. (2013). Epidemiology of esophageal cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 19(34):5598-5606.
51. Eser S, Olcayto E, Karakılınç H, Karaoğlanoğlu O, Yakut C, Ozalan S, Üçüncü N, Anbarcıoğlu Z, Ergün A, Akın Ü, Yazıcı M, Özdemir R, Özgül N, Tuncer M. Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı. 2004-2006 Yılları Arası Türkiye Kanser İnsidansı. Nüfus Tabanlı Kanser Kayıt Merkezleri Veri Havuzu: Sekiz İl, 2004-2006 Değerlendirilmesi, Ankara 2007.
52. Greenstein AJ, Little VR, Swanson SJ, Divino CM, Packer S, McGinn TG, et al. (2007). Racial Disparities in Esophageal Cancer Treatment and Outcomes. *Annals of Surgical Oncology*, 15(3): 881-888.
53. Sjoquist KM, Burmeister BH, Smithers BM, Zalcberg JR, Simes RJ, Barbour A, et al. (2011). Survival after neoadjuvant chemotherapy or chemoradiotherapy for resectable oesophageal carcinoma: an updated meta-analysis. *The Lancet. Oncology*, 12(7):681-692.
54. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3):209-249.
55. Boran M, Göl H. (2007). Özofagus Kanseriinde Epidemiyoloji. *Turkiye Klinikleri Journal of Surgical Medical Sciences*, 3(29):1-4.
56. Holmes RS, Vaughan TL. (2006). Epidemiology and Pathogenesis of Esophageal Cancer. *Seminars in radiation oncology*, 17(1):2-9.
57. Aydın Y, Eroğlu A, Türkyılmaz A, Gündoğdu B. (2012). The effectiveness of transthoracic surgical treatment in elderly patients with esophageal cancer. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi*, 20(4):835-839.
58. Montgomery E, Field JK, Boffetta P, Daigo Y, Shimizu M, Shimoda T. (2010). Tumors of the Oesophagus. In: Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND editors. *World Health Organization Classification of Tumors of the Digestive System*. 4th ed. Lyon: IARC Press; p.15-24.
59. Eroğlu A, Aydın Y, Altuntaş B, Gündoğdu B, Yılmaz Ö. (2016). The increasing incidence of esophageal squamous cell carcinoma in women in Turkey. *Turkish journal of medical sciences*, 46(5): 1443- 1448.
60. Ando N, Ozawa S, Kitagawa Y, Shinozawa Y, Kitajima M. (2000). Improvement in the Results of Surgical Treatment of Advanced Squamous Esophageal Carcinoma During 15 Consecutive Years. *Annals of surgery*, 232(2): 225-232.
61. Qui SL, Yang GR. (1988). Precursor lesions of esophageal cancer in high-risk populations in Henan Province, China. *Cancer*, 62(3):551-557.
62. Tuncer İ, Uygan İ, Kösem M, Özen S, Uğraş S, Türkoğlu K. (2001). Van ve çevresinde görülen üst gastrointestinal sistem kanserlerinin demografik ve histopatolojik özellikleri. *Van Tıp Dergisi*, 8(1):10-13.
63. Arslan HS. (2011). Özofagusun skuamöz hücreli karsinomlarında biyolojik davranışın belirlenmesinde NF-κB, COX-2 ve E-cadherin ekspresyonunun önemi. Uzmanlık Tezi, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji AD, İstanbul. Erişim 22.09.2023, Erişim site adı:

https://acikbilim.yok.gov.tr/bitstream/handle/20.500.12812/646468/yokAcikBilim_422677.pdf?sequence=-1

64. Glickman JN, Odze RD. (2009). Epithelial Neoplasms of the Esophagus. In: Odze RD, Goldblum JR editors. *Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract, and Pancreas*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; p. 540-552.
65. Wang BY, Goan YG, Hsu PK, Hsu WH, Wu YC. (2011). Tumor Length as a Prognostic Factor in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *The Annals of thoracic Surgery*, 91(3):887–893.
66. Gertler R, Stein HJ, Langer R, Nettelmann M, Schuster T, Hoefler H, et al. (2011). Long-term Outcome of 2920 Patients With Cancers of the Esophagus and Esophagogastric Junction. *Annals of surgery*, 253(4):689–698.
