

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**



**LOKAL İLERİ VE METASTATİK KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER
KANSERLERİNDE BRAF, PIK3CA MUTASYON PROFİLİNİN
KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELERLE KORELASYONU**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. FURKAN ERTAŞ

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. GAMZE GÖKÖZ DOĞU**

DENİZLİ - 2015

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



LOKAL İLERİ VE METASTATİK KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER
KANSERİNDE BRAF, DDR2, PIK3CA MUTASYON PROFİLİNİN
KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELERLE KORELASYONU

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. FURKAN ERTAŞ

DANIŞMAN

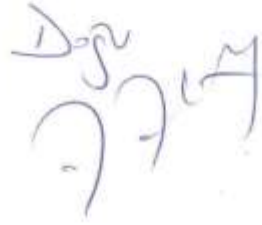
DOÇ. DR. GAMZE GÖKÖZ DOĞU

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 23.05.2014 tarih ve 03 nolu kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ - 2015

Doç. Dr. Gamze Gököz Doğu danışmanlığında Dr. Furkan Ertaş tarafından yapılan "Lokal İleri ve Metastatik Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseriinde BRAF, DDR2, PIK3CA Mutasyon Profilinin Tedavi Yanıtıyla ve Klinikopatolojik Parametrelerle Korelasyonu" başlıklı tez çalışması 27/07/2015 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

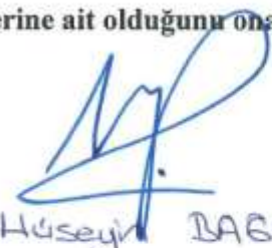
BAŞKAN Prof. Dr. Arzu Yaren 

ÜYE Doç. Dr. Gamze Gököz Doğu 

ÜYE Prof. Dr. Sabri BARUTCA 

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

18/11/2015


Prof. Dr. Hüseyin BACI

Pamukkale Üniversitesi

Tıp Fakültesi Dekan Y.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, kendileriyle çalışmaktan onur duyduğum, tez çalışmalarımızın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer tez hocam Doç. Dr. Gamze Gököz Doğu olmak üzere Onkoloji A.B.D. Başkanı Prof. Dr. Arzu Yaren'e, İç Hastalıkları A.B.D. Başkanı Prof. Dr. Ali Keskin'e ve ayrı ayrı bütün hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez süresince, yardımlarıyla yanımda olan Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nın saygıdeğer öğretim üyesi Prof. Dr. Hakan Akça'ya ve teşekkürü borç bilirim.

Beraber geçirdiğimiz dört yıl içinde kendisinden çok öğrendiğim, çalışma hayatımızdaki güçlüklerden en az hasarla kurtulmamı sağlayan Uzm. Dr. Kamil İşler ve kendileriyle çalışmaktan zevk duyduğum başta Dr. Paşa Aksoy kardeşim olmak üzere tüm değerli çalışma arkadaşlarıma teşekkürler ediyorum.

Ve son olarak yaşama değil, yaşatma idealleriyle beni bugünlere getiren; hayır dualarıyla ve rehberlikleriyle; varlıkları ayrı ayrı şükür sebebi kıymetli anneme ve babama, sevgili kardeşlerime minnetlerimi sunuyorum.

Dr. Furkan ERTAŞ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	viii
ÖZET.....	x
SUMMARY	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Epidemiyoloji	4
2.2. Etiyoloji	5
2.2.1. BRAF Mutasyonları	8
2.2.2. DDR 2 Mutasyonları	10
2.2.3. PIK3CA Mutasyonları.....	12
2.3 Patoloji	13
2.3.1. Adenokarsinom.....	15
2.3.2. Skuamöz hücreli karsinom.....	17
2.2.3. Adenoskuamöz Karsinom.....	18
2.3.4. Küçük hücreli karsinom.....	18
2.3.5. Büyük hücreli karsinom.....	18
2.4. Tanı ve tarama yöntemleri.....	18
2.4.1. Semptomlar	19
2.4.2. Tanı yöntemleri.....	22
2.4.2.1. Radyolojik İnceleme.....	22
2.4.2.2. Balgam Sitolojisi.....	22
2.4.2.3. Biyokimyasal analizler	22
2.4.2.4. Bronkoskopi.....	23
2.4.2.5. Transtorasik (perkutan) İğne Aspirasyon ve Wedge Biyopsi.....	23

2.4.2.6 EUS-İA (Endoskopik Ultrason İle İğne Aspirasyonu).....	23
2.4.2.7. Mediastinoskopi.....	24
2.4.2.8. Metastatik Lezyon Biyopsisi.....	24
2.5. Evreleme.....	24
2.6. Prognostik Faktörler.....	28
3. GEREÇLER ve YÖNTEM	30
3.1. Materyallerin Toplanması.....	30
3.2. DNA İzolasyon Protokolü.....	30
3.3.BRAF, DDR-2 ve PI3KCA Mutasyon Analizi.....	30
3.4. Pürifikasyon ve Sekans İşlemi.....	33
3.5. İstatistiksel Yöntem.....	34
4. BULGULAR	34
4.1.Hastaların özellikleri.....	35
4.2. Mutasyon sıklıkları.....	38
4.2.1. BRAF Mutasyonu.....	38
4.2.2. PIK3CA Mutasyonu:.....	40
4.2.3. DDR-2 Mutasyonu.....	41
4.3. Sağkalım analizleri:.....	43
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇLAR	66
KAYNAKLAR	68

KISALTMALAR

KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri

KHDAK: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri

SCC: Skuamöz Hücreli Karsinomu

NOS: Başka Türlü Sınıflandırılmayan Akciğer Kanseri

AAH: Atipik Edenömatöz Hiperplazi

AİS: Adenokarsinoma İnsütu

MAPK: Mitogen Activated Protein Kinase

mTOR: Mammalian Target Of Rapamycin

AKT: V-Akt Murine Thymoma Viral Oncogene

BRAF: V-Raf Murine Sarcoma Viral Oncogene

CRAF: Cellular- Rapidly Accelerated Fibrosarcoma

VRAF: Virus Induced Rapidly Fibrosarcoma

IPK3K: İnositol Fosfat 3 Kinaz

PIK3CA: Fosfoinozitol Bifosfat 3 Kinaz, Katalitik Altünite Alfa

DDR 2: Diskoidin Domain Reseptör 2

ERK: Ekstrasellüler Sinyal Regüle Edici Kinaz Yolağı

EGFR: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü

ALP: Anaplastik Lenfoma Kinaz

EML: Ekinoderm Mikrotubul İlişkili Protein-Benzeri

MMP-2: Matrix Metalloprotease 2

EMT: Epitelyal Mezenkimal Transisyon

MET: Mesenchymal Epithelial Transition Factor

TNM: Tümör çapı, lenf nodu, metastaz yeri

LN: Lenf Nodu

TGF: Tümör Büyüme Faktörü

EGF: Epidermal Büyüme Faktörü

FGF: Fibroblast Büyüme Faktörü

HGF: Hepatosit Büyüme Faktörü

IGF: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü

PDGF: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

IL-6: İnterlökin 6

TNF: Tümör Nekroz Faktörü

FDA: Food and Drug Administration

WHO/DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

IASLC: The International Association For The Study Of Lung Cancer

ATS: American Thoracic Society

AATS: American Association for Thoracic Surgery

AJCC: American Joint Committee Cancer

ERS: European Respiratory Society

ASCO: American Society of Clinical Oncology

NCCN: The National Comprehensive Cancer Network

USPSTF: United States Preventive Services Task Force

SEER: The Surveillance, Epidemiology and End Results

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

DNA: Deoksiribonükleik Asit

RNA: Ribonükleik Asit

SPSS: Statistical Package for Social Sciences

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group-Performans Skoru

USG: Ultrason

EBUS: Endobronşial Ultrasonografi

EUS-İA: Endoskopik Ultrasonografi ile İğne Aspirasyonu

DDBT: Düşük Doz Bilgisayarlı Tomografi

MRI: Manyetik Rezonans Görüntüleme

PET: Pozitron Emisyon Tomografisi

TKİ: Tirozinkinaz İnhibitörü

HRT: Hormon Replasman Tedavisi

ALT: Alanin Aminotransferaz

AST: Aspartat Aminotransferaz

ALP: Alkalen Fosfataz

LDH: Laktat Dehidrogenaz

ADH: Antidiüretik Hormon

DM: Diabetes Mellitus

HT: Hipertansiyon

KOAH: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

SLE: Sistemik Lupus Eritamatozis

DIC: Dissemine İntravasküler Kuagülasyon

VKSS: Vena Cava Superior Sendromu

PFS: Progression Free Survival (Progresyonsuz Sağkalım)

GS: Genel Sağkalım

NLR: Nötrofil- Lenfosit Oranı

PLR: Platelet-Lenfosit Oranı

COP-NLR: Combination Of Platelet Count And Neutrophil Lymphocyte Rati

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Pyrosequencing çalışma prensibi (Novais and Thorstenson 2011)	32
Şekil 2. BRAF mutasyonunun progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine etkisi.....	49
Şekil 3. PIK3CA mutasyonunun progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine etkisi ...	50

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Akciğer Kanseri WHO / IASLC/ATS/ERS Patolojik Sınıflandırması	13
Tablo 2. Akciğer Kanseri Sık Görülen Semptomlar.....	20
Tablo 3. Akciğer Kanseri TNM Sınıflaması.....	25
Tablo 4. Akciğer Kanseri Evreleme Yöntemleri.....	27
Tablo 5. KHDak'de Evre Gruplaması	27
Tablo 6. KHDak'de Evre Gruplarında 5 Yıllık Yaşam Oranları.....	28
Tablo 7. BRAF ekzonlarının wild tip ve mutant sekanslanan DNA dizileri.....	31
Tablo 8. BRAF PCR primerleri.....	32
Tablo 9. BRAF sekans primerleri.....	33
Tablo 10. Çalışma Hastalarının Sosyodemografik Özellikleri	36
Tablo 11. Hastaların BRAF Mutasyon Sıklıkları	38
Tablo 12. Hastaların BRAF Mutasyonu İle Kilo Kaybı, LN Durumu, Metastaz, Evre Ve Sigara Kullanımı Arasındaki İstatistik Analiz Sonuçları	39
Tablo 13. Hastaların PIK3CA Mutasyon Sıklıkları	40
Tablo 14. Hastaların PIK3CA Mutasyonu İle Kilo Kaybı, LN Durumu, Metastaz, Evre Ve Sigara Kullanımı Arasındaki İstatistik Analiz Sonuçları.....	40
Tablo 15. Hastaların DDR-2 Mutasyon Sıklıkları	41

Tablo 16. Hastaların DDR-2 Mutasyonu İle Kilo Kaybı, LN Durumu, Metastaz, Evre Ve Sigara Kullanımı Arasındaki İstatistiki Analiz Sonuçları	42
Tablo 17. Progresyonsuz Sağkalımı Etkileyen Faktörler	43
Tablo 18. Genel Sağkalımı Etkileyen Faktörler.....	45
Tablo 19. Progresyonsuz Sağkalımı Etkileyen İstatistiki Olarak Anlamli Faktörler.....	47
Tablo 20. Genel Sağkalımı Etkileyen İstatistiki Olarak Anlamli Faktörler.....	48
Tablo 21. Progresyonsuz sağkalımda çoklu değişkenli analiz sonuçları.....	49
Tablo 22. Genel sağkalımda çoklu değişkenli analiz sonuçları.....	49
Tablo 21. BRAF, DDR-2 ve PIK3CA Mutasyonlarının Progresyonsuz Ve Genel Sağkalım Üzerine Etkisi.....	53

ÖZET

Amaç: Akciğer kanseri en sık görülen 2. ve en çok ölüme neden olan kanser hastalığıdır. Akciğer kanseri gelişiminde diğer tüm kanser hastalıklarında olduğu gibi tümör supresör genlerde oluşan mutasyonlar ve protoonkogenler önerimli yer tutarlar. Ayrıca akciğer kanserine bağlı mortalite ve mortalitenin azaltılması için platin bazlı kemoterapiler ile yeterli sonuçlar alınamaması üzerine hedefe yönelik tedaviler ön plana çıkmıştır. Tümör supresör genlerdeki mutasyonlar ve mutasyonlar sonucunda oluşan ürünler gelişmiş tedavilerin hedefi olmuşlardır. Bu çalışmada kliniğimize başvuran KHDAK tanılı hastalarda BRAF, DDR2 ve PIK3CA gen mutasyonu oranlarının belirlenmesi, genel ve progresyonsuz sağkalıma etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza 2013 - 2015 yılları arasında Pamukkale Üniversitesi Onkoloji Bölümüne başvuran KHDAK olan 74 hasta alınmıştır. Hastaların genetik mutasyon analizleri yapılmıştır. Ayrıca hastaların tedavi öncesi nötrofil, platelet ve lenfosit değerleri bakılarak sağkalım üzerine etkileri araştırılmıştır.

Sonuçlar: Çalışmamıza katılan 74 hastanın 13 (%17,6)'ünde BRAF mutasyonu, 3 (%4,1)'ünde PIK3CA mutasyonu ve 1(%1,4)'inde DDR-2 mutasyonu izlendi. Mevcut BRAF mutasyonlarının 4 (%5,4)'ü G464E, 4 (%5,4)'ü G466E, 2 (%2,7)'si G469A, 1 (%1,4)'i G469S, 1 (%1,4)'i V600G, 1 (%1,4)'i de V600M, mevcut 3 PIK3CA mutasyonun 1 (%1,4)'i E542K, 1 (%1,4)'i E545K, 1 (%1,4)'i de H1047R mutasyonu ve mevcut 1 (%1,4) DDR-2 mutasyonu A2082C olarak tespit edildi. BRAF ve DDR-2 gen mutasyonunun progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi görülmezken, PIK3CA mutasyonu hastalarda progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine negatif etkili olduğu görülmüştür. Hastaların NLR ve TLR değerleri ölçüldü. NLR ve TLR değerlerinin progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım üzerine etkisinin olmadığı görüldü. Hastaların yaşadığı

yer, kilo kaybı, metastatik olması, kemoterapi verilmiş olması ve tedavi sırasında toksisite gelişmesinin progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturduğu görüldü. Hastaların patolojik tipleri, sigara kullanımı, evreleri arasında progresyonsuz ve genel sağkalım analizlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi.

Yorum: Çalışmamız sonucunda BRAF ve DDR-2 mutasyon oranları literatür verileriyle uyumlu sıklıkta görülmesine rağmen, PIK3CA mutasyon oranları, literatür verilerinden daha yüksek düzeyde bulundu. PIK3CA gen mutasyonunun genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım üzerine, literatür verileriyle uyumlu olarak negatif yönde etkili olduğu görüldü. BRAF ve DDR-2 mutasyonlarının ise progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı etki oluşturmadığı gösterildi. Bu veri literatür ile uyumlu değildi. NLR ve TLR değerleri de literatür verilerinden farklı olarak sağkalım üzerine anlamlı etkili çıkmadı. Tedavi dirençlerini, daha geniş hasta katılımını ve ekspresyon yüzdelerini içeren çalışmalar ile hedefe yönelik tedaviler için hedeflerin belirlenmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: BRAF, PIK3CA, DDR-2, KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİ, NÖTROFİL LENFOSİT ORANI, TROMBOSİT LENFOSİT ORANI

SUMMARY

Purpose: Lung cancer is second most frequent cancer and the most frequent cause of cancer-related death. Proto-oncogenes and mutations in tumor suppressor genes are important in development of lung carcinoma as well as any other tumors. Furthermore, in order to decrease morbidity and mortality in lung carcinoma, target specific treatments stood out after experiencing inadequate outcomes with Platin based chemotherapies. Mutations in tumor suppressor genes and products of these mutations have become a new target of advanced treatments. In this study, we aimed to determine BRAF, DDR2, PIK3CA gene mutation rate and their effects on general and progression free survival.

Subjects and Methods: This study included 74 patients who consult Pamukkale University Hospital Clinic of Onchology with NSCLC between 2013-2015. Genetic mutation analysis had performed on patients. Besides, neutrophil, Platelet, Lymphocyte levels before treatment are recorded and investigated for their effects on survival.

Results: BRAF mutation has found in 13 (%17,6), DDR-2 mutation has found in 1 (%1,4), PIK3CA mutation has found in 3 (%4,1) of patients. In 13 BRAF mutations 4 (%5,4) were G466E, 2 (%2,7) were G469A, 1 (%1,4) was G469S, 1 (%1,4) was V600G, 1 (%1,4) was V600M; in 1 (%1,4) DDR-2 mutation was A2082C and in 3 PIK3CA mutations 1 (%1,4) was E542K, 1 (%1,4) was E545K, 1 (%1,4) was H1047R mutation. Whereas BRAF and DDR-2 mutations were found that had no statistically significant effect, PIK3CA mutation were found that had negative effect on overall and progression-free survival. NLR and TLR levels are measured and found unrelated with overall and progression-free survival. The place where patients live, weight loss, having chemotherapy and developing toxicity whilst having treatment were found statistically related with overall and progression-free survival. Pathological pattern, smoking and stage were not found statistically related with overall and progression free survival.

Conclusion: In our study, BRAF and DDR-2 mutations frequency have found coherent with previous studies. However PIK3CA mutation frequency were found relatively high from previous studies. PIK3CA have found with negative effect on overall and progression-free survival, coherent with previous studies. However BRAF and DDR-2 mutations were found statistically unrelated to overall and progression-free survival. And this result was incoherent with previous studies. NLR and TLR levels were found unrelated with overall and progression-free survival, unlike previous studies. Further studies including treatment resistance, expression rates and larger groups of patients are needed to define target for target specific treatments.

Keywords: BRAF, PIK3CA, DDR-2, Non-Small-Cell LungCancer, Neutrophil Lymphocyte Ratio, Platelet Lymphocyte Ratio

GİRİŞ

Akciğer kanseri, 20. yüzyılın başlarında nadir görülen bir hastalık iken, sigara içme alışkanlığındaki artışa paralel olarak sıklığı giderek artmış ve dünyada en sık görülen kanser türü haline gelmiştir. Akciğer kanseri gelişmiş ülkelerde kansere bağlı ölümlerde her iki cinsiyette de birinci sıradadır (1). Dünya Sağlık Örgütü Sınıflamasına göre primer akciğer kanseri 4 ana histolojik alt tipe ayrılmaktadır (82). Bu alt tiplerin görülme sıklıkları; Adenokarsinom (bronşioloalveolar karsinom da dahil) %38, Skuamöz hücreli karsinom %20, Büyük hücreli karsinom %5, Küçük hücreli karsinom %13, sınıflandırılmayan diğer küçük hücreli dışı karsinomlar %18, diğerleri %6 şeklindedir (82).

Akciğer kanseri mortalitesi yüksek bir hastalıktır. Tanı sonrası sadece %15 - 16,6 hasta 5 yıl ve üzeri hayatta kalabilmektedir (9). Mortalite ve morbidite oranları bu denli yüksek olması nedeniyle akciğer kanserinin önlenmesine ve tedavisine yönelik çalışmalar önem kazanmaktadır. Kemoterapi ilaçlarının çeşitliliği ve yan etki profilinin de geniş olması sebebiyle son dönemlerde hedefe yönelik tedaviler önem kazanmıştır. Hedefe yönelik tedavi ihtiyacının artması nedeniyle akciğer kanserinin patofizyolojisinin aydınlatılması da önem kazanmaktadır. Son 10 yıldır akciğer kanserinde özellikle hedefe yönelik tedavilerde olmak üzere çok önemli gelişmeler ortaya çıkmıştır. Tümör süpresör genler, protoonkogenler ve bu genlerde meydana gelen mutasyonların araştırılması bu bağlamda önem kazanmaktadır. Tümörlerin moleküler heterojenitesinin gün geçtikçe daha iyi anlaşılması, hedefe yönelik ilaçların özellikle küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarının adenokanser alt tipinde tedavi seçeneği olarak kemoterapiye alternatif olmaya başlamıştır. Fakat günümüzde çalışmalar ve bulunan ajanlar daha çok gelişmiş ülkelerde daha sık gözlenen adenokanser alt tipindedir. Ülkemizde kendi hasta popülasyonumuzda özellikle skuamöz hücreli akciğer kanseri daha sık görülmekte olup, henüz önerilen ve kullanılan hedefe yönelik bir ajan bulunmamaktadır. Genetik heterojenitesinin daha zengin olduğu ifade edilen skuamöz hücreli akciğer karsinomunda literatürde ancak son zamanlarda yapılan mutasyon analizlerine rastlamak mümkün olabilmektedir. Diğer ırk ve topluluklarda yapılan çalışmalar henüz yeni olup, Türk toplumunda ise

herhangi bir analiz yapılmamıştır. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri vakalarında görülen DDR-2, BRAF, PIK3CA gibi mutasyonların ilerleyen dönemde hedefe yönelik ilaç geliştirme amacıyla kullanılabileceği öngörülmektedir.

Son yıllarda tümör biyolojisi üzerinde yapılan çalışmalarda bir protoonkogen olan BRAF (v-RAF murin sarkom viral onkogen homolog B) geninde meydana gelen mutasyonun çeşitli kanser türlerinde var olduğu tespit edilmiştir (36). Yapılan çalışmalarda özellikle BRAF geninin V600E mutant tipine yönelik tedaviler geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Fosfatidilinozitol 3-kinaz (PI3K protein ailesi) bir lipid kinazdır ve fosfatidilinozitol 3- fosfatın rejenerasyonundan sorumludur. Bu protein ise büyüme faktör reseptörleri ve hücre içi aşağı doğru sinyal yolağı arasındaki anahtar medyatördür (68). PIK3CA fosfatidilinositol-3-kinazın katalitik alt birimini kodlayan gendir (71). Bu gendeki mutasyonlar; baş ve boyun, üriner sistem, meme, serviks, endometrium, glioblastomlar ve gastrik kanserlerin yaklaşık %30'unda tanımlanmıştır. Ancak akciğer kanserinde ise bu oran daha düşüktür. KHDAK vakalarının yalnızca %2'sinde tespit edilmiştir (74,75,76). Yapılan çalışmaların sonucunda PIK3CA ve EGFR, KRAS mutasyonlarının birlikte görülmesinin kötü prognoz ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Prognoz belirleyicisi olabilen bu mutasyonların varlığı sebebiyle KHDAK tanılı hastalarda terapötik stratejileri belirleyebileceği için PIK3CA mutasyonu çalışılması önerilmektedir. Yapılan çalışmaların sonucunda rezeke edilebilir akciğer adenokarsinomunda PIK3CA mutasyonlarının kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir.

DDR2 (discoidin domain-containing receptor 2) ise bir reseptör tirozin kinazdır. Daha önce yapılan çalışmalarda epitelyal - mezenkimal geçiş ile hücre çoğalması, migrasyon ve metastazın oluşumunda etkili olduğu gösterilmiştir (52,53). DDR2 mRNA ekspresyonunun değişken paternlerinin KHDAK, böbrek, meme, beyin, endometriyal ve kolon kanserlerinde görüldüğü bildirilmiştir (54,55,56,57). Yapılan çeşitli çalışmalarda, DDR2 ve onun mutasyonlarının akciğer SCC hücrelerinde EMT (Epithelial Mesenchymal Transition)'yi arttıran etkin bir düzenleyici faktör olduğu gösterilmiştir (58). EMT ilk olarak erken embriyojenik dönem sırasında dokuların yeniden biçimlenmesine izin veren bir santral farklılaşma süreci olarak tanınmıştır ve

tümörün invazyon ve metastaz yapmasında rolü olduğu gösterilmiştir (59). DDR2 mutasyonunun varlığı KHDAK’de kötü klinik sonuçlarla ilişkili olarak bildirilmiştir (62,63). Bu nedenle, EMT ile indükleyen yollar, kanser tedavisinde önemli olabilirler ve metastazı önlemek için EMT’yi yöneten moleküler mekanizmaların anlaşılması oldukça önemlidir.

Yakın zamanda yapılan araştırmalar göstermiştir ki, küçük hücreli dışı akciğer karsinomunun bireyselleştirilmiş tedavisinde pek çok ajan zaman içerisinde kullanıma girecektir. Bu nedenle, biz de bu tez çalışmasında Türkiye’de yapılmış yeterli çalışma olmadığından, ülkemizdeki hastaların genetik profilinin daha iyi tanımlanması amacıyla periferik kandan BRAF, PIK3CA, DDR 2 mutasyonlarının sıklığını ve bunların klinik, prognostik önemini araştırmayı amaçladık. Çalışmamızın çıkış noktası yeni tedavi metodları geliştirmek ve hedefe yönelik tedavilerin önünü açmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Epidemiyoloji

Akciğer kanseri, 20. yüzyılın başlarında nadir görülen bir hastalık iken, 1950 yılından itibaren sigara içme alışkanlığındaki artışa paralel olarak sıklığı giderek artmış ve dünyada en sık görülen kanser türü haline gelmiştir. Akciğer kanseri gelişmiş ülkelerde kansere bağlı ölümlerde her iki cinsiyette de birinci sıradadır. Tüm dünyada kanser olgularının %12,8'inden ve kanser ölümlerinin %17,8'inden akciğer kanseri sorumludur (1). Akciğer kanseri 2012 yılında dünya çapında yaklaşık olarak 1,8 milyon hastada ortaya çıkmış ve 1,6 milyon insanın ölümüne neden olmuştur (2). SEER (The Surveillance, Epidemiology and End Results) verilerine göre 2014 istatistiklerinde tahmini 224210 yeni vakanın 159260'ının ex olması beklenmektedir. Ülkemizde bu konudaki istatistiksel araştırmalar çok kısıtlı olmasına rağmen Sağlık Bakanlığı'nın 1997 yılında yayınlanan raporunda akciğerin kanserinin ülkemizdeki tüm kanserler arasında %17,6 oranla birinci sıklıkta görüldüğü belirtilmiştir (3). Sağlık Bakanlığı verilerine göre akciğer kanseri sıklığı batı bölgelerimizde en yüksek (Akdeniz 41,0/100.000, Ege ve İç Anadolu 39,5/100.000) Güneydoğu ve Doğu Anadolu bölgelerimizde en düşük (sırayla 17,7/100.000, 11,7/100.000) değerlerdedir (3). Daha güncel bir çalışmada (2014) Türkiye'de yaşa standardize akciğer kanseri insidansı erkeklerde 74,2/100000, kadınlarda ise 9,3/100000 olarak saptanmıştır. İnsidans hızının erkeklerde 75-79 kadınlarda ise 80-84 yaş aralığında tepe noktaya ulaştığı gösterilmiştir. Medyan yaşam süresi 9 ay iken, 3 yıllık sağkalım tahmini %13 bulunmuştur (4).

1957-1960 yılları arasında Lahey Kliniği'nden bildirilen serilerde erkek-kadın oranı 6,8:1 iken, şimdi bu oran 1.5:1'dir (5). Vücut yüzeyine göre içilen sigara miktarları kıyaslandığında, kadınların erkeklere göre akciğer kanserine yakalanma olasılığının daha fazla olduğu gözlenmiştir (6,7). Kadınlarda sigara kullanımı alışkanlığındaki artış nedeniyle Doğu Avrupa ülkeleri ve ülkemizde akciğer kanseri sıklığı giderek artmaktadır (8). Tanı sonrası sadece %15 -16,6 hasta 5 yıl ve üzeri hayatta kalabilmektedir (9).

Akciğer kanseri en sık olarak 50-70 yaş arasında görülmektedir. Sigaraya başlama yaşı düştükçe ve içilen sigara miktarı artıkça, görülme yaşı daha da aşağılara

inmektedir. Türk Toraks Derneği-Akciğer ve Plevra Maligniteleri Çalışma Grubu'nun çalışmasında olguların %86,7'si ileri evrede yer almaktadır (10). Başvuru sırasında akciğer kanserli olguların %80'i inoperabl olup, sadece %20 olgu cerrahi tedaviye adaydır (11). Klinik ve tedavi açısından, primer akciğer kanserleri, küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve küçük hücre dışı akciğer kanseri (KHDAK) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

2.2 Etiyoloji

Akciğer kanseri etyolojisinde çok sayıda faktörün rol oynadığı bir hastalıktır. Akciğer kanseri, diğer çoğu kanserden ayrılmaktadır çünkü değiştirilebilir bir risk faktörü olan sigara dumanına maruziyet etyolojide en önde gelen nedeni oluşturmaktadır. Sigara içimi akciğer kanseri ilişkili ölümlerin %85'den fazlasından sorumludur. Polisiklik hidrokarbonlar, vinil klorid, nikel, aldehidler, peroksitler, nitrozaminler ve benzopiren sigara dumanında tanımlanmış olan 40 kadar karsinojenden birkaçıdır (12). Sigara içicileri arasında akciğer kanseri gelişimi içmeyenlere oranla 10-25 kat artış gösterirken sigara kullanımı, akciğer kanserinin tüm histopatolojik tiplerinin gelişme riskini arttırır (13). Son zamanlara kadar sigara içimiyle akciğer kanseri arasındaki ilişki esas olarak dolaylıydı. Sigara dumanının kimyasal bir birleşeni olan benzopirin metabolitinin bulunması sonrasında bu ilişki açıklanabilmektedir. Benzopirin, akciğer kanserlerinin %60'ında anormal olduğu görülen p53 tümör supresör genindeki 3 spesifik bölgede hasar yapmaktadır (13).

Sigara kullanımıyla benzopiren, nitrozamin gibi birçok karsinojene maruziyet söz konusudur (13). Ayrıca sigara dumanından bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonların akciğer kanserindeki diğer mutasyonlara neden olduğu düşünülmektedir (15). Hayat boyu sigara içen bireydeki akciğer kanseri riski hayat boyu sigara kullanmamış bireye göre 10 ila 30 kat fazladır. Hayat boyu sigara içenlerde kümülatif risk %30 iken, hiç sigara kullanmamış olanlarda bu risk %1 veya daha az bulunmuştur (16).

Sigaraya başlama yaşı, inhalasyon derecesi, içindeki katran ve nikotin miktarı ve filtresiz sigara kullanımı akciğer kanseri gelişiminin risk oranını değiştirmektedir. Sigaranın kesilmesi ile risk azalmaktadır, bırakma süresi ile orantılı olarak % 20 ila

90 oranında risk azalması izlenmektedir. Ancak özellikle sigara bırakılması sonrası ilk beş yılda akciğer kanserinde bir

artış olduğu gözlemlenmiştir. Hastaların aslında sigara bırakma sebeplerinin tanı konmamış akciğer kanserinin semptomları olduğu düşünülmektedir ve artış bu duruma bağlanabilir (17).

Pasif sigara içiminin de akciğer kanseri gelişiminde önemli katkısı bulunmaktadır. Aktif sigara içiminde riskin daha fazla olduğu bilinse de pasif sigara maruziyetinin çoğu zaman daha genç yaşlarda başladığı ve daha uzun süre gerçekleştiği bilinmektedir. Bu şekilde sigara içmeyen ancak çevresel sigara dumanına maruz kalan bireylerde de akciğer kanseri gelişme oranı sigara içmeyen popülasyona göre % 30 daha fazla olup, sigara içmeyenlerde görülen akciğer kanseri ölümlerinin % 20'sini oluşturmaktadır (18).

Aريلhidrokarbon hidroksilaz enzimi sigara dumanında yoğun olarak bulunan polisiklik hidrokarbonları aktif karsinojenlere çeviren bir enzimdir. Yüksek enzim aktivitesi gösteren kişilerde risk artmış olabilir. Hücre büyümesi ile ilgili işlevleri olan bazı genlerde dış etkenlerle (radyasyon, kimyasal maddeler, virüsler) değişiklikler meydana gelerek onkogen haline gelmesi karsinogenezde önemli olduğu düşünülmektedir (19,20)

Akciğer kanseri riskini arttırması nedeniyle son yıllarda toplumda radon gazında maruziyetle ilgili kaygılar oluşmaya başlamıştır. Radyum 226'nın parçalanmasıyla oluşan radyoaktif bir gazdır. Bazı çalışmalarda sigara kullanmayanlarda akciğer kanserinde temel neden olduğu ileri sürülmüştür (21). Yer altı uranyum madenlerinde radon kullanılmaktadır ve sonrasında bu maddelerin parçalanma ürünleri akciğer kanseri riskinde artışa neden olur (22).

Akciğer kanseri riskini arttıran bir diğer önemli faktör de hava kirliliğidir. Endüstriyel çevrelerde akciğer kanserinin daha fazla görülme nedeni dış ortamdaki havanın kirliliğidir.

Başta aromatik hidrokarbonlar ve arsenik olmak üzere, nikel, krom gibi metaller, motorlu araçların egzoz dumanı ve kömür dumanı şehir havasını kirleten karsinogenik etkenlerdir (23).

Doğada bulunan ve mekanik işleminden sonra mineral lif oluşturan fibröz silikatlara asbestoz denir. Asbest yirminci yüzyılın başından itibaren, ısıya ve kimyasal maddelere dayanıklılığı nedeniyle inşaat, gemi, uçak, otomobil yapımında ve tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılmıştır (23). Ülkemizde İç Anadolu Bölgesi ve Diyarbakır ilinde çevresel asbest maruziyeti saptanmıştır (24). Asbestin, akciğer kanserlerinin % 3 - 4 ünden sorumlu olduğu tesbit edilmiştir (25).

Diyetle alınan yağ ve kolesterol riski arttırırken, beta-karotenin riski azalttığı gösterilmiştir (26). Diyet ve akciğer kanseri arasındaki ilişki, karotenoidler, vitamin A, vitamin C, selenyum gibi antioksidanların, sigara dumanı ile çevresel kirleticiler tarafından ortaya çıkarılan serbest radikallerin ortadan kaldırılmasında ve böylece karsinogenezin önlenmesindeki önemli rollerinin bilinmesi nedeniyle araştırılan bir konu olmuştur (27).

Günümüzde yaygınlaşmaya devam eden akciğer hastalıklarından tüberkülozda akciğer kanseri riski ile ilişkili bulunmuştur. Bir çalışmada, 700.000 hasta değerlendirilmiş, sosyodemografik faktörlere ve KOAH'a göre düzeltme yapıldıktan sonra akciğer kanserinin 3,3 kat arttığı saptanmıştır (28).

Tüberküloz dışında kronik bronşit veya silikozis gibi geçirilmiş akciğer hastalıklarının akciğer kanseri insidansını arttırdığı bildirilmiştir (29). Çalışmalarda akciğer kanserinin sarkoidozlu hastalarda 3 kat fazla geliştiği, tüberkülozlu hastalarda yaklaşık 8 kat fazla görüldüğü tespit edilmiştir (30).

Hormon replasman tedavisinin kadınlarda akciğer kanseri riskini artırıp artırmadığı netlik kazanmamıştır. Yurtdışında yapılan 20'den fazla çalışmanın analizinde sonuçlar anlamlı olmasa da ABD'de Chlebowski ve arkadaşları tarafından yapılan büyük bir çalışmada postmenopozal kadınlarda akciğer kanseri riskine etkisinin olmadığı ama akciğer kanserinden ölümlerin daha hormon replasman tedavisi alanlarda daha çok olduğu bildirilmektedir (31).

Birinci derece akrabalarında kanser olanlarda akciğer kanseri riski 2,4 kat artmış bulunmuştur (24). Ankara üniversitesi tıp fakültesi göğüs hastalıkları anabilim dalı tarafından yapılan 2004 yılındaki bir çalışmada 1500 kişilik akciğer kanseri tanılı olgunun 600'ünde (%40) ailede kanser hastası olduğu tesbit edilmiştir. Bu 600 kanser hikayesinin de %51,8'inin akciğer kanseri, %35,5'inin gastrointestinal kanserleri, %12,7'sinin diğer sistem kanserleri olduğu saptanmıştır. Çalışma sonunda akciğer kanserli kişilerin ailelerinde akciğer kanseri ve gastrointestinal sistem kanserlerinin anlamlı ölçüde yüksek olduğu gösterilmiştir (32).

Yoğun sigara içicilerinin yalnızca küçük bir kısmında (yaklaşık 8 kişiden birinde) akciğer kanseri gelişmesigenetik faktörlerin riskin belirlenmesindeönemli bir unsur olduğunu göstermesi bakımından önemlidir (24). Akciğer kanseri gelişiminde genetik olarak belirlenen karsinojen metabolizmasının direkt rolü olduğu gösterilmiştir (33).