67. Zimmermann KC, Sarbia M, Weber AA, Borchard F, Gabbert HE, Schrör K. (1999). Cyclooxygenase-2 expression in human esophageal carcinoma. *Cancer research*, 59(1):198-204.
68. Miqliore M, Rassl D, Criscione A. (2014). Longitudinal and circumferential resection margin in adenocarcinoma of distal esophagus and cardia. *Future oncology*, 10(5):891-901.
69. Barbour AP, Rizk NP, Gonen M, Tang L, Bains MS, Rusch VW, et al. (2007). Adenocarcinoma of the gastroesophageal junction: influence of the esophageal resection margin and operative approach on outcomes. *Annals of surgery*, 246(1): 1-8.
70. Kang CH, Hwang Y, Lee HJ, Park IK, Kim YT. (2016). Risk factors for local recurrence and optimal length of esophagectomy in esophageal squamous cell carcinoma. *The Annals of thoracic surgery*, 102(4):1074-1080.
71. Wang DY, Xiang YY, Tanaka M, Li XR, Shen Q, Sugimura H, Kino I. (1994). High prevalence of p53 protein overexpression in patients with esophageal cancer in Linxian, China and its relationship to progression and prognosis. *Cancer*, 74(12): 3089-3096.
72. Yerian LM, Goldblum JR. (2010). Esophagus. In: Mills SE editor. *Steinberg's Diagnostic Surgical Pathology*, Volume II. 5th ed. Philadelphia, New York: Lippincott Williams and Wilkins, a Wolters Kluwer business; p. 1225-1279.
73. Chen X, Chen J, Zheng X, Chen Y, Lin Y, Zheng Q, et al. (2015). Prognostic factors in patients with thoracic esophageal carcinoma staged pT₁₋₄N₀M₀ undergone esophagectomy with three-field lymphadenectomy. *Annals of translational medicine*, 3(19):282.
74. Lam KY, Law SY, So MK, Fok M, Ma LT, Wong J. (1996). Prognostic implication of proliferative markers MIB-1 and PC 10 in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Cancer*, 77(1):7-13.
75. Li H, Zhang Q, Xu L, Chen Y, Wei Y, Zhou G. (2009). Factors predictive of prognosis after esophagectomy for squamous cell cancer. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 137(1):55-59.
76. Eloubeidi MA, Desmond R, Arguedas MR, Reed CE, Wilcox CM. (2002). Prognostic factors for the survival of patients with esophageal carcinoma in the U.S.: the importance of tumor length and lymph node status. *Cancer*, 95(7):1434-1443.
77. Schacht V, Dadras SS, Johnson LA. (2005). Up-Regulation of the Lymphatic Marker Podoplanin, a Mucin-Type Transmembrane Glycoprotein, in Human Squamous Cell Carcinomas and Germ Cell Tumors. *The American journal of pathology*, 166(3):913-921.
78. Ökten İ. (2003). Özofagus Kanseri. In: Ökten İ, Güngör A, Eds. *Göğüs Cerrahisi, Cilt-II*. Ankara: Türk Göğüs Cerrahisi Derneği; p. 1247-1308.
79. Li H, Yao SC. (1997). Surgical treatment for carcinoma of the oesophagus in chinese language publications. *The British journal of surgery*, 84(6):855-857.
80. Ökten İ. (1997). Özofagus Kanseri. In: Ünal AE. *Klinik Cerrahi Onkoloji*, Ankara: Özkan Matbaacılık; p. 445-467
81. Bremner RM, DeMeester TR. (1991). Surgical treatment of esophageal carcinoma. *Gastroenterology clinics of North America*, 20(4):743-764.
82. Rindani R, Martin CJ, Cox MR. (1999). Transhiatal versus Ivor-Lewis oesophagectomy: is there a difference? *The Australian and New Zealand journal of surgery*, 69(3):187-194.
83. Hulscher JB, Tijssen JG, Obertop H, van Lanschot JJ. (2001). Transthoracic versus transhiatal resection for carcinoma of the esophagus: A meta-analysis. *The Annals of thoracic surgery*, 72(1):306-313.