Onkogenler, tümör supressör genler, DNA tamirinden sorumlu olan genlerde meydana gelen bazı değişikliklerin akciğer kanseri ile olan ilişkisi yapılan moleküler çalışmalarla ortaya konulmuştur. Bu onkogenlerin en önemli grupları myc (N-myc, C-myc, L-myc) ve RAS (K-RAS, N-RAS, H-RAS) aileleridir. Bunun yanında bazı tümör supresör genlerinde de (retinoblastom ve p53 geni) mutasyon saptanmıştır (33). Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde çok sayıda moleküler genetik bozukluk tanımlanmıştır. Bunlar hücresel sağkalım ve proliferasyon için önemli olan sinyal proteinlerini kodlayan genlerde ortaya çıkar. Mutant onkogenler, onkogeneizde önemli rol alır (34,35).

2.2.1 BRAF Mutasyonları

İkibinli yıllarda tümör biyolojisi üzerinde yapılan çalışmalarda bir protoonkogen olan BRAF (v-raf murin sarkom viral onkogen homolog B) geninde meydana gelen mutasyonun çeşitli kanser türlerinde var olduğu tespit edilmiştir (36). B-RAF hücre proliferasyonunu kontrol eden ve RAS GTPaz'ı MAPK ailesinin aşağıya doğru olan proteinlerine bağlayan bir serin treonin kinazdır (37). BRAF RAS yolağında anahtar faktördür. Yüzey reseptörleri ile aktive olduğunda RAS, BRAF'ı da içeren RAF'ı

aktive eder. RAF MEK'i fosforile eder. MEK de ekstraselüler sinyal düzenleyicisi olan ERK'ı (extracellular signal-regulated kinase) aktive eder. ERK kanser progresyonu veya indüklenmiş hücre yaşlanmasını ve apoptozisi düzenler. BRAF mutasyonları kinaz aktivasyonuna veya kinaz aktivasyonu hasarına neden olur (38). BRAF, RAF kinaz ailesinin üç üyesinden birisidir: A-RAF, B-RAF ve RAF-1 (ayrıca C-RAF olarak da bilinir) (36).

BRAF geni, 7. kromozomun uzun kolu (7q34) üzerinde yer alır ve 18 ekzondan oluşur. Mutasyonlar, sıklıkla ekzon 15 içerisinde yer alan kodon 600 bölgesinde (V600A, V600D, V600E ve V600KRM) ve 11. ekzonda gözlenir. Hastalarda en sık V600E mutasyonu gözlenir (39,41). Somatik BRAF mutasyonları orijinal olarak melanomlarda tanımlanmıştır. Mutasyonların %80'i kinaz parçasındaki Val600 rezidüsünü etkilemektedir (ekzon15). Spesifik V600 mutasyonlu BRAF varyantlarına karşı tedaviler geliştirilmiştir ve umut verici sonuçlar göstermektedir (40,41).

Amerika Birleşik Devletleri'nde ve Japonya'da yapılan çalışmalarda KHDAK'de tümörlerin %1-3'ünde BRAF mutasyonu bulunmuştur ve bunların çoğu adenokarsinomlardır (36,42,43). Yine Japonya'da yapılmış bir çalışmada ağır sigara içicisi olan, erkek cinsiyetteki akciğer adenokarsinomu olgularında BRAF mutasyonu %1-3 oranında saptanmıştır (44). Batı popülasyonlarındaki BRAF mutasyonlu KHDAK'nin klinikopatolojik özellikleri kapsamlı olarak değerlendirilmemiştir ama sıklığı %2-5 olarak belirtilmiştir (45).

BRAF mutasyonları kalp, yüz ve cilt bozuklukları ile giden sendromlara yol açabilmektedir. Mutasyonlarının KHDAK dışında aynı zamanda Non hodgkin lenfoma, kolorektal kanser, malign melanom, over, tiroit kanseri gibi çeşitli kanserlerle ilişkisi söz konusudur (46). Melanomalarda yaklaşık % 50, kolorektal kanserlerde %15 ve akciğer kanserlerinde %1-5 oranında somatik BRAF gen mutasyonları saptanmıştır (36,46,47). Over kanseri olan hastalarda, özellikle düşük seviyeli seröz karsinoması ve borderline tümörü olan hastaların %30'unda BRAF geni mutasyonu tespit edilmiştir (36). Kolorektal karsinomlu hastalarda BRAF mutasyonu olan vakalarda prognoz kötüdür (45).

Melanomların tersine, KHDAK'nin çoğu Val600Glu dışı mutasyonları barındırmaktadır (%88 vakada) (36,43). Bu mutasyonlar arasında kinaz parçasındaki Leu596Val mutasyonu ve aktivasyon parçasının G kıvrımındaki Gly468Ala mutasyonu vardır (36). BRAF mutasyonları, EGFR ve KRAS mutasyonlarından bağımsızdır. Biyolojik olarak, BRAF mutasyonları artmış kinaz aktivitesi ile ilişkilidir ve bu da MAPK2 ve MAPK3'ün yapısal aktivasyonunu sağlar (49). Bir akciğer kanseri fare modelinde akciğer epitel hücresinde BRAF Val600Glu mutasyon ekspresyonunun, tümörün korunması için gerekli olduğu tespit edilmiştir (49).

Avrupa'da yapılan çalışmalara göre sigara içme durumunun BRAF mutasyonları üzerine hiçbir etkisi yoktur (50). Norveç'te hiç sigara içmeyenler arasında KHDAK sıklığı %6 civarındadır. BRAF pozitif hastaların hiç sigara içmeyen hastalardan çıkması, bu mutasyonun KHDAK'de etkin olduğunu düşündürmektedir (51).

2.2.2 DDR 2 Mutasyonları

DDR2 (discoidin domain-containing receptor 2) bir reseptör tirozin kinazdır, kollajen 1 ve 3'e bağlanır ve matriks metalloproteinazlarının ekspresyonunu artırır. Daha önce yapılan çalışmalarda epitelyal-mezenkimal geçiş ile hücre çoğalması, migrasyon ve metastazın oluşumunda etkili olduğu gösterilmiştir (52,53). DDR2 mRNA ekspresyonunun değişken paternlerinin KHDAK, böbrek, meme, beyin, endometriyal ve kolon kanserlerinde görüldüğü bildirilmiştir (54,55,56,57).

DDR2 mutasyonlarının, akciğer SCC hücrelerinde aşırı ekspresyon sayesinde hücre proliferasyonu, migrasyon ve invazyonu arttırarak onkojenik özellik kazandırdığı gösterilmiştir. DDR2 mutasyonu, E-kaderin ekspresyonunu azaltarak akciğer SCC hücrelerinde epitelden mezenkimale geçişi indükler. Yeni DDR2 mRNA mutasyonu E-kaderin ekspresyonunu düzenleyerek artmış proliferasyon ve invazyona bu da akciğer SCC gelişimi ve progresyonuna sebep olur (58).

Yapılan çeşitli çalışmalarda, DDR2 ve onun mutasyonlarının akciğer SCC hücrelerinde EMT (Epithelial Mesenchymal Transition)'yi arttıran etkin bir düzenleyici faktör olduğu gösterilmiştir (58). EMT ise MMP-2 ve E-kaderin

ekspresyonunu düzenlemektedir. EMT ilk olarak erken embriyojenik dönem sırasında dokuların yeniden biçimlenmesine izin veren bir santral farklılaşma süreci olarak tanınmıştır ve tümörün invazyon ve metastaz yapmasında rolü olduğu gösterilmiştir (59). EMT; TGF beta (transforme edici büyüme faktörü), hepatosit büyüme faktörü (HGF), epidermal büyüme faktörü (EGF) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi hücre dışından gelen eksternal sinyallerle başlayabilir (60,61). Daha da fazlası, bazı yayınlarda EMT sürecinin kanser hücrelerinin tümör hücrelerinden ayrılmasında meydana gelen artışa neden olan güçlü bir mekanizma olduğu bildirilmektedir. EMT sürecine giren hücrelerin bir özelliği E-kaderin ekspresyon kaybıdır. Azalmış E-kaderin ekspresyonu da KHDAK'de kötü klinik sonuçlarla ilişkili olarak bildirilmiştir (62,63). Bu nedenle, EMT ile indükleyen yolaklar, kanser tedavisinde önemli olabilirler ve metastazı önlemek için EMT'yi yöneten moleküler mekanizmaların anlaşılması oldukça önemlidir.

Yapılan çeşitli çalışmalarda DDR2 mutasyon oranının Çin, Avrupa ve Amerikalı hastalarda farklı olmadığı gösterilmiştir (58). Çin’de yapılan bir çalışmada, akciğer SCC ‘li hastalarda diskoidin ve kinaz parçalarının mRNA düzeyleri ve mutasyon durumu araştırılmıştır. Seksen altı akciğer SCC örneği ile yapılan bu çalışmada DDR2’de % 4,6 sıklığında 3 yeni somatik mutasyon saptanmıştır. Hammerman ve arkadaşları 290 SCC doku örneğini sekanslamıştır ve toplamda 11 DDR2 gen mutasyonu (%3,8) saptanmıştır. Bu çalışmada yaş, cinsiyet veya sigara içme durumu ile DDR-2 arasında hiçbir korelasyon saptanmamıştır (64). Avrupa ve Kuzey Amerikalılarla yapılan bir çalışmada ise DDR2 mutasyon sıklığı skuamöz hücreli karsinomlularda %3,2 (64), adenoskuamöz karsinomlularda %0,5 (65), büyük hücreli karsinomlularda %17 (66) olarak saptanırken küçük hücreli akciğer karsinomu ve büyük hücreli nöroendokrin karsinomda hiçbir mutasyon tanımlanamamıştır. Ek olarak, DDR2 mutasyonları sigara içenlerde, içmeyenlere göre daha fazla saptanmıştır (67).

Çin, Amerika ve Avrupa’da yapılan çalışmaların aksine Japonya’da yapılan bir çalışmada Japonya hastalarında DDR2’nin 3-7-9 ve 12. ekzonlardaki genetik çeşitlilik değerlendirilmiş ve hiçbir mutasyon tesbit edilememiştir (57).

2.2.3 PIK3CA Mutasyonları

Fosfatidilinozitol 3-kinaz (PI3K protein ailesi) bir lipid kinazdır ve fosfatidilinozitol 3- fosfatın rejenerasyonundan sorumludur. Bu protein ise büyüme faktör reseptörleri ve hücre içi aşağı doğru sinyal yolağı arasındaki anahtar medyatördür (68).

PI3K hücre çoğalmasında yer alan sinyal iletim yolları, hayatta kalma, hücre ölümü, farklılaşma, hücre iskeletin yeniden ayarlanması ve hücreler arası trafiğı düzenleyen lipid kinaz ailesidir (69). PI3K'ların aktivasyonu, EGF (epidermal büyüme faktörü), PDGF (trombositten türemiş büyüme faktörü) ve IGF (insülin benzeri büyüme faktörü) gibi birçok büyüme faktörü tarafından düzenlenmektedir (70).

PI3K proteinin ana katalitik alt ünitesi p110 α izoformudur ve PIK3CA ile kodlanır (69). PIK3CA fosfatidilinositol-3-kinazın katalitik alt birimini kodlayan gendir (71). Genin 3q26.3 de bulunduğu tespit edilmiştir. Gen 21 ekzondan oluşur ve 1068 aminoasitten oluşan 124kDa'luk proteini kodlar. Kolon, meme, beyin, karaciğer, mide ve akciğer kanseri gibi birçok kanser tipinde bu gene ait gen çoğalmaları, delesyonları ve daha sıklıkla somatik missense mutasyonlar tanımlanmıştır (72,73). Bu gendeki mutasyonlar; baş ve boyun, üriner sistem, meme, serviks, endometrium, glioblastomlar ve gastrik kanserlerin yaklaşık %30'unda tanımlanmıştır. Ancak akciğer kanserinde ise bu oran daha düşüktür. KHDAA vakalarının yalnızca %2'sinde tesbit edilmiştir (74,75,76).

KHDAA'de PIK3CA mutasyonları sıklıkla, katalitik parçayı kodlayan ekzon 9'da Glu542 ve Glu545 rezidülerini etkiler (74,77). Bunlar enzimatik fonksiyonda artış dolayısıyla aktif AKT sinyal iletimi ve artmış onkogenik transformasyona neden olurlar (75).

Bu mutasyonlar, skuamöz hücreli karsinomdakine benzer sıklıkta adenokarsinomda da görülür ve EGFR mutant tümörlerde de ortaya çıkabilirler (78).

PIK3CA mutasyonları in vitro enzimatik aktivite kazanılmasını sağlar, büyüme faktörlerinin yokluğunda protein kinaz B sinyal yolağını aktive ederler ve ayrıca onkojenik hücresel transformasyonu da indüklerler (69,79).

Samuels ve arkadaşları tümör örneklerinden PIK3CA'nın tam uzunlukta dizisini çıkartmışlar ve fosfatidilinositol-3-kinaz katalitik alfa (PIK3CA) genine ait somatik mutasyonları tanımlamışlardır (74). En sık rastlanılan mutasyonların ekzon 9 (helikal domain) ve ekzon 20 (katalitik domainin kuyruk bölgesinde) olduğunu belirtmişlerdir. Yetmişdört kolorektal tümörün %32'sinde, 15 gliblastomanın %27'sinde, 12 mide kanserinin %12'sinde, 12 meme kanserinin %8'inde 24 akciğer kanserinin %4'ünde PIK3CA somatik mutasyonu tanımlamışlardır (74). PIK3CA amplifikasyonu ise özellikle skuamöz hücreli karsinomlarda olmak üzere KHDAK'de ve sigara içen erkeklerde görülür (77,78,80). PIK3CA mutasyonu olan tümörler her zaman mutant alel amplifikasyonu göstermezler (77,80). Tek başına PIK3CA amplifikasyonunun onkojenik potansiyeli biyolojik olarak gösterilememiştir. PIK3 ve mTOR proteinlerini hedef alan küçük molekül inhibitör BEZ235'in farelerde antitümör aktivitesi olduğu gösterilmiştir (81). Çoklu PIK3 inhibitörleri erken klinik değerlendirme aşamasındadır ancak şimdiye kadar tek ajanlara yanıt oranı düşük olarak saptanmıştır (82).

2.3 Patoloji

Dünya Sağlık Örgütü tarafından 2004'te yapılan ve sonrasında 2011 yılında IASLC / ATS / ERS tarafından modifiye edilen akciğer malign epitelyal tümörlerinin histopatolojik sınıflandırması Tablo 1'de gösterilmiştir (83).

Tablo 1. Akciğer Kanserlerinin WHO / IASLC / ATS / ERS Patolojik Sınıflaması

Akciğer Kanserinin Histolojik Sınıflandırılması
1. Skuamöz hücreli karsinom
Papiller
Berrak hücreli (clear cell)
Küçük hücreli (small cell)

Bazaloid
2. Küçük hücreli karsinom Kombine küçük hücreli
3. Adenokarsinom Preinvaziv lezyonlar Atipik adenömtöz hiperplazi (AAH) Adenokarsinoma in situ (AİS) (WHO 2004'e göre bronkoalveolar karsinom) -Nonmüsinöz -Müsinöz -Mikst müsinöz Minimal invaziv adenokarsinom Nonmüsinöz Müsinöz Mikstmüsinöz İnvaziv adenokarsinom Lepidik predominant Asiner predominant Papiller predominant Müsin üreten, solid predominant İnvaziv adenokarsinom varyantları İnvaziv müsinöz adenokarsinom (WHO 2004'te müsinöz bronkoalveolar karsinom) Kolloid karsinom Fetal varyant Enterik varyant

4. Büyük hücreli karsinom Nöroendokrin karsinom Bazaloid Lenfoepitelyomaya benzeri karsinom Berrak hücreli (clear cell) Rabdoid tip
5. Adenoskuamöz karsinom
6. Sarkomatoid karsinomlar Pleomorfik Spindle cell Giant cell Karsinosarkom Pulmoner blastom
7. Karsinoid tümör Tipik/atipik
8. Tükrük bezi tip Mukoepidermoid Adenoid kistik, Epitelyal-myoepitelyal karsinom
9. Pre invaziv lezyonlar Skumöz hücreli insitu karsinom Atipik adenomatöz hiperplazi Diffüz idiyopatik pulmoner Nöroendokrin hücre hiperplazisi

2.3.1. Adenokarsinom: Adenokarsinom, günümüzde en sık rastlanan akciğer kanseri alt tipidir (84). Adenokarsinom akciğer kanserlerinin %31'ni oluşturur (85). Sigara içmeyenlerde ve kadınlarda en sık görülen tipdir (86). Alveolar yüzey epiteli ya da bronş mukoza bezlerinden köken almaktadır. Tipik olarak periferik yerleşimli ve boyutları 4cm'den küçüktür (87). Histolojik tanısı için ya neoplastik gland formasyonu ya da intrasitoplazmik mün birikiminin gösterilmesi gerekmektedir.

Hücre içi müsinin tespit edilmesi için musikarmin veya Periyodik Asid Schiff (PAS) özel histokimyasal boyalar gereklidir. DSÖ 2004 yılı sınıflamasına göre adenokarsinom birkaç alt tipe ayrılmıştır (88). DSÖ 2004 sınıflamasında bronkoalveolar karsinom terimi karakteristik tümöral büyüme paterni (alveolar septa bozulmamış) gösteren tümörlere sınırlıdır. Bu nedenle bronkoalveolar karsinom herhangi bir stromal, plevral veya lenfatik invazyon içermez. Ancak fibröz doku veya kronik inflamatuvar hücre infiltrasyonu alvelolar septa kalınlaşmasına neden olabilmektedir. Hem müsinöz hem de müsinöz olmayan alt tipler tanımlanmıştır. Yeni sınıflandırma şemasında bu tümörler adenokarsinom in situ olarak yeniden adlandırılmıştır. Bronkoalveolar olmayan akciğer adenokarsinomlarında en belirgin bulgu müsin birikimidir (89). Kolloid karsinom rezeksiyonu genellikle küratiftir, ancak bazı vakalarda beyin veya kemiğe uzak metastaz yaptığı da bildirilmiştir. Taşlı yüzük hücreli kanserler genellikle agresif seyirlidir (90). Sık görülen akciğer kanserleri içinde kronik sigara içimi ile en az ilişkili olan bronkoalveolar karsinomdur. Papiller adenokarsinom eskiden belirgin papiller yapı içeren tümörler bronkoalveolar karsinom olarak sınıflandırılıyordu. İki bin dört sistemine göre, papiller adenokarsinomlar ayrı olarak sınıflandırılmıştır (91,92). Yeni sınıflandırma şemasına göre papiller tümörler papiller ve mikropapiller olarak iki gruba ayrılmıştır. İkincisinin prognozu oldukça kötüdür (93). Fetal adenokarsinomlar eskiden fetal akciğere benzeyen endodermal tümörler olarak adlandırılırdı ve bazıları tarafından pulmoner blastomun bir monofazik alt grubu olarak düşünülürdü (94,95). Klasik pulmoner blastom bifazik bir tümördür. Fetal adenokarsinomlar tipik pulmoner adenokarsinomlardan daha iyi prognozludur. IASLC/ATS/ERS 2011 sınıflamasında adenokarsinomlu hastaların sınıflandırılmasında birkaç değişiklik yapılmıştır (96). Daha önceden bronkoalveolar karsinom terimi kullanılan lezyonlar, transformasyon derecesine göre invaziv adenokarsinoma kadar birkaç kategoriye ayrılmıştır. Atipik adenomatöz hiperplazi (AAH) akciğer adenokarsinomu için preinvaziv bir lezyondur. Adenokarsinoma in situ (AIS) lokalize bir adenokarsinomdur, boyutu 3 cm ve altındadır ve herhangi bir invazyon yoktur. Müsinöz lezyonlar bu tümörlerin küçük bir alt grubunu oluşturur. Minimal invaziv adenokarsinom küçük, soliter adenokarsinomdur (3 cm ve altı) ve baskın olarak lepidik büyüme paterni içerir, invazyon 5 mm ve altındadır. Buradaki lezyonların çoğu müsinöz değildir.

Gözlemsel çalışmalara göre tam cerrahi rezeksiyon ile bu hastalarda hastalıksız sağkalım %100 civarındadır. İnvaziv müsinöz adenokarsinomu artık ayrı bir varyant olarak sınıflandırılmaktadır. İnvaziv adenokarsinomun diğer varyantları arasında kolloid, fetal ve enterik adenokarsinom da bulunmaktadır.

2.3.2. Skuamöz hücreli karsinom: Akciğer kanserlerinin %30'unu oluşturur. Skuamöz hücreli karsinom 1980'li yılların öncesinde akciğer kanserlerinde en sık rastlanan histolojik tip idi. Skuamöz hücreli karsinomun histolojik tanısında tümör hücrelerinin keratin üretimi ve/veya interselüler desmozomlar vardır. Skuamöz hücreli karsinomların çoğu (%60 - 80) trakeobronşiyal ağacın proksimal kısmından kaynaklanır, skuamöz metaplazi, displazi, karsinoma in situ şeklinde gözlenir. Santral ve periferik skuamöz hücreli karsinomlarda yaygın santral nekroz ve buna bağlı ortaya çıkan kavitasyon görülebilir. Skuamöz hücreli karsinomlu hastalar tipik olarak persistan öksürük, tekrarlayan hemoptizi veya havayolu tıkanıklığına bağlı tekrarlayan pulmoner enfeksiyonlar ile gelir.

Sigara kullanımı ile doğrudan ilişkisi ispatlanmıştır. Tipik olarak santral yerleşimli ve 4 cm'den büyük lezyonlardır. Lobar veya segmental bronşlardan çıkar ve %82'sinde kavitasyon görülür. Diğer tiplerle kıyaslandığında, iyi diferansiye skuamöz hücreli karsinomun metastaz oranı daha düşüktür (85). Yavaş büyüme eğiliminde olup metastazlarını geç dönemde yaparlar. Üç cm'nin altındaki tümörlerde mediastinal lenf noduna metastaz oranı %10'dur (97, 98).

Ülkemizde ise aşırı miktarda sigara tüketimi nedeniyle skuamöz hücreli tip daha sık izlenmektedir. Ülkemizde yapılan ve 1403 akciğer kanseri hastasını içeren bir çalışmada skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom ve küçük hücreli karsinom oranları sırasıyla %41.1, %25.6, %13.1 olarak bulunmuştur (99).

Adenokarsinomda mediastinal lenf nodları ve sistemik metastaz daha sık saptanırken, skuamöz hücreli karsinomda ise lokal olarak yayılım görülmektedir (100).

Skuamöz hücreli karsinomların DSÖ sınıflamasına göre sınıflandırılması şu şekildedir: Papiller skuamöz hücreli karsinomlar, proksimal tümörlerde ekzofitik ve

endobronşiyal büyüme paterni ile karakterizedir. Bazaloid skuamöz hücreli karsinomlar patolojik olarak belirgin periferik yerleşimli nükleus ile karakterizedir.

2.2.3. Adenoskuamöz Karsinom: Adenoskuamöz karsinomlar, malign glandüler ve skuamöz komponenti %10'dan fazla olan tümörlerdir (101). Adenoskuamöz karsinomlar agresif seyirlidir ve skuamöz hücreli karsinom veya adenokarsinomdan daha kötü prognozludur (102,103).

2.3.4. Küçük hücreli karsinom: Tüm akciğer kanserlerinin %18'ini oluşturur (85). Çok hızlı büyürler; erken dönemde hematojen metastaz yaparlar. Bu nedenle erken evrede hiler ve mediastinal lenf bezlerine yayılırlar. Tedavi edilmediklerinde ortalama yaşam süreleri 6-17 haftadır (104). Tümör-Nod-Metastaz (TNM) evreleme sisteminin 7. düzenlemesinde küçük hücreli akciğer karsinomu da TNM sistemi üzerinden evrenmektedir.

2.3.5. Büyük hücreli karsinom: Tüm akciğer kanserlerinin %9'unu oluşturur. Tipik olarak periferik yerleşimlidir ve büyük kitle (>7 cm) şeklindedir. Hızla büyürler ve erken evrede mediastinal ve beyin metastazı yaparlar (85).

2.4. Tanı ve tarama yöntemleri

Akciğer kanseri, %85 olgunun istemli içici ya da istem dışı pasif içici olarak hastalığa yakalandığı, etiyolojik olarak endüstri kökenli bir hastalıktır. Akciğer kanseri haricinde özefagus, ağız içi, larenks, farenks ve servikal kanserlerin de sigara içimiyle ilişkisi gösterilmiştir. Sigara içen bir kişiyle aynı ortamda yaşanması da akciğer kanseri riskini %20-30 oranında arttırmaktadır (105).

Diğer bir problem ise sigaranın içerdiği yüksek oranda bağımlılık yapıcı nikotin maddesidir. Bu nedenle sigarayı bıraktırma konusunda davranışsal tedavi ve ilaç tedavisinin kombine edilmesi faydalı olmaktadır. Akciğer kanseri tüm dünyada kansere bağlı ölümlerin en sık nedeni olmaya devam etmektedir. Sağkalım sonuçlarında düzelme olmaması, tümörün heterojen yapısına ve hastalığa tanı konmada geç kalınmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Diğer solid tümörlerde

(meme, serviks, kolon, prostat) tarama ve sonucunda erken teşhis sağkalım sürelerini uzatmaktadır. Akciğer kanserinde spiral bilgisayarlı tomografi (BT) ile tarama sonuçlarında ise, erken evrede (evre I) tanı oranında artma saptanmasına rağmen halen mortalitede bir azalma görülmemiştir (106). Akciğer kanseri şüphesi olan her hastaya Toraks BT, tercihen kontrastlı çekilmelidir. İntravenöz kontrast verilmesi sayesinde primer tümörün mediastinal invazyonu ve damarsal yapılardan da metastatik lenf nodları ayrımı yapılabilir. American Society of Clinical Oncology, American Thoracic Society, American Cancer Society ve National Comprehensive Cancer Network (NCCN) 55 - 74 yaş arasında 30 paket / yıl veya daha fazla sigara içmiş olup halen içenlere veya 15 yıl içinde sigarayı bırakmış olanlara yılda bir DDBT (düşük doz bilgisayarlı tomografi) ile tarama önermektedir (9). U.S. Preventive Services Task Force ise 55 - 80 yaş arasındaki yüksek riskli kişilere (>30 paket- yıl sigara içmiş olanlar) DDBT ile tarama önermektedir. Ayrıca, 50 yaşın üzerinde >20 paket-yıl sigara içmiş olanlara NCCN, ek olarak 1 adet risk faktörü varsa, American Association for Thoracic Surgery ise sonraki 5 yıl içinde riski %5 artmış ise tarama önermektedir (107).

2.4.1. Semptomlar

Öksürük birçok akciğer ve solunum yolu hastalıklarında olduğu gibi akciğer kanserinde de sıklıkla gözlenen bir semptomdur. Altı yüz yetmiş sekiz akciğer kanserli hastanın dahil edildiği bir çalışmada, hastaların %27'sinde primer tümörle ilgili semptomlar mevcutken, %34'ünde metastaz düşündürülen iştahsızlık, kilo kaybı ve yorgunluk gibi sistemik semptomlar, %32'sinde metastaz alanına spesifik semptomlar olduğu ve %6'sının asemptomatik olduğu saptanmıştır (108).

Akciğer kanserinde tümörün komşu dokuları invaze etmesi sonucunda çeşitli semptomlar gözlenmektedir. Rekürren laringeal sinir tutulumu ses kısıklığına, kanserin özefagusu yayılması veya basısı ise yutma güçlüğüne, tümörün vena kava superioru invaze etmesi ya da vena kavaya bası yapması vena kava superior sendromuna (VKSS) yol açabilmektedir. Pancoast tümörü, Horner sendromuna yol açabilir ve bu durum en sık olarak epidermoid karsinomda bildirilmektedir. Perikarda metastaz nedeni ile kardiyomegali, aritmi ve tamponat gelişebilmektedir. Frenik sinir invazyonunda hıçkırık ve diyafragma paralizi görülebilir. Periferik tümörlerin en

sık bulgusu plöretik göğüs ağrısıdır. Akciğer kanseri hastalarının %15-50'sinde plevral efüzyon görülebilmektedir (109,110). Tanı konulduğunda KHAK'nin %60'ı, KHDAK'nin ise %30-40'ı evre IV metastatik tümördür. Hematojen yayılması en sık merkezi sinir sistemi, kemik, karaciğer ve adrenal bezlere olmaktadır. Karaciğer metastazında sağ üst kadrant hassasiyeti, bulantı, kilo kaybı ve anemi görülebilmektedir. Kemik metastazları genellikle osteolitik olmakla birlikte adenokarsinomda osteoblastik tipte, asemptomatik veya ağrılı olabilmektedir. Merkezi sinir sistemi tutulumu ise asemptomatik olabileceği gibi baş ağrısı, bulantı, kusma, focal nörolojik semptomlar, konvulziyon, paralizi, pareziye neden olabilmektedir (111,112).

Akciğer kanserlerinin %7-15'inde paraneoplastik sendrom görülmektedir. Paraneoplastik sendromlar, metastatik hastalık veya primer tümör ile ilişkisi olmayan bulgu ve yakınmaları kapsar. Tam olarak açıklanamamış olmakla beraber paraneoplastik sendromların bir kısmında tümörden salgılanan biyolojik aktif maddeler, bir kısmında ise tümör dokusuna cevaben normal dokulardan salınan maddeler sorumlu olduğu öne sürülmektedir. Akciğer kanseri ile ilişkili paraneoplastik sendromlar; endokrin (hiperkalsemi, uygunsuz ADH salınımı, cushing sendromu vb.), nörolojik (Eaton-Lambert Sendromu, ensefalomiyelit, nöropati vb.), metabolik (hipoürisemi, hiperamilazemi vb.), renal (glomerülonefrit, nefrotik sendrom), hematolojik (trombositoz, lökositoz, eozinofili vb.), iskelet sistemi (hipertrofik osteoartropati, çomak parmak), kollajen-vasküler (dermatomiyozit, vaskülit, SLE, polimiyozit) cilt (Sweety Sendromu, Bazex Sendromu, hipertrikoz, eritrodermi vb.), koagülopati (DIC, tromboflebit vb.), diğer (ateş, kaşeksi vb.) olarak gruplandırılabilir (113).

Tablo-2: Akciğer kanserlerinde sık görülen semptomlar.

1.Primer tümöre bağlı a)Santral yerleşimli tümörlerde •Kuru öksürük %70 (50-75) •Hemoptizi %40 (25-50) •Dispne %40 •Wheezing veya stridor %20	c) Plevra • Plörezi d)Mediasten •Özefagus •Disfaji %2 •Bronkoplevral fistül
--	---

•Göğüs ağrısı %50 •Ateş b)Periferik yerleşimli tümörlerde • Öksürük • Dispne • Göğüs ağrısı 2.İntratorasik ekstrapulmoner yayılımlara bağlı a)Sinir • Servikal sempatik (Horner sendromu) • Ulnar ağrı • Vazomotor bulgular • N.frenikus felci • Diafragma paralizi • Dispne • Öksürük • N.rekürrens felci • Ses kısıklığı %20 b)Kardiyovasküler • Vena cava superior sendromu %5 • Pulmoner stenoz • Pulmoner sufl • Pulmoner emboli • Aritmi • Sinüzal taşikardi • Atrial fibrilasyon • Tamponad (Perikard) • Kalp yetmezliği (myokard)	•Aspirasyon •Lenfatik obstrüksiyon •Plörezi (seröz) •Duktus torasikus •Plörezi (şilöz) •Akciğer lenfatiklerine yayılım •Hipoksi •Dispne •Trakea •Wheezing •Stridor 3. Ekstratorasik sistemik metastazlarla ilgili Lenfadenopatiler • Baş ağrısı • Sarılık • İştahsızlık • Sağ hipokondrium ağrısı • Kemik ağrıları • Cilt – ciltaltı nodülleri 4. Sistemik • Anoreksi • Kilo kaybı %70 5. Paraneoplastik sendromlar
--	---

2.4.2. Tanı yöntemleri

2.4.2.1. Radyolojik İnceleme

Akciğer kanserinde tümör tanısı konulması, tümörün evrelendirilmesi, operabilitenin ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesi radyolojik incelemenin ana amaçlarındandır. İlk seçilecek radyolojik yöntem olan iki yönlü akciğer grafisine 3. boyutun, yani derinliğin eklenmesi gerektiği durumlarda yan grafi çekilmelidir. Özellikle küçük boyutta olan akciğer kanserinin tespitinde iyi teknik, radyolojik kör noktaların bilinmesi ve hastanın önceki filmleriyle karşılaştırma önem arz etmektedir. Spiral toraks bilgisayarlı tomografi akciğer kanseri tanısında kullanılabilecek bir diğer radyolojik görüntüleme yöntemidir. Spiral toraks bilgisayarlı tomografi, magnetik rezonans görüntüleme (MRI) ve Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) incelemeleri özellikle akciğer kanserinin evrelendirilmesinde kullanılan diğer görüntüleme yöntemleridir (114).

2.4.2.2. Balgam Sitolojisi

Akciğer kanseri tanısında kullanılan noninvaziv bir tanı yöntemidir. En az 3 örnek alınması gerekmektedir. Bronkoskopi gibi invaziv işlemlerin riskli olduğu santral lezyonu olan hastalarda önerilmektedir. Ortalama sensitivite değeri santral lezyonlarda %71, periferik lezyonlarda %49 olarak raporlanmıştır. Tek örnek için tanı değeri %68, iki örnek için %78 ve üç örnek için %86 olarak ölçülmüştür. Büyük tümör çapı, kanlı balgam ve santral lokalizasyon balgam sitolojisinin tanı değerini yükselten faktörlerdir (115).

2.4.2.3. Biyokimyasal analizler

Laboratuvar bulgularının hiç birisi akciğer kanserine spesifik olmamakla birlikte, nonspesifik anemi, obstruktif pnömoniye sekonder lökositoz ve özellikle küçük hücreli akciğer kanserinde kemik iliği tutulumuna bağlı trombositopeni, trombositoz, lökopeni izlenebilir. Karaciğer metastazlarında transaminazların (ALT, AST) ve bilirübinlerin yüksek olması karaciğer metastazını, kalsiyum (Ca) ve alkalen fosfataz (ALP) yükseklikleri de kemik metastazlarını düşündürebilir (114).

2.4.2.4. Bronkoskopi

Akciğer kanseri tanısında en sık kullanılan yöntemlerden biri olan bronkoskopi işlemi aynı zamanda evreleme, tedavi ve tedavi takibinde de kullanılır. İşlemin tanısal değeri santral tümör varlığında artar. Bu tümörlerin tanısında kullanılan tanısal işlemler bronşiyal yıkama, fırçalama, bronkoskopik biyopsi ve bronkoskopik iğne aspirasyonudur. Bir meta-analizde, santral tümör varlığında bronkoskopik tanısal işlemlerden endobronşial biyopsinin, fırçalamanın ve bronşial yıkamanın sensitivite değerlerinin sırasıyla; %74, %59 ve %48 olduğu bulunmuştur. Tüm bu işlemler kombine edildiğinde bronkoskopinin tanı değeri %89,8'e kadar yükselir (115). Rivera ve arkadaşları transbronşial biyopsi ile periferik lezyonlarda pozitif tanı oranının %57, fırça biyopsi ile %54, bronş lavajı ile %43 olduğunu göstermişlerdir (116). İki cm'den küçük lezyonlarda işlem duyarlılığı %34 iken 2 cm'den büyük lezyonlarda bu oran %63'dür. Floroskopi eşliğinde bu oranlar artmaktadır (116). Son yıllarda kullanıma giren endobronşial ultrasonografi (EBUS) ile lezyonlar periferik de olsa daha yüksek tanı oranlarına ulaşmak mümkündür. Üç cm'den büyük lezyonlarda tanı oranı EBUS yardımıyla %93'e kadar ulaşmaktadır (117).

2.4.2.5. Transtorasik (perkutan) İğne Aspirasyon ve Wedge Biyopsi

Bu yöntem özellikle periferik lezyonların tanısında kullanılmaktadır. Çeşitli radyolojik görüntüleme yöntemlerinin rehberliğinde uygulanır ve bronkoskopiye göre daha yüksek duyarlılığa sahiptir. Aspirasyon sitolojisi ve wedge biyopsi şeklinde uygulanabilen iki yöntemin karşılaştırıldığı çalışmalarda wedge biyopsinin sensitivitesinin %92'ye %86 oranında daha yüksek olduğu bulunmuştur (118). Transtorasik ince iğne aspirasyon biyopsisinin tanı değeri malign lezyonlarda %88-%91 arasında değişmekteyse de yalancı negatifliğin yüksek olması (%20-%30) nedeniyle malign lezyon dışlamasında çok güvenilir bir yöntem olarak görülmemektedir (119).