84. Ankala A, Hegde M. (2014). Genomic technologies and the new era of genomic medicine. *The Journal of molecular diagnostics*, 16(1):7–10.
85. Weinstein JN, Collisson EA, Mills GB, Shaw KR, Ozenberger, Ellrott K, et al. (2013). The Cancer Genome Atlas Pan-Cancer analysis Project. *Nature genetics*, 45(10):1113–1120.
86. Luthra R, Chen H, Roy-Chowdhuri S, Singh RR. (2015). Next-generation sequencing in clinical molecular diagnostics of cancer: advantages and challenges. *Cancers (Basel)*, 7(4):2023–2036.

87. Corless CL. (2016). Next-generation sequencing in cancer diagnostics. *The Journal of molecular diagnostics*, 18(6):813–816.
88. Dong L, Wang W, Li A, Kansal R, Chen Y, Chen H, et al. (2015). Clinical next generation sequencing for precision medicine in cancer. *Current genomics*, 16(4):253–263.
89. Fisher KE, Zhang L, Wang J, Smith GH, Newman S, Schneider TM, et al. (2016). Clinical validation and implementation of a targeted next-generation sequencing assay to detect somatic variants in non-small cell lung, melanoma, and gastrointestinal malignancies. *The Journal of molecular diagnostics*, 18(2):299–315.
90. Ajani JA, D'Amico TA, Bentrem DJ, Cooke D, Corvera C, Das P, et al. (2023). Esophageal and Esophagogastric Junction Cancers, Version 2.2023, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 21(4):393–422.
91. Smyth EC, Lagergren J, Fitzgerald RC, Lordick F, Shah MA, Lagergren P, et al. (2017). Oesophageal cancer. *Nature reviews. Disease primers*, 3:17048.
92. Allegra CJ, Rumble RB, Hamilton SR, Mangu PB, Roach N, Hantel A, et al. (2016). Extended RAS Gene Mutation Testing in Metastatic Colorectal Carcinoma to Predict Response to Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibody Therapy: American Society of Clinical Oncology Provisional Clinical Opinion Update 2015. *Journal of clinical oncology*, 34:179–185.
93. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Aparicio SA, Behjati S, Biankin AV. (2013). Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature*, 500(7463):415–421.
94. Weaver JMJ, Ross-Innes CS, Shannon N, Lynch AG, Forshew T, Barbera M, et al. (2014). Ordering of mutations in preinvasive disease stages of esophageal carcinogenesis. *Nature genetics*, 46(8):837–843.
95. Dulak AM, Schumacher SE, van Lieshout J, Imamura Y, Fox C, Shim B, et al. (2012). Gastrointestinal adenocarcinomas of the esophagus, stomach and colon exhibit distinct patterns of genome instability and oncogenesis. *Cancer research*, 72(17):4383–4393.
96. Paterson AL, O'Donovan M, Provenzano E, Murray LJ, Coleman HG, Johnson BT, et al. (2013). Characterization of the timing and prevalence of receptor tyrosine kinase expression changes in oesophageal carcinogenesis. *The Journal of pathology*, 230(1):118–128.
97. Lordick F, Mariette C, Haustermans K, Obermannová R, Arnold D. (2016). ESMO Guidelines Committee. Oesophageal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology*, 27(suppl 5): v50–v57.
98. Stahl M, Stuschke M, Lehmann N, Meyer HJ, Walz MK, Seeber S, et al. (2005). Chemoradiation with and without surgery in patients with locally advanced squamous cell carcinoma of the esophagus. *Journal of clinical oncology*, 23(10):2310–2317.
99. Waddell T, Chau I, Cunningham D, Gonzalez D, Okines AF, Okines C, et al. (2013). Epirubicin, oxaliplatin, and capecitabine with or without panitumumab for patients with previously untreated advanced oesophagogastric cancer (REAL3): a randomised, open-label phase 3 trial. *The Lancet. Oncology*, 14(6):481–489.
100. Lordick F, Kang YK, Chung HC, Salman P, Oh SC, Bodoky G, et al. (2013). Capecitabine and cisplatin with or without cetuximab for patients with previously untreated advanced gastric cancer (EXPAND): a randomised, open-label phase 3 trial. *The Lancet. Oncology*, 14(6):490–499.
101. Shah MA, Bang YJ, Lordick F, Alsina M, Chen M, Hack SP, et al. (2017). Effect of fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with or without onartuzumab in HER2-negative, MET-positive gastroesophageal adenocarcinoma: the METGastric randomized clinical trial. *JAMA oncology*, 3(5):620–627.
102. Cunningham D, Tebbutt NC, Davidenko I, Murad AM, Al-Batran S-E, Ilson DH, et al. (2015). Phase III, randomized, double-blind, multicenter, placebo (P)-controlled trial of rilotumumab (R) plus epirubicin, cisplatin and capecitabine (ECX) as first-line therapy in patients (pts) with advanced MET-positive (pos) gastric or gastroesophageal junction (G/GEJ) cancer: RILOMET-1 study. *Journal of clinical oncology*, 33(15):4000.
103. Dutton SJ, Ferry DR, Blazeby JM, Abbas H, Dahle-Smith A, Mansoor W, et al. (2014). Gefitinib for oesophageal cancer progressing after chemotherapy (COG): a phase 3, multicentre, double-blind, placebo-controlled randomised trial. *The Lancet. Oncology*, 15(8):894–904.
104. Ohtsu A, Ajani JA, Bai YX, Bang YJ, Chung HC, Pan HM, et al. (2013). Everolimus for previously treated advanced gastric cancer: results of the randomized, double-blind, phase III GRANITE-1 study. *Journal of clinical oncology*, 31(31):3935–3943.

- 105.Ohtsu A, Shah MA, Van Cutsem E, Rha SY, Sawaki A, Park SR, et al. (2011). Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a randomized, double-blind, placebo- controlled phase III study. *Journal of clinical oncology*, 29(30):3968–3976.
- 106.Bang YJ, van Cutsem E, Mansoor W, Petty RD, Chao Y, Cunningham D, et al. (2015). A randomized, open-label phase II study of AZD4547 (AZD) versus paclitaxel (P) in previously treated patients with advanced gastric cancer (AGC) with fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) polysomy or gene amplification (amp): SHINE study. *Journal of clinical oncology*, 33(15):4014.
- 107.Ge X, Wang H, Zeng H, Jin X, Sujie A, Xu C, et al. (2015). Clinical significance of assessing Her2/neu expression in gastric cancer with dual tumor tissue paraffin blocks. *Human pathology*, 46(6):850–857.
- 108.Yoon HH, Shi Q, Sukov WR, Lewis MA, Sattler CA, Wiktor AE, et al. (2012). Adverse prognostic impact of intratumor heterogeneous HER2 gene amplification in patients with esophageal adenocarcinoma. *Journal of clinical oncology*, 30(32):3932–3938.
- 109.Gomez-Martin C, Plaza JC, Pazo-Cid R, Salud A, Pons F, Fonseca P, et al. (2013). Level of HER2 gene amplification predicts response and overall survival in HER2-positive advanced gastric cancer treated with trastuzumab. *Journal of clinical oncology*, 31(35):4445–4452.
- 110.Kwak EL, LoRusso P, Hamid O, Janku F, Kittaneh M, Catenacci DVT, et al. (2015). Clinical activity of AMG 337, an oral MET kinase inhibitor, in adult patients (pts) with MET-amplified gastroesophageal junction (GEJ), gastric (G), or esophageal (E) cancer. *Journal of clinical oncology*, 33(3):1.
- 111.Petty RD, Dahle-Smith A, Miedzybrodzka Z, Dutton SJ, Murray GI, Stevenson D, et al. (2014). Epidermal growth factor receptor copy number gain (EGFR CNG) and response to gefitinib in esophageal cancer (EC): results of a biomarker analysis of a phase III trial of gefitinib versus placebo (TRANS-COG). *Journal of clinical oncology*, 32(15):4016.
- 112.Pearson A, Smyth E, Babina IS, Herrera-Abreu MT, Tarazona N, Peckitt C, et al. (2016). High-level clonal FGFR amplification and response to FGFR inhibition in a translational clinical trial. *Cancer discovery*, 6(8):838–851.