2.4.2.6 EUS-İA (Endoskopik Ultrason İle İğne Aspirasyonu)

Özefagoskopi yardımıyla yapılır. Biyopsi iğne kateteri, endoskopun çalışma kanallarından geçer. Bu teknik USG eşliğinde yapılır. Subkarinal, aortapulmoner, paraözefageal ve pulmoner ligament boyunca olan lenf nodlarının örneklenmesi

yapılabilir. EUS-İA'nın avantajı, anında kalitatif değerlendirme sağlaması ve paraaortik, paraözefageal bölgeleri içeren medistinoskopi ile ulaşılması mümkün olmayan veya ulaşılması zor olan lenf nodu seviyelerine biyopsi yapmakta kullanılabilmesidir. Dezavantajları ise USG sinyallerini bloke eden hava dolu trakeden dolayı sağ paratrakeal ve pretrakeal nodların biyopsisinde yetersiz kalmasıdır (120).

2.4.2.7. Mediastinoskopi

Standart servikal mediastinoskopi bir cerrahi açık biyopsi tekniğidir. Bu prosedür genel anestezi gerektirir. Genişletilmiş servikal mediastinoskopi ise standart olandan daha kapsamlıdır. Her ne kadar aynı standart olan gibi insizyon yapılsa da aortopulmoner pencerenin ve paraaortik lenf nodu istasyonlarının biyopsisini sağlar. Her iki prosedür de kanama riski taşır (121).

2.4.2.8. Metastatik Lezyon Biyopsisi

Akciğer kanserli olguların yaklaşık olarak %50'sine plevral efüzyon da eşlik eder. Eğer malign plevral efüzyon şüphesi varsa en az iki torasentez sonrasında plevral sitoloji bulguları negatif ise torakoskopi önerilmektedir (57). Rivera ve arkadaşları torasentezin tanı değerinin %50-60, plevra biyopsisinin tanı değerinin %46 olduğunu göstermişlerdir (59). Akciğer kanseri tanısı karaciğer, sürrenal bezler, beyin ve lenf bezleri gibi diğer metastaz bölgelerinden yapılan biyopsilerle de konabilmektedir (58,59).

2.5. Evreleme

Akciğer kanserinin evrelendirilmesi; tedavi yöntemlerinin belirlenmesinde, prognozun tanımlanmasında ve araştırılmasında, klinik çalışma sonuçlarının evrensel olarak karşılaştırılmasında önemlidir. Evrelendirme klinisyenlerin ortak bir dil kullanmasını sağlar. Bu sebeplerden dolayı evrelendirme işlemi kapsayıcılığı yüksek ve yeniliğe açık olmalıdır (122).

Akciğer kanserinin evrelendirilmesinde çeşitli süreçler yaşanmıştır. Bu süreçlerin dönüm noktalarına bakılacak olursa 1953 yılında ilk 'TNM' sınıflamasının Dr. Pierre Denoix tarafından yapıldığı, sonrasında 1968'de 'Malign Tümörler İçin TNM

sınıflandırması’ önerilerinde akciğer kanserinin diğer kanserler grubuna eklendiği görülecektir. Daha sonra 1973’de Mountain, Carr, Anderson ‘Akciğer Kanseri İçin Klinik Evreleme Sistemi’ (1. baskı), 1975 ikinci revizyon baskısı, 1978 üçüncü revizyon baskısı, 1986 dördüncü revizyon baskısı, 1997 beşinci revizyon baskısı, 2002 altıncı revizyon baskısı (5. baskı ile değişiklik yok) ve son olarak 2009’da yedinci evreleme sistemi yayınlanmıştır.

TNM (T:primer tümörün büyüklüğü ve yayılımı, N:bölgesel lenf bezi tutulumu, M:uzak metastaz), kanser yayılımının anatomik kapsamını göstermek için en yaygın olarak kullanılan evreleme sistemidir (123). (Tablo 2) (Tablo 3)

Tablo 3. Akciğer kanserinde TNM sınıflandırılması

T Sınıflandırması	
Tx	Primer tümörün belirlenememesi veya balgam ya da bronş lavajında malign hücrelerin saptanmasına karşılık, görüntüleme teknikleri veya bronkoskopi ile tümörün gösterilememesi
T0	Primer tümör bulgusu yok
Tis	Karsinoma in situ
T1	Akciğer veya visseral plevra ile çevrelenen, lobar bronştan daha proksimal invazyon bulgusu olmayan T1a: 2 cm’den küçük tümör T1b: 2 cm’den büyük 3 cm’den küçük tümör
T2	Ana bronşu tutan, karinaya uzaklığı ≥ 2 cm Visseral plevrayı invaze eden Tüm akciğeri tutmayan, hiler bölgeye uzanan atelektazi veya obstrüktif pnömoni oluşturan T2a: 3 cm’den büyük 5 cm’den küçük

	T2b: 5 cm'den büyük 7 cm'den küçük
T3	7cm'den büyük ya da göğüs duvarı, diyafram, frenik sinir, mediastinal plevra, perikarttan birini invaze etmiş tm Karinaya 2 cm'den daha yakın tm Tüm akciğeri kaplayan atelektazi veya obstrüktif pnömoni Tm ile aynı lobda bir veya daha fazla nodül
T4	Mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, rekürren laringeal sinir, özefagus, vertebra korpusu, karina, ipsilateral farklı lobta satellit nodül, nodüller
N Sınıflandırması	
Nx	Bölgesel lenf nodlarının değerlendirilememesi
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	Aynı taraf peribronşiyal ve/veya aynı taraf hiler lenf nodlarına metastaz ve primer tümörün direkt yayılması ile intrapulmoner lenf nodlarının tutulması
N2	Aynı taraf mediastinal ve/veya subkarinal lenf nodlarına metastaz
N3	Karşı taraf mediastinal, hiler, aynı veya karşı taraf supraklavikuler veya skalen lenf nodu metastazı
M Sınıflandırması	
Mx	Uzak metastaz varlığının değerlendirilememesi
M1a	Plevral, perikardiyal efüzyonlar ve nodüller, benzer histolojik yapıda ve Görünümde kontrlaterale akciğerde yerleşme
M1b	Uzak metastaz mevcut

Tablo 4. Akciğer Kanserinin Evrelendirme Yöntemleri

cTNM	Klinik evrelendirme: Hasta ilk görüldüğü zaman yapılan klinik değerlendirme sırasındaki evrelendirmedir. Bu evrelendirmeye göre hastaya tedavi planlaması yapılır.
sTNM	Cerrahi evrelendirme: Operasyon sırasında cerrah tarafından yapılan evrelendirmedir.
pTNM	Patolojik evrelendirme: Operasyon sırasında alınan dokuların histopatolojik değerlendirilmesi sonucunda yapılan evrelendirmedir.
rTNM	Tedavi sonrası yeniden evrelendirme: Primer tedavinin yetersiz kaldığı progresif hastalığı bulunan bir hastanın yeniden evrelendirmesidir.
aTNM	Otopsi evrelendirmesi: Akciğer kanserli bir hastaya yapılan postmortem evrelendirmedir.

Tablo 5. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Evre Gruplandırılması

Evre	TNM Alt Grubu
0	Karsinoma in situ
IA	T1a-bN0M0
IB	T2aN0M0
IIA	T2bN0M0 / T1N1M0 / T2aN1M0
IIB	T3N0M0 / T2bN1M0
IIIA	T4N0M0 / T3N1M0 / T4N1M0 / T1-2-3N2M0
IIIB	T4N2M0 / T1-2-3-4N3M0
IV	T1-2-3-4N1-2-3M0

Tablo 6. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Evre Gruplarında 5 Yıl Yaşam Oranları

EVRE 1A	%82
EVRE 1B	%68
EVRE 2A	%52
EVRE 2B	%40
EVRE 3A	%10-30
EVRE 3B	< %10
EVRE 4	<%5

2.6. Prognostik Faktörler

Akciğer kanseri mortalitesi yüksek bir hastalıktır. Tanı sonrası sadece %15 -16,6 hasta 5 yıl ve üzeri hayatta kalabilmektedir (9). Akciğer kanserinde sağkalımı etkileyen en önemli prognostik faktörler; hastanın performans durumu, tümörün evresi ve histopatolojik tipidir. Aşırı kilo kaybının bulunması, LDH yüksekliği, albumin düşüklüğü, kemik metastazlarının varlığı, iki veya daha fazla kemik dışı ekstratorasik metastazın saptanması ve hastanın erkek olması prognozu olumsuz etkileyen faktörlerdir (124). Hastalarda son altı aylık dönemde %10 ve üzerinde kilo kaybı bulunması da tanı anında değerlendirilebilecek kötü prognostik özelliklerdendir. Vigano ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada son 6 ayda 8,1 kg ve üzeri ağırlık kaybı ile kötü prognoz arası ilişki gösterilmiştir (125). Arrieta ve arkadaşlarının çalışmasında hastaların %44'ünde kilo kaybı izlenmiştir. Bu çalışmada kötü prognoz ile %10 ve üzeri kilo kaybı arasındaki ilişkiye dikkat çekilmiştir (126). Albumin sentezinin azalmasında inflamasyonda artan ve karaciğerde albumin sentezini düzenleyen IL-6 ve albuminin transkapiller geçirgenliğini arttıran TNF- α gibi sitokinlerin artışının sorumlu olabileceği öne sürülmektedir (127). Diğer prognostik faktörler; rezeksiyon şekli, damar invazyonu,

hastanın yaşı, anemi, karsinoembriyonik antijen seviyesi, p53 geni, DNA ploidi yapısı, kemoterapi ve radyoterapi etkinliği sayılabilir. Tedavinin şekline karar vermeden önce bu prognostik faktörlerin değerlendirilmesi gereklidir (128). Bunların dışında prognozu etkileyebileceği düşünülen birçok faktör üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Bu faktörlerden bazıları büyüme faktörleri ve onkogenlerdir. Bunlar araştırma aşamasındadır. Epidermal büyüme faktörü, vasküler endotelial büyüme faktörü ve transforme edici büyüme faktörü- α gibi büyüme faktörlerinin pozitif olmasının prognozu kötü etkilediği bilinmektedir. Yine *K-RAS* onkogeni, *erb-1* ve *erb-2* reseptörlerinin bulunması da küçük hücreli akciğer kanserinde kötü prognoz göstergeleridir (129). Bunların dışında Nakamura ve arkadaşlarının yaptığı bir meta-analizde KHDAK'de HER-2 aşırı ekspresyonunun anlamlı kötü prognostik etkisinin olduğu (130); C-I Huang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, p16'da meydana gelen mutasyonların akciğer SCC'de kötü prognoz için önemli bir faktör olduğu gösterilmiştir (131). Yine Woenckhaus ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada akciğer skuamöz hücreli ve adenokarsinomlu hastalarda FHIT ekspresyon kaybının daha kısa genel sağkalımla ilişkili olduğu (132), Anagnostou ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Bcl-2 ekspresyon kaybının daha agresif KHDAK ile korele olduğu tespit edilmiştir (133).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Materyallerin Toplanması

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'na 2013-2014 yılları arasında başvuran KHDAK tanılı 78 hastanın kanı 5 ml biyokimya sarı kapaklı tüplerde toplandı. Çalışma yapmak amacıyla 4000 xg de 7 dakika santrifüj edildikten sonra serum elde edildi. Elde edilen serumdan DNA taze olarak çalışma yapıldı.

3.2. DNA İzolasyon Protokolü

Süpernatant kısımdaki serumdan 1 mililitre (ml) alınarak üzerine 1 ml lizis tamponu ve 25 µl proteinaz K eklendi. Süspanse sıvı saydam olana kadar kibarca vorteks edildi. 56°C'de 10 dakika inkübe edildi. Ardından 1ml absolut alkol ilave edildi ve 10 saniye vorteksledi. Qiagen marka Qiam DNA kit yardımıyla DNA izolasyonu basamakları takip edildi. DNA izolasyon kartuşları (spin kolon) tüm karışım aktarılarak 6000 xg' de 2 dakika santrifüj edildi. Spin kolonun alt kısmı değiştirildi ve üzerine 500 µl AW1 yıkama solüsyonu eklendi 6000 xg'de 2 dakika santrifüj edildi. Spin kolonun alt kısmı tekrar değiştirildi ve 500 µl AW2 yıkama solüsyonu eklendi 20000xg 2 dakika santrifüj edildi. Spin kolonun alt kısmına steril 1,5 ml'lik plastik tüp konur ve ATE tamponu (eliminasyon solüsyonu) 30-50 µl konuldu 1 dakika oda ısısında beklendi ardından 20000 xg'de 2 dakika santrifüj edilerek DNA elde edildi.

3.3. BRAF, DDR-2 ve PI3KCA Mutasyon Analizi

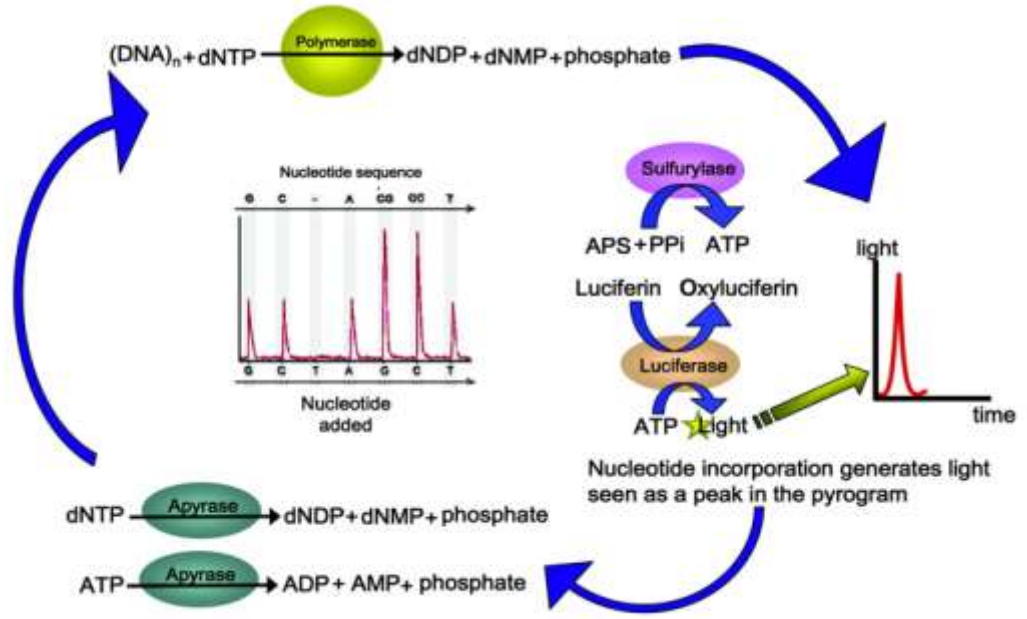
BRAF, DDR-2, PI3KCA mutasyon analizi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Moleküler Onkoloji rutin laboratuvarında gerçekleştirildi. BRAF mutasyon analizi BRAF geninin kodon 464, 466 ve 469 (lot:148047275 Hielderberg Germany), PI3KCA mutasyonları ise H1047R, E542K, E545D, E545K (lot:RP103-01 Hielderberg Germany) kodonlarında ve DDR-2 mutasyonu A2082C (lot:RP203-02

Hielderberg Germany) pyrosekans yöntemi ile gerçekleştirildi. DDR-2 mutasyonu sonucunda S539S olarak aminoasit değişimi olduğu görüldü.

Tablo 7. BRAF ekzonlarının wild tip ve mutant sekanslanan DNA dizileri

EKZON		DNA DİZİSİ (WT)	MUTANT
BRAF	kodon	CTGTTGCAAATGATTCAGATT	CTGTT/G/A/CAAATGAT/T/CCAG
464-469		CA	TATT/CCA
BRAF	kodon	CTCTGTAGC	C/T/C/ATGTAGC
600			

Pyrosequencing temel olarak DNA sentezi esnasında serbest kalan pirofosfat (PPi) tespit edilerek uygulanan sistemdir. 1977 yılında Sanger ve arkadaşlarının uyguladığı dideoksi tekniği elektroporetik bir sistem olarak güvenli olmasına rağmen yüksek maliyet ve iş gücü gerektirir. Ayrıca PCR reaksiyonu sonucu toplam ürün miktarı az olduğunda sistem çalışmamaktadır. Daha sonra 1992 yılında Smith ve arkadaşları floresan temelli sekans yöntemini geliştirdiler. Bu yöntem elektroporetik olmayan bir floresan sistemidir. Sistemin temel mantığı, kalıp DNA ipliği üzerine sekans primerinin sentez edilmesi sırasında serbest kalan inorganik pirofosfatların ATP sülfirilaz enzimi ile ADP'nin ATP'ye dönüşümü bu esnada lusiferinin oksiferine dönüşümü ile oluşan ışığın okunması sonucunda diagram üzerine piklerin çıkması temeline dayanır (Novais vd 2011). Burada ayırt edici kriter, her reaksiyon için ayrı ayrı zamanlarda adenin, guanin, timin ve sitozin nükleotitleri ortama verilmektedir. Q24 (Qiagen Heidelberg, Almanya) sekans cihazında hangi nükleotit reaksiyon verir ve ışımaya olursa sistem ilgili nükleotitin pikini vermektedir. Aynı zamanda sistemin daha hızlı çalışması için ortama substrat ilave edilmektedir. Sistemin kalibrasyon ayarı için enzim ve substrat bileşiği ölçümü başlangıçta vermektedir. Bu sonuç, sistemin çalışıp çalışmadığı hakkında bilgi vermektedir. Ayrıca ortamda reaksiyon sonrası yanlış pik vermemesi ve diğer reaksiyonu etkilememesi için apiraz enzimi ile nükleotit trifosfatları, mono ve di nükleotitfosfatlara (dNTP); ATP ise mono ve di fosfata parçalanmaktadır. Bu durumda yeni dNTP verildiğinde reaksiyon yeniden başlamaktadır (Şekil 3.1).



Şekil 0. Pyrosequencing çalışma prensibi (Novais and Thorstenson 2011)

Pyrosequencing sisteminde 15-30 ng DNA ile çalışmaktadır. Bu da çok düşük miktardaki DNA ile sonuç verebilmemizi sağlamaktadır. PCR reaksiyon şartları; pyromark PCR master mix 12,5 µl, PCR primer 1 µl (Tablo 3.1, Tablo3.2) steril distile su 6,5 µl ve kalıp DNA 30 ng olacak şekilde son hacim 25 µl geçmemek şartıyla termalcycler'a kondu.

PCR protokolü; Denatürasyon 15 dk 95°C'de 1 döngü, annealing 20 sn 95°C-30 sn 53°C-20 sn 72°C 42 döngü ve son uzama 72°C 5 dk olarak uygulandı. Kullanılan PCR primeri 5' ucunda biotin olduğu için post-PCR işleminde streptavidin ile bağlanmasını sağlamaktadır.

Tablo 8. BRAF PCR primerleri

EKZON	Forward primer	Reverse primer
BRAF kodon 464-469	5' GGCACTGCTTTCCAGCATGGT- 3'	5'-Biotin CCTGTGCCGGGAC CTTAC-3'
BRAF kodon 600	5'TGAAGACCTCACAGTAAAA	5'-Biotin-

ATAGG-3'	TCCAGACAACTGT
	TCAAACCTGAT-3'

3.4. Pürifikasyon ve Sekans İşlemi

Steril 2 ml'lik plastik tüplere, Streptavidin 2 µl, bağlanma tamponu 40 µl ve steril distile su 28 µl ve PCR ürünlerinden 10 µl eklenir. Orbital shaker ile 10 dk streptavidinin çökmesi engellenerek, kalıp DNA'ya bağlanması sağlanır. Ardından qiagen vakum sisteminde çektilerle alkol-denatürasyon-yıkama kuyucuklarından geçirilerek plate içindeki sekans primerlerine bırakılır. Sekans primerleri ise 24,2 µl annealing tampon ve sekans primeri 0,8 µl (Tablo 3.1, Tablo 3.2) olacak şekilde konur. Plate 80°C ısı bloğunda 3 dk bekletilir. Q24 cihazına enzim, substrat ve dNTP konur. Ardından Q24 cihaza yerleştirilir ve sekans işlemi gerçekleştirilir.

Tablo 9. BRAF sekans primerleri

EKZON	SEKANS PRİMERİ
BRAF kodon 464-469	5'- CAATGGCTCCGGTG-3'
BRAF kodon 600	5'-TGATTTTGGTCTAGCTACA-3'

3.5. İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel analiz için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versiyon 20 kullanıldı. Öncelikle veri temizliği yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler, ortalama, standart sapma ve yüzde olarak verildi. Çalışmanın güven aralığı %95 olarak tespit edildi. Sürekli değişkenlerin dağılımları kontrol edildi. İkili karşılaştırmalarda farklılıkların analizinde ki-kare testi kullanıldı. Sağkalım analizlerinde ikili

karşılaştırmalarda Kaplan Meier yöntemi kullanıldı ve istatistiksel farklar long rank testi ile değerlendirildi. Sağkalım analizlerinde cox regresyon yöntemi uygulandı. $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1.Hastaların özellikleri

Çalışmamıza 5 (%6,8)'i kadın 69 (%93,2)'u erkek olmak üzere toplam 74 yeni tanı küçük hücreli dışı akciğer kanserli hasta alındı. Hastaların medyan yaşı 65 olup, yaş aralığı 38-81 arasındaydı. Hastalar 5 Haziran 2013 ve 15 Haziran 2015 tarihleri arasında 2 yıl süre ile izlendi. Hastaların ortalama takip süresi 4,7 aydı. ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) performans skoru 14 (%18,9) hastada 0, 30 (%40,5) hastada 1, 18 (%24,3) 2, 11(%14,9) hastada 3, 1 (%1,4) hastada 4 idi.

Hastaların 69 (%93,2)'unda sigara öyküsü mevcutken 5 (%6,8) tanesinde sigara öyküsü yoktu. Ortalama sigara tüketimi 44,5 paket/yıl olarak belirlendi.

Tanı 54 (%73) hastada bronkoskopiyle, 6 (%8,1)'sında lobektomiyle, 7 (%9,5)'sinde wedge rezeksiyonla, 4 (%5,4)'ünde transtorasik biyopsiyle, 3 (%4,1)'ünde mediastinoskopiyle konmuştu.

Özgeçmişlerine göre değerlendirildiğinde hastaların 20 (%27)'sinde HT (hipertansiyon), 12 (%16,2)'sinde KOAH (kronik obstruktif akciğer hastalığı), 5 (%6,8)'inde DM (diyabetis mellitus), 2 (%2,7)'sinde DM ve HT, 2 (%2,7)sinde DM ve KOAH, 2 (%2,7) sinde HT ve KOAH varken, 31 (%41,9) hastada ek hastalık bulunmamaktaydı.

Aile öyküsüne göre, 9 (%12,2) hastada akciğer kanseri, 3 (%4,1) hastada larinks kanseri, 1 (%1,4) hastada beyin tümörü ve 1 (%1,4) hastada mide kanseri mevcut iken, 60 (%81,1) hastada ailede malignite öyküsü yoktu.

Otuzsekiz hasta (%51,4)'i skuamöz hücreli, 26 (35,1) hasta adenokarsinom, 7 (%9,5) hasta NOS (Başka türlü sınıflandırılmayan akciğer kanseri) ve 3 (%4,1) hasta büyük hücreli akciğer kanseri olarak raporlanmıştı.

Evrelere göre ise hastaların 2 (%2,7)'si evre 1A, 1 (%1,4)'i evre 2A, 1 (%1,4)'i evre 2B, 13 (%17,6)'ü evre 3A, 13 (%17,6)'ü evre 3B, 44 (%59,5)'ü evre 4 olarak değerlendirildi.

Hastaların takibinde 5 (%6,8) parsiyel yanıt, 38 (%51,4) progresyon, 5 (%6,8) regresyon, 25 (%35,1) stabil hastalık olarak değerlendirildi. Ortalama progresyonsuz sağkalımları 4,5 ay, genel sağkalımları 4,8 ay idi.

Elli sekiz (%78,4) hasta kemoterapi almış, 16 (%21,6) hastaya ise kemoterapi verilmemişti. Yirmialtı (%35,1) hasta radyoterapi almışken, 48 (%64,9) hasta radyoterapi almamıştı.

Kilo kaybı açısından değerlendirildiğinde hastaların 24 (%32,4)'ünde kilo kaybı görülürken, 50 (%67,6)'sinde kilo kaybı görülmemişti.

Tablo 10. Çalışma hastalarının sosyodemografik özellikleri

		n	%
Cinsiyet	Kadın	5	6,8
	Erkek	69	93,2
Yaş	≤60	21	28,4
	>60	53	71,6
Meslek	Ev hanımı	5	6,8
	Memur	9	12,2
	İşçi	21	28,4
	Çiftçi	39	52,7
Yaşadığı yer	Şehir merkezi	24	32,4
	Perifer (ilçe, köy vs.)	50	50

Operasyon tipi	Mediastinoskopi	3	4,1
	Transtorasik bx.	4	5,4
	Lobektomi	6	8,1
	Wedge rezeksiyon	7	9,5
	Bronkoskopik bx.	54	73
Histopatolojik tipi	Skumöz	38	51,4
	Adenokarsinom	26	35,1
	NOS	7	9,5
	Büyük hücreli	3	4,1
Ailede malignite	Beyin tm	1	1,4
	Mide tm	1	1,4
	Larenks tm	3	4,1
	Akciğer tm	9	12,2
	Yok	60	81,1
Sigara öyküsü (paket/yıl)	Kullanmayan	5	6,8
	0-20	5	6,8
	20-50	44	59,5
	>50	20	27
Ek hastalık	Var	43	58,1
	Yok	31	41,9
Kilo kaybı	Var	24	32,4

	Yok	50	67,6
Evre	Evre 1A	2	2,7
	Evre 2A	1	1,4
	Evre 2B	1	1,4
	Evre 3A	13	17,6
	Evre 3B	13	17,6
	Evre 4	44	59,5

4.2. Mutasyon sıklıkları

4.2.1. BRAF Mutasyonu

Çalışmamızdaki 74 hastanın 13 (%17,6)'ünde BRAF mutasyonu mevcutken 61 (%82,4)'inde BRAF mutasyonu tesbit edilemedi.

Mevcut BRAF mutasyonlarının 4 (%5,4)'ü G464E, 4 (%5,4)'ü G466E, 2 (%2,7)'si G469A, 1 (%1,4)'i G469S, 1 (%1,4)'i V600G, 1 (%1,4)'i de V600M idi.

Tablo 11. Hastaların BRAF mutasyon sıklıkları

Mutasyonlar	Sayı (n)	Yüzde (%)
G464E	4	5,4
G466E	4	5,4
G469A	2	2,7
G469S	1	1,4
V600G	1	1,4
V600M	1	1,4

Yok	61	82,4
-----	----	------

BRAF mutasyonu varlığı ile hastalardaki kilo kaybı, lenf nodu tutulumu, metastaz, evreleri ve sigara kullanımı arasında yapılan istatistiksel analizde anlamlı fark görülmemiştir ($p<0,005$).

Tablo 12. Hastaların BRAF mutasyonu ile kilo kaybı, LN durumu, metastaz, evre ve sigara kullanımı arasındaki istatistiki analiz sonuçları

		TOPLAM (n=74) N(%)	BRAF mutasyon durumu		P değeri
			Wild tip	Mutant	
KİLO KAYBI	VAR	24(%32,4)	18(%29,5)	6(%46,2)	P>0,05
	YOK	50(%67,5)	43(%70,5)	7(%53,8)	
LENF NODU	LN(-)	12(%16,2)	9(%14,8)	3 (%23,1)	P>0,05
	LN(+)	62(%83,7)	52(%85,2)	10(%76,9)	
EVRE (TNM)	1-2	4(%5,4)	2(%3,3)	2(%15,4)	P>0,05
	3	26(%35,1)	24(%39,3)	2(%15,4)	
	4	44(%59,4)	35(%57,4)	9(%69,2)	
SİĞARA (PAKET/YIL)	YOK	5(%6,7)	3(%4,9)	2(%15,4)	P>0,05
	0-20	5(%6,7)	5(%8,2)	0	
	20-50	44(%59,4)	36(%59)	8(%61,5)	
	>50	20(%27)	17(%27,9)	3(%23,1)	
METASTAZ	VAR	34(%45,9)	27(%44,3)	7(%53,8)	P>0,05

DURUMU	YOK	40(%54,1)	34(%55,7)	6(%46,2)	
--------	-----	-----------	-----------	----------	--

4.2.2. PIK3CA mutasyonu:

Çalışmamızdaki 74 hastanın, 3 (%4,1)'ünde PIK3CA mutasyonu mevcut iken 71 (%95,9)'inde mutasyon tesbit edilememiştir.

Mevcut 3 mutasyonun 1 (%1,4)'i E542K, 1 (%1,4)'i E545K, 1 (%1,4)'i de H1047R mutasyonuydu.

Tablo 13. Hastaların PIK3CA mutasyon sıklıkları

Mutasyonlar	Sayı (n)	Yüzde (%)
E542K,	1	1,4
E545K	1	1,4
H1047R	1	1,4
Yok	71	95,9

Hastalarda PIK3CA mutasyon varlığı ile hastalardaki kilo kaybı, lenf nodu tutulumu, metastaz, evre ve sigara kullanımı arasında yapılan istatistiksel analizde anlamlı fark görülmemiştir ($p>0,005$).

Tablo 14. PIK3CA mutasyonu ile kilo kaybı, LN durumu, metastaz, evre ve sigara kullanımı arasındaki istatistiksel analiz sonuçları

	TOPLAM (n=74) N(%)	PIK3CA mutasyon durumu		P değeri
		Wild tip	Mutant	

KİLO KAYBI	VAR	24(%32,4)	22(%31)	2 (%66,7)	P>0,05
	YOK	50(%67,5)	49(%69)	1 (%33,3)	
LENF NODU	LN(-)	12(%16,2)	11(%15,5)	1 (%33,3)	P>0,05
	LN(+)	62(%83,7)	60(%84,5)	2 (%66,7)	
EVRE (TNM)	1-2	4(%5,4)	4(%5,6)	0	P>0,05
	3	26(%35,1)	24(%33,8)	2 (%66,7)	
	4	44(%59,4)	43(%60,6)	1 (%33,3)	
SİĞARA (PAKET/YIL)	YOK	5(%6,7)	5(%7)	0	P>0,05
	0-20	5(%6,7)	5(%7)	0	
	20-50	44(%59,4)	41(%57,7)	3 (%100)	
	>50	20(%27)	20(%28,2)	0	
METASTAZ	VAR	34(%45,9)	33(%46,5)	1 (%33,3)	P>0,05
DURUMU	YOK	40(%54,1)	38(%53,5)	2 (%66,7)	

*p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.2.3. DDR 2 mutasyonu:

Çalışmamızdaki 74 hastanın, 1 (%1,4)'inde DDR 2 mutasyonu mevcut iken 73 (%98,6)'ünde mutasyon tesbit edilememiştir. Mutasyon tesbit edilen hastanın patolojik tipi skuamöz hücreli akciğer karsinomu idi. Hastada A2082C mutasyonu mevcuttu.

Tablo 15. Hastaların DDR-2 mutasyon sıklıkları

Mutasyonlar	Sayı (n)	Yüzde (%)
-------------	----------	-----------

A2082C	1	1,4
Yok	73	98,6

Hastalarda DDR 2 mutasyon varlığı ile hastalardaki kilo kaybı, lenf nodu tutulumu, metastaz, evre ve sigara kullanımı arasında yapılan istatistiksel analizde anlamlı fark görülmemiştir ($p>0,005$).

Tablo 16. DDR 2 mutasyonu ile kilo kaybı, LN durumu, metastaz, evre ve sigara kullanımı arasındaki istatistiksel analiz sonuçları

		TOPLAM (n=74) N(%)	DDR 2 mutasyon durumu		P değeri
			Wild tip	Mutant	
KİLO KAYBI	VAR	24(%32,4)	23(%)	1 (%)	P>0,05
	YOK	50(%67,5)	50(%)	0 (%)	
LENF NODU	LN(-)	12(%16,2)	11(%)	1 (%)	P>0,05
	LN(+)	62(%83,7)	62(%)	0 (%)	
EVRE (TNM)	1-2	4(%5,4)	4(%5,4)	0	P>0,05
	3	26(%35,1)	25(%)	1 (%)	
	4	44(%59,4)	44(%)	0 (%)	
SİĞARA (PAKET/YIL)	YOK	5(%6,7)	5(%7)	0	P>0,05
	0-20	5(%6,7)	5(%7)	0	
	20-50	44(%59,4)	44	0	

	>50	20(%27)	19(%)	1	
METASTAZ	VAR	34(%45,9)	34(%)	0 (%)	P>0,05
DURUMU	YOK	40(%54,1)	39(%)	1 (%)	

*p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi

4.3. Sağkalım analizleri:

Çalışmamızdaki 74 hastanın cinsiyetine göre progresyonsuz ve genel sağkalım oranları değerlendirildi. Kadın ve erkek hastaların progresyonsuz ve genel sağkalım oranlarında istitisksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05).

Altmış yaş altı ve 60 yaş üzeri olarak gruplandırılan hastaların progresyonsuz ve genel sağkalım analizleri yapıldı. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

Hastaların bronkoskopi, transtorasik biyopsi, lobektomi, mediastinoskopi veya wedge biyopsiyle tanı almasının progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine anlamlı bir fark oluşturmadığı görüldü (p>0,05).

Hastaların nötrofil - lenfosit oranı ve platelet - lenfosit oranı hesaplandı ve bu iki oranın progresyonsuz ve genel sağkalım analizlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edilmedi (p>0,05).

Hastaların patolojik tipleri, sigara kullanımı, evreleri arasında progresyonsuz ve genel sağkalım analizlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (p>0,05).

Tablo 17. Progresyonsuz sağkalımı etkileyen faktörler

		Ortalama ±SD	p
Cinsiyet	Erkek	14,25±2,10	0,98
	Kadın	21,8±7,23	

Yaş	0-60 yaş	5,70±0,42	0,90
	>60 yaş	2,91±2,66	
Meslek	Ev hanımı	21,8±7,23	0,09
	Çiftçi	5,24±0,53	
	İşçi	2,90±3,37	
	Memur	6,44±0,74	
Sigara kullanımı	Yok	16,8±8,8	0,098
	0-20 paket/yıl	17,01±3,4	
	20-50 paket/yıl	7,73±0,86	
	>50 paket/yıl	5,76±0,66	
Histopatolojik tipi	Büyük hücreli	6,33±2,17	0,11
	NOS	3,57±0,78	
	Adenokarsinom	21,18±5,58	
	Skuamöz	12,79±2,41	
Evre	1-2	26,75±7,14	0,20
	3	5,85±0,39	
	4	6,34±,68	
Tanısal girişim	Mediastinoskopik bx	3,61±2,9	0,104
	Transtrorasik bx.	5,31±2,4	

	Lobektomi	18,3±4,2	
	Wedge rezeksiyon	6,1±1,4	
	Bronkoskopik bx.	7,72±0,85	
Nötrofil-lenfosit oranı	<4,9	7,4±0,71	0,152
	>4,9	16,2±3,45	
Platelet-lenfosit oranı	<219	18,2±3,78	0,210
	>219	13,03±2,87	

*p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo 18. Genel sağkalımı etkileyen faktörler

		Ortalama ±SD	p
Cinsiyet	Erkek	15,37 ± 1,96	0,77
	Kadın	21,80 ± 7,23	
Meslek	İşçi	22,22 ± 2,6	0,04
	Memur	6,44 ± 0,74	
	Çiftçi	5,24 ± 0,53	
	Ev Hanımı	21,8±7,23	
Yaş	0-60 yaş	6,67 ±0,57	0,81
	>60 yaş	21,55 ± 2,49	

Sigara kullanımı	Yok	16,80±8,8	0,098
	0-20 paket/yıl	18,45±3,21	
	20-50 paket/yıl	7,88±0,83	
	>50 paket/yıl	5,97±0,61	
Histopatolojik tipi	Büyük hücreli	6,33 ± 2,17	0,064
	NOS	3,57 ± 0,78	
	Adenokarsinom	24,88 ± 4,13	
	Skuamöz	13,68±2,31	
Evre	1-2	26,75 ± 7,14	0,24
	3	5,93± 0,38	
	4	6,71 ± 0,65	
Tanısal Girişim	Mediastinoskopik bx	4,51±2,7	0,073
	Transtoraksik bx.	6,37±2,1	
	Lobektomi	16,3±4,5	
	Wedge rezeksiyon	5,1±1,9	
	Bronkoskopik bx.	6,72±0,81	
Nötrofil-lenfosit oranı	<4,9	8,02±0,63	0,081
	>4,9	16,45±3,43	
Platelet-	<219	21,5±2,95	

lenfosit oranı	>219	13,15±2,86	0,114
----------------	------	------------	-------

*p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Hastaların meslek gruplarına göre yapılan sağkalım analizlerinde progresyonsuz sağkalım oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken, genel sağkalım oranında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (p>0,05, p=0,04).

Hastaların kaplan meier yöntemiyle yapılan sağkalım analizi sonucunda yaşadığı yer (PFSp=0,006) (GSp=0,002), kilo kaybı (PFSp=0,016) (GSp=0,012), metastatik olması (PFSp=0,006) (GSp=0,01), kemoterapi verilmiş olması (PFSp=0,001) (GSp=0,001) ve tedavi sırasında toksisite gelişmesinin (PFSp=0,039) (GSp=0,04) progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturduğu görüldü.

Tablo 19. PFS'yi etkileyen istatistiksel olarak anlamlı faktörler

		Ortalama ±SD	p değeri
Yaşadığı yer	Kent	30,52 ± 2,41	0,006
	Taşra	5,26 ± 0,52	
Kilo kaybı	Var	5,46 ± 0,78	0,016
	Yok	23,62 ± 2,85	
Metastaz durumu	Var	5,62±0,76	0,004
	Yok	22,0±3,94	

*p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo 20. GS'yi etkileyen istatistiksel olarak anlamlı faktörler

		Ortalama ±SD	p
Meslek	Ev hanımı	21,8±7,23	0,04
	Çiftçi	5,24±0,53	
	İşçi	22,22±2,6	
	Memur	6,44±0,74	
Yaşadığı yer	Kent	30,68±2,32	0,002
	Taşra	5,30±0,52	
Kilo kaybı	Var	5,72±0,8	0,012
	Yok	24,80±2,45	
Metastaz durumu	Var	6,18±1,24	0,01
	Yok	19,76±3,54	
*p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.			

Hastaların BRAF, PIK3CA, DDR 2 mutasyonu varlığı ile kilo kaybı, yaşadığı yer, yaş ve evreleri arasında çoklu regresyon analizi yapıldı.

Tablo 21. Progresyonsuz sağkalımda çoklu analiz sonuçları

Progresyonsuz sağkalımda çoklu değişkenli analiz sonuçları*/**				
Değişkenler		OR	%95 GA min - max	P değeri
PIK3CA		1,861	0,408-8,482	0,422
BRAF		0,994	0,124-7,958	0,607
DDR 2		0,545	0,250-1,188	0,982
KİLO KAYBI		0,279	0,076-1,023	0,054
CİNSİYET		1,641	0,364 – 7,391	0,519
YAŞ		1,007	0,390-2,601	0,988
EVRE	EVRE 1 - 2	0,595	0,063-5,616	0,651
	EVRE 3 - 4	1,365	0,158-11,829	0,777

*Cox regresyon analizi yapılmış olup modelle 5 parametre değerlendirilmiş, anlamlı parametre bulunmamıştır. **p < 0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir. GA: Güven aralığı

Tablo 22. Genel sağkalımda çoklu değişkenli analiz sonuçları

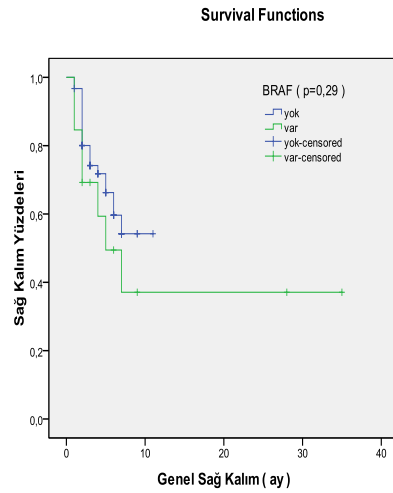
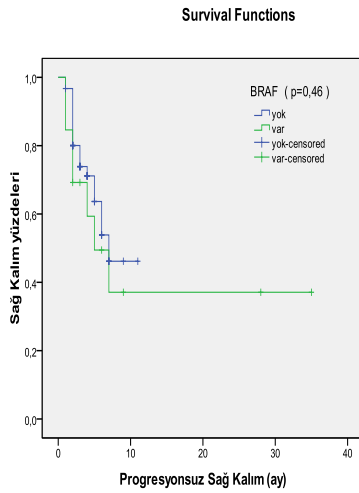
Genel sağkalımda çoklu değişkenli analiz sonuçları*/**			
Değişkenler	OR	%95 GA min - max	P değeri
PIK3CA	1,843	0,405-8,382	0,429
BRAF	0,538	0,247-1,172	0,598

DDR 2		0,622	0,909-7,313	0,311
KİLO KAYBI		1,93	0,818-4,381	0,136
CİNSİYET		1,453	0,326-6,470	0,624
YAŞ		0,988	0,384-2,540	0,980
EVRE	EVRE 1 - 2	0,516	0,056-4,729	0,559
	EVRE 3 - 4	1,174	0,141-9,783	0,882

*Cox regresyon analizi yapılmış olup modele 5 parametre değerlendirilmiş, anlamlı parametre bulunmamıştır. ** $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir. GA: Güven aralığı

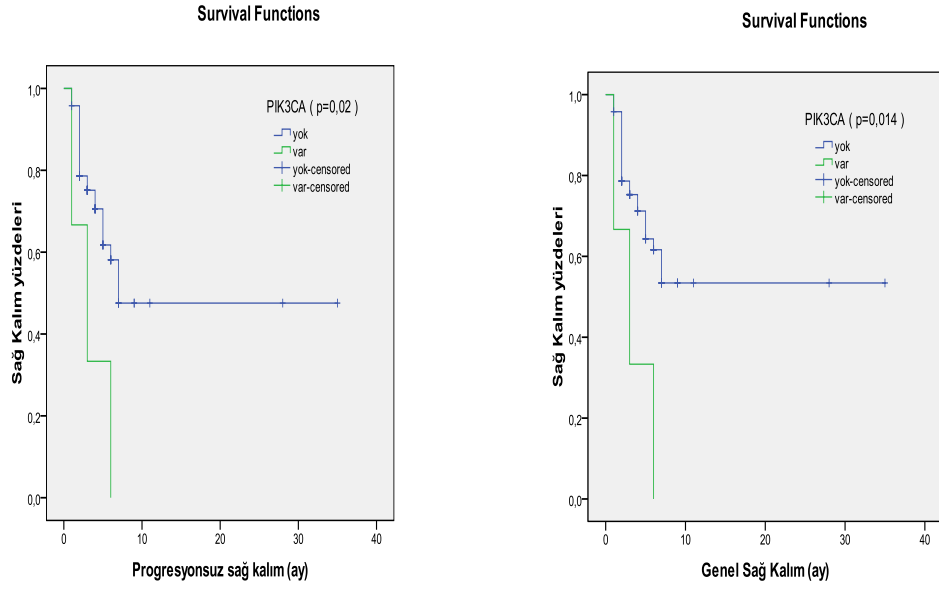
Hastaların progresyonsuz sağkalımının medyan değeri $17,6 \pm 2,62$ (%95 GA:12,49-22,76), genel sağkalımın medyan değeri $19,42 \pm 2,33$ (%95 GA:14,84-24,008) olarak hesaplanmıştır.

Hastalarda BRAF mutasyonu bulunmasının progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine etkisi olup olmadığı araştırıldı, istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (PFS $p=0,46$)(GSp $=0,29$).



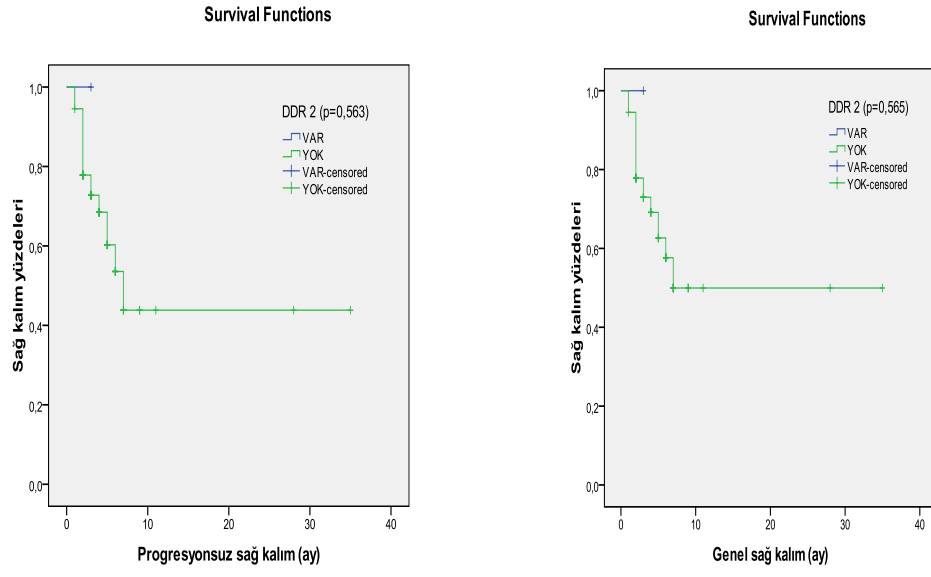
Şekil 2. BRAF mutasyonunun progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine etkisi (PFSp=0,46) (GSp=0,29).

Hastalarda PIK3CA mutasyonu bulunmasının progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine etkisi olup olmadığı araştırıldı, istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü (PFSp=0,02) (GSp=0,014).



Şekil 3. PIK3CA mutasyonunun progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine etkisi (PFSp=0,02) (GSp=0,014).

Hastalarda DDR 2 mutasyonu bulunmasının progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine etkisi olup olmadığı araştırıldı, istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü (PFSp=0,563) (GSp=0,565).



Şekil 3. DDR 2 mutasyonunun progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine etkisi
(PFS_p= 0,563) (GSp= 0,565).

Tablo 23. BRAF, PIK3CA, DDR 2 mutasyonunun progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine etkisi

		PFS		GS	
		Ortalama	p	Ortalama	p
BRAF	Var	15,19±4,80	0,46	15,19±4,80	0,29
	Yok	7,24±0,63		7,65±0,57	
PIK3CA	Var	3,33±1,45	0,02	3,33±1,45	0,014
	Yok	18,71±2,71		20,42±2,39	
DDR 2	Var	10,72±1,52	0,563	10,72±1,52	0,565
	Yok	13,71±1,81		16,84±2,65	

5.TARTIŞMA

Akciğer kanseri gelişmiş ülkelerde kansere bağlı ölümlerde her iki cinsiyette de birinci sıradadır (1). Ülkemizde Sağlık Bakanlığı'nın tüm sağlık kuruluşlarında tanı alan kanser olgularının kaydedildiği pasif kanser kayıt sistemi verilerine göre (1997) akciğer kanseri insidansı 11,5/100.000'dir. Sağlık Bakanlığı verilerine göre akciğer kanseri sıklığı batı bölgelerimizde en yüksek (Akdeniz 41,0/100.000, Ege ve İç Anadolu 39,5/100.000) Güneydoğu ve Doğu Anadolu bölgelerimizde en düşük (sırayla 17,7/100.000, 11,7/100.000) değerlerdedir (3). 1996 yılında Travis WD ve arkadaşlarının ABD'nde yaptığı bir çalışmada erkek ve kadınlarda akciğer kanseri görülme sıklığı 1,5:1 olarak tespit edilmiştir (5). Bizim çalışmamıza alınan 74 akciğer kanserli hastanın 5 (%6,8)'i kadın 69 (%93,2)'u erkek olarak belirlendi. Sigara içiciliğinin toplumumuzda erkek bireylerde daha fazla olması sebebiyle akciğer kanseri erkek hastalarda daha sık görülmektedir.

Akciğer kanseri tüm yaş gruplarında izlenmesine rağmen en sık olarak 50-70 yaş arasında görülmektedir. Hastalığın başlama yaşının aşağı inmesinde temel faktör sigaradır. Sigaraya başlama yaşı düştükçe ve içilen sigara miktarı arttıkça, görülme yaşı daha da aşağılara inmektedir. Bizim çalışmamızda hastaların ortalama yaşı 65,3 olup, yaş aralığı 38 - 81 arasındaydı.

Dünya Sağlık Örgütü Sınıflamasına göre primer akciğer kanseri 4 ana histolojik alt tipe ayrılmaktadır (82). Bu alt tiplerin görülme sıklıkları; Adenokarsinom %38, Skuamöz hücreli karsinom %20, Büyük hücreli karsinom %5, Küçük hücreli karsinom %13, Sınıflandırılmayan diğer küçük hücreli dışı karsinomlar %18, Diğerleri %6 şeklindedir (82). Çalışmamızda ise Hastaların 38 (%51,4)'i skuamöz hücreli, 26 (%35,1)'si adenokarsinom, 7 (%9,5)'si NOS (Başka türlü sınıflandırılmayan akciğer kanseri), 3 (%4,1)'i büyük hücreli akciğer kanseriydi. Literatür verileri ile farklı olmasının sebebi; görece olarak hasta sayısının az olması ve coğrafi faktörlerin olabileceği düşünüldü.

Sigara içimi akciğer kanseri olgularının % 85'inden sorumludur. Polisiklik hidrokarbonlar, vinil klorid, nikel, aldehidler, peroksitler, nitrozaminler ve benzopiren sigara dumanında tanımlanmış olan 40 kadar karsinojenden birkaçıdır

(4). Sigara içicileri arasında akciğer kanseri gelişimi içmeyenlere oranla 10 - 25 kat artış gösterirken sigara kullanımı, akciğer kanserinin tüm histopatolojik tiplerinin gelişme riskini arttırır. Akciğer kanseri gelişme riski, sigaranın bırakılması ile birlikte progresif olarak azalır ve 15-30 yıllık sigarasız bir dönemden sonra hiç sigara içmemiş popülasyonla yaklaşık eşit düzeye gelir (16). Çalışmamıza alınan hastaların 69 (%93,2)'unda sigara öyküsü mevcutken 5 (%6,8)'inde sigara öyküsü yoktu. Ortalama sigara tüketimi 44,5 paket/yıl olarak belirlendi. Bu veriler sigara içiminin akciğer kanseri ile yakın ilişkide olduğunu gösteren literatür bilgileri ile uyumlu olarak değerlendirildi.

Akciğer kanseri gelişimine neden olan genetik faktörlerin rolü net olarak anlaşılamamıştır, ancak elde edilen kanıtlara göre genetik faktörler akciğer kanseri gelişiminde rol oynamaktadır. Akciğer kanserli hastaların birinci derece akrabalarında akciğer kanseri gelişme riski artmıştır (24). Çalışmamızda ise hastaların 1. derece akrabalarında kanser öyküsü olanlardan; 9 (%12,2) hastada akciğer kanseri, 3 (%4,1) hastada larinks kanseri, 1 (%1,4) hastada beyin tümörü ve 1 (%1,4) hastada mide kanseri mevcuttu. 60 (%81,1) hastada ailede malignite öyküsü yoktu. Literatür verileri ile uyumlu olarak 1. derecede aile bireylerinde akciğer kanseri olması malignite riskinin arttığını destekleyen bir bulgu olarak karşımıza çıkmıştır.

Akciğer kanseri mortalitesi yüksek bir hastalıktır. Tanı sonrası sadece %15 - 16,6 hasta 5 yıl ve üzeri hayatta kalabilmektedir (9). Bizim çalışmamızda hastaların 2 yıl gözlenmesi nedeniyle 5 yıllık sağkalım çalışması yapılamamıştır. Takip edilen 2 yıllık süre içinde genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım analizleri yapılmıştır. Hastaların ortalama progresyonsuz sağkalımları 4,53 ay, genel sağkalımları 4,8 ay olarak saptandı. Hastaların takibinde 5 (%6,8) parsiyel yanıt, 38 (%51,4) progresyon, 5 (%6,8) regresyon, 25 (%35,1) stabil hastalık olarak değerlendirildi. Progresyon oranlarının yüksek olması mortalite oranlarının da yükselme ihtimalini göstermektedir.

Mortalite ve morbidite oranları bu denli yüksek olması nedeniyle akciğer kanserinin önlenmesine ve tedavisine yönelik çalışmalar önem kazanmaktadır.

Hastanede yatış oranları, iş gücü kayıplarının yüksek olması da akciğer kanseri tedavilerinin maliyetlerini de artırmaktadır. Tedavi maliyetlerindeki artışla akciğer kanserinin toplumda etkilediği kişi sayısı artmakta ve önemli bir halk sağlığı problemi haline gelmektedir. Sigara kullanımı ile yüksek oranda ilişkili olması; akciğer kanserinin önlenmesinde en önemli adımın sigara içilmemesi veya bırakılması olduğunu göstermektedir. Akciğer kanserine bağlı ölümlerin azaltılmasında diğer önemli faktör erken tanıdır. Türk Toraks Derneği-Akciğer ve Plevra Maligniteleri Çalışma Grubu'nun çalışmasında olguların %86,7'si ileri evrede yer almaktadır (1). Her hastalıkta oldu gibi akciğer kanserinde erken tanı önemlidir, bu sebeple son kılavuzlarda akciğer kanseri taraması için toraks tomografisi önerilmektedir (9).

KHDAK için temel tedavi cerrahi rezeksiyondur ancak erken dönem KHDAK olsa bile hastaların %50'sinden az bir kısmında küratif rezeksiyon sağlanmaktadır. Küratif rezeksiyon sonrası 5 yıllık sağkalım oranı %30-60 arasındadır (135).

Başvuru sırasında tüm akciğer kanserli olguların %80'i inoperabl olup, sadece %20 olgu cerrahi tedaviye adaydır (11). Cerrahi tedavi şansı düşük bu hastalık grubunda kemoterapi ön plana çıkmaktadır. Kemoterapi ilaçlarının çeşitliliği ve yan etki profilinin de geniş olması sebebiyle son dönemlerde hedefe yönelik tedaviler önem kazanmıştır. Hedefe yönelik tedavi ihtiyacının artması nedeniyle akciğer kanserinin patofizyolojisinin aydınlatılması da önem kazanmaktadır. Tümör süpresör genler, protoonkogenler ve bu genlerde meydana gelen mutasyonların araştırılması bu bağlamda önem kazanmaktadır.

Son yıllarda tümör biyolojisi üzerinde yapılan çalışmalarda bir protoonkogen olan BRAF (v-RAF murin sarkom viral onkogen homolog B) geninde meydana gelen mutasyonun çeşitli kanser türlerinde var olduğu tespit edilmiştir (36). BRAF geni, 7. kromozomun uzun kolu (7q34) üzerinde yer alır ve 18 ekzondan oluşur. Mutasyonlar, sıklıkla ekzon 15 içerisinde yer alan kodon 600 bölgesinde (V600A, V600D, V600E ve V600KRM) ve 11. ekzonda gözlenir. Hastalarda en sık V600E mutasyonu gözlenir (39,41). Çalışmamızdaki 74 hastanın 13 (%17,6)'ünde BRAF mutasyonu mevcutken 61 (%82,4) hastada BRAF mutasyonu tespit edilmedi. Mevcut

BRAF mutasyonlarının 4 (%5,4)'ü G464E, 4 (%5,4)'ü G466E, 2 (%2,7)'si G469A, 1 (%1,4)'i G469S, 1 (%1,4)'i V600G, 1 (%1,4)'i de V600M idi.

Kris MG ve arkadaşları tarafından 2014 yılında yayınlanan bir derlemede KHDAK olan hastalarda BRAF mutasyon oranı %2 bulunmuştur. Mutasyon saptanan hastaların %50'sinde tipik V600E mutasyonu saptanmıştır (136). Bir başka çalışmada ise Paik PK ve arkadaşları 2011 yılında KHDAK tanısı olan hastalarda BRAF, EGFR ve KRAS mutasyonları araştırılmıştır. Çalışmaya akciğer kanseri olan 697 hasta dahil edilmiş olup 18 (%3) hastada BRAF mutasyonu tespit edilmiştir. Adenokarsinom alt tipinde de BRAF mutasyon oranı %3 olarak tespit edilmiştir. Mutasyonlu hastaların tamamı sigara içicisi olarak tespit edilmiş. Çalışmaya alınan hastalardan EGFR mutasyonlu hastalarda ortalama sağkalım 37 ay iken K-RAS mutasyonlu hastalarda ortalama sağkalım 18 ay olarak tespit edilmiştir. BRAF mutasyonlu hastalarda ortalama sağkalım hesaplanmamıştır. Çalışma sonucunda BRAF mutasyonları ayrıca EGFR, K-RAS ve EML4-ALK mutasyonlarından bağımsızdır ve rölatif olarak sigara içenlerin büyük bir kısmında görülmektedir (137). Bizim çalışmamızda BRAF mutasyon oranı daha yüksek bulundu. Çalışmamızda BRAF mutasyonunun genel sağkalıma ve progresyonsuz sağkalıma etkisi olmadığı tespit edildi.

Litvak A. ve arkadaşları tarafından 2011 yılında yapılan bir başka çalışmada BRAF mutasyonu olan 63 hasta incelenmiştir. Bu hastaların medyan yaşı 65 bulunurken bu hastalardan %71'inin sigara içicisi olduğu gözlenmiştir. Erkek kadın oranı birbirine yakinken hastaların tamamında adenokarsinom histolojisi izlenmiştir (138). Bizim çalışmamızda erkek hasta grubu daha baskınken, hastaların histopatolojik alt tipleri homojen olarak dağılmıştı. Çalışmamızdaki mutasyon saptanan 13 hastanın 5 (%38,4)'i adenokarsinom, 5 (%38,4)'i skuamöz hücreli karsinom, 2 (%15,3)'si NOS ve 1 (%7,6)'i büyük hücreli karsinom olarak bulunmuştu ve sadece hastaların 2 (%15,1)'si sigara içicisi değildi.

Yapılan çalışmalarda özellikle BRAF geninin V600E mutant tipine yönelik tedaviler geliştirilmesi amaçlanmıştır. Gautschi O ve arkadaşları tarafından 2012 yılında yayınlanan bir çalışmada BRAF V600E mutasyonu içeren KHDAK olan hastalarda vemurafenib cevabı araştırılmıştır. Klinik aktivitesi olduğu kanıtlanmıştır

(139). Çalışmamızda değerlendirilen hastalarda V600E mutasyonu tespit edilmemiştir. Bu farklılığın sebebi çalışmaya alınan hasta sayısının kısıtlılığı veya ırksal farklılıklar olabilir.

Odd Terje Brustugun ve arkadaşları tarafından 2014 yılında yayınlanan bir çalışmada hedefe yönelik tedavilerde hedeflenebilecek V600E / BRAF mutasyonları araştırılmıştır (51). Çalışma kapsamında 2011 ve 2013 yılları arasında Oslo Üniversitesi Hastanesine başvuran 979 KHDAK'lı hasta tetkik edilmiştir. Bu hastaların 646 (%66)'sı adenokarsinom, 231 (%23,6)'i skuamöz hücreli karsinom, 89 (%9,1)'i büyük hücreli karsinom, 13 (%1,3)'ü adenoskuamöz karsinom olarak tespit edilmiştir. 979 hastadan 17 (%1,7)'sinde BRAF mutasyonu edilmiştir. BRAF mutasyonu pozitif hastalardan 15'i adenokarsinom histolojik tipi olarak belirlenmiştir. Bu verilerin literatür verileri ile uyumlu olduğu gösterilmiştir. BRAF mutasyonu pozitif hastalarda ortalama sağkalım 34,3 ay olarak tespit edilmiştir. BRAF mutasyonu olan 17 hastadan 5 hasta hiç sigara içmemiş olarak kaydedilmiştir. Görece olarak sigara içmeyen oranı yüksek bulunmuştur (51). Bu çalışmada da önceki literatür verilerinde olduğu gibi BRAF mutasyonları ağırlıklı olarak adenokarsinom olan hastalarda görülmüştür. Bizim çalışmamızda oransal olarak skuamöz hücreli karsinom sayısı daha fazlaydı. Bu sebeple BRAF mutasyonu olan skuamöz hücreli hasta sayısı da daha fazla olarak bulunmuştur. Çalışmamızda BRAF mutasyonu olan 13 hastadan 2 hastanın hiç sigara içmemiş olduğu görüldü ve sigara ile BRAF mutasyonu ilişkisinde benzer sonuçlar elde edildi.

Benzer bir çalışmayı Stephanie Carderalla ve arkadaşları 2013 yılında ABD'nde gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada KHDAK olan 883 hasta DNA sekanslama kullanılarak BRAF mutasyonu taranmıştır. Tüm hastalık alt tiplerinde toplam 36 (%4) hastada BRAF mutasyonu saptanmıştır. Hastaların 257'si ise BRAF, EGFR, KRAS ve ALK negatif, wild tip olarak tespit edilmiştir. BRAF mutasyonu olan hastalar V600E alt tipi olan ve olmayan şeklinde iki gruba ayrılmışlardır. Bu iki grupta da 18'er hasta tespit edilmiştir. BRAF mutasyonu olan 36 hastanın 29 tanesi sigara içicisi olacak kayıtlara geçmiştir. BRAF pozitif ve wild tip hastalarının tedavi yanıt süreleri ve progresyonsuz sağkalım oranları benzer bulunmuştur. V600E pozitif BRAF mutasyonlu hastalar sisplatin bazlı kemoterapilerle, V600E dışı BRAF mutasyonlu

hastalardan daha kısa progresyonsuz sağkalım göstermiştir. Ancak bu veri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir ($P=0,297$) (46). Çalışmamızda ise BRAF mutasyonu saptanan hastalarımızın hiç birinde V600E mutasyonu saptanmamıştır. Sigara içimi ise benzer şekilde yüksek bulunmuştur.

DDR2 (discoidin domain-containing receptor 2) bir reseptör tirozin kinazdır, matriks metalloproteinazlarının ekspresyonunu artırır. Daha önce yapılan çalışmalarda epitelial-mezenkimal geçiş ile hücre çoğalması, migrasyon ve metastazın oluşumunda etkili olduğu gösterilmiştir (52,53). DDR2 mRNA ekspresyonunun değişken paternlerinin KHK, böbrek, meme, beyin, endometrial ve kolon kanserlerinde görüldüğü bildirilmiştir (54, 55, 56, 57).

DDR2 mutasyonlarının, akciğer SCC hücrelerinde aşırı ekspresyon sayesinde hücre proliferasyonu, migrasyon ve invazyonu artırarak onkojenik özellik kazandırdığı gösterilmiştir. Yeni DDR2 mRNA mutasyonu E-kaderin ekspresyonunu düzenleyerek artmış proliferasyon ve invazyona bu da akciğer SCC gelişimi ve progresyonuna sebep olur (58). Çalışmamızdaki 74 hastanın 1 (%1,4)'inde DDR-2 mutasyonu mevcutken 73 (%98,6) hastada DDR-2 mutasyonu tespit edilmedi. Mutasyon tespit edilen hastanın patolojik tipi skuamöz hücreli akciğer karsinomu idi ve hastada A2082C mutasyonu mevcuttu.

Liyun Miao ve arkadaşlarının (58) 2014 yılında Çin'de yaptığı bir çalışmada DDR-2 mutasyonun 86 skuamöz hücreli akciğer kanseri hastasında sıklığı araştırılmış ve 3 (%3,4) hastada DDR-2 mutasyonu tespit edilmiştir. Bu mutasyonların G531V, S131C, T681I tipinde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca DDR-2 mutasyonlarının, akciğer SCC hücrelerinde eksojen aşırı ekspresyon sayesinde hücre proliferasyonu, migrasyon ve invazyonu artırarak onkojenik özellik kazandığı gösterilmiştir. Daha önce 2002 yılında Bremnes (62) ve arkadaşlarının ve 2001 yılında Liu ve arkadaşlarının (63) yaptığı çalışmalarda DDR2 ve onun S131C mutasyon artışının akciğer SCC hücrelerinde hücre çoğalması, göçü ve invazyonunu arttırdığı ve bunu kısmen EMT ile sağladığı gösterilmiştir (62,63). Bizim çalışmamızda DDR-2 mutasyonunun hücre proliferasyonu, migrasyonu veya invazyonunu arttırdığına dair kanıt bulunmamıştır. Liyun Miao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada DDR-2 genindeki ekson 5,13 ve 15'te 3 yeni mutasyon 86 akciğer

SCC örneği incelenerek belirlenmiştir. Çalışma sonucunda DDR-2 mutasyon oranında Çin, Avrupa ve Amerikalı hastalarda hiçbir farklılık saptanamamıştır (58). Hasta sayısı yeterince fazla olmamasına rağmen, akciğer SCC ‘deki yeni DDR-2 mutasyonları, akciğer SCC’nin patogenezinde DDR-2 mutasyonlarının katkısı olabileceğini desteklemektedir. Bu çalışmada da DDR-2 mutasyonu bulunmasının kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda ise DDR-2 mutasyonu %1,4 oranında bulunmuş olup, progresyonsuz ve genel sağkalımla ilişkisinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür.

Hammerman ve arkadaşlarının 2011 yılında yayınlanan bir çalışmasında, Amerikalı 290 skuamöz hücreli akciğer kanserli hastanın 11’inde DDR-2 mutasyonu tespit edilmiş ve mutasyon sıklığı %3,8 olarak bulunmuştur (64). Hastaların 9’unda S768R mutasyonu ve 2 hastada nadir görülen G774 mutasyonu tanımlanmıştır. Bu çalışmada hastaların klinik verilerinin kısıtlı olması sebebiyle DDR2 gen mutasyon varlığının; yaş, cinsiyet veya sigara içme durumu ile arasında hiçbir korelasyon saptanamamıştır. Yine Hammerman ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada dasatinibin, DDR-2 gen mutasyonu taşıyan skuamöz hücreli akciğer kanseri hastalarında hücre dizilerine karşı oldukça etkin olduğu ve DDR2 mutant hücrelerinde proliferasyonu inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya benzer şekilde yaş, cinsiyet veya sigara içme durumu arasında hiçbir korelasyon saptanamamıştır. Çalışmamızdaki mutasyon tipinin bu çalışmadan farklı olması (A2082C) hasta sayısındaki kısıtlılık ve ırksal farklılıklar olabilir.

Marcin Nicos ve arkadaşlarının 2014 yılında Polonya’da yaptığı bir çalışmada 143 santral sinir sistemi metastazı olan küçük hücreli dışı akciğer karsinomlu hastada DDR-2 mutasyonunun varlığı değerlendirilmiştir (148). Bu çalışmadaki hastaların 99 (%69,2)’u erkek ve 44 (%30,8)’ü kadındı, bizim çalışmamızda ise hastaların 69 (%93,2)’u erkek ve yalnızca 5 (%6,8)’i kadın hastaydı. Hastalar histopatolojik olarak homojen dağılıma sahipti. 61 (%42,7)’i adenokarsinom, 23 (%16,1)’ü skuamöz hücreli, 38 (%26,6)’i NOS, 21 (%14,6)’i büyük hücreli akciğer karsinomu olarak tesbit edilmiştir ve 86 (%60,1) hasta sigara içicisi iken 32 (%22,4) hasta sigara kullanmıyordu, 25 (%17,5) hastanın ise sigara içip içmediği bilinmiyordu. Çalışmaya alınan 143 hastanın 3 (%4,29)’ünde S768R mutasyonu tespit edilmiş ve mutasyon

tespit edilen 3 hasta da sigara içicisiydi. Hastaların 2 si erkek ve biri kadın olarak tespit edildi. Hastaların 2'si skuamöz hücreli ve 1 tanesi adenokarsinom alt tipinde olduğu bulundu. Bizim çalışmamızda ise 74 hastanın 1 (%1,4)'inde DDR-2 mutasyonu tespit edilmiş ve bununda A2082C mutasyonu olduğu görülmüştür. Bu hasta erkek, sigara içicisi ve skuamöz hücreli histopatolojiye sahipti. Çalışmamızdaki mutasyon tipinin bu çalışmadan farklı olması (A2082C) hasta sayısındaki kısıtlılık ve ırksal farklılıklığa bağlandı.

Yashima ve arkadaşlarının 2014 yılında (149) 150 hastayla ve Sasaki ve arkadaşlarının 2012 yılında (57) 166 hastayla yaptığı çalışmalarda Japon hastalarda DDR-2 mutasyonu saptanmamıştır. Sasaki ve arkadaşları, Japon hastalarda DDR-2'nin 3-7. ve 9-12. eksonlardaki genetik çeşitliliği değerlendirmiştir. Daha önceki çalışmalarda Kuzey Amerikalı hastalarda DDR-2 mutasyonu olayı başlatan mutasyon olarak bildirilmiştir. Yashima ve arkadaşları ile Sasaki ve arkadaşlarının sonuçlarına göre; DDR-2, Avrupalı veya Kuzey Amerikalı adenokarsinom dışı akciğer kanserli hastalarda önemli bir tedavi hedefi olmasına rağmen, DDR-2 mutasyonları Japon SCC hastalarında oldukça düşük sıklıkta görülmesinden dolayı nadiren tedavi hedefi olabilir. Bizim çalışmamızda ise 74 hastada sadece 1 (%1,4) hastada DDR-2 mutasyonu tespit edilmiştir. Türkiye'deki hastalarda tedavi hedefi olup olmadığının belirlenmesi için daha çok hasta sayılı, çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır. Bizim sonuçlarımız SCC'nin altta yatan onkojenik mekanizmalarda ırksal farklılık olma ihtimalini desteklemektedir.

She-Juan An ve arkadaşlarının Çin'de 524 hastayla yaptıkları çalışma sonucunda DDR-2 mutasyonları sigara içmeyenlere göre, sigara içenlerde daha fazla saptanmıştır(67). Çalışmaya alınan 524 hastanın 292 (%55,7)'si sigara kullanmazken, 232 (%44,3)'si sigara kullanıyordu. Toplam 2 (%0,38) hastada DDR-2 mutasyonu bulunmuş ve birinde M117V, diğerinde R680L mutasyonu tespit edilmişti. Ve mutasyon tespit edilen 2 hasta da sigara içicisiydi. Bizim çalışmamızda da DDR-2 mutasyonu 1 (%1,4) hastada tespit edilmiş olup ve bu hasta da sigara içicisiydi.

Fosfatidilinozitol 3-kinaz (PI3K protein ailesi) bir lipid kinazdır ve fosfatidilinozitol 3- fosfatın rejenerasyonundan sorumludur. Bu protein ise büyüme faktör reseptörleri ve hücre içi aşağı doğru sinyal yolağı arasındaki anahtar medyatördür (68). PI3K proteinin ana katalitik alt ünitesi p110 α izoformudur ve PIK3CA ile kodlanır (69). PIK3CA fosfatidilinositol-3-kinazın katalitik alt birimini kodlayan gendir (71). Bu gendeki mutasyonlar; baş ve boyun, üriner sistem, meme, serviks, endometrium, glioblastomlar ve gastrik kanserlerin yaklaşık %30'unda tanımlanmıştır. Ancak akciğer kanserinde ise bu oran daha düşüktür. KHDAK vakalarının yalnızca %2'sinde tespit edilmiştir (74,75,76).

2013 yılında Çin'de Lei Wang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada KHDAK olan hastalarda PIK3CA genetik mutasyonu ve mutasyonun prognostik değeri incelenmiştir. Çalışmaya 2007 ve 2012 yılları arasında tanı konulan 1117 hasta alınmıştır. Bu hastaların 34'ünde PIK3CA mutasyonu pozitif saptanmıştır. Bu hastalardan 22 (%64,7)'si adenokarsinom iken, 12 (%35,3)'si skuamöz hücreli karsinom olarak tespit edilmiştir. Otuzdört PIK3CA hastasının 17'sinde EGFR mutasyonu tespit edilirken KRAS mutasyonu 4 hastada tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda PIK3CA ve EGFR, KRAS mutasyonlarının birlikte görülmesinin kötü prognoz ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Prognoz belirleyicisi olabilen bu mutasyonlardan dolayı KHDAK tanılı hastalarda terapötik stratejileri belirleyebileceği için PIK3CA mutasyonu çalışılması önerilmektedir (140). Çalışmamıza dahil edilen 74 KHDAK tanısı olan hastadan 3 (%4,1)'ünde PIK3CA mutasyonu tespit edilmiştir. Hastalarda PIK3CA mutasyonu bulunmasının progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine etkisi olup olmadığı araştırıldı, istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu, PIK3CA mutasyonunun varlığının kötü prognozla ilişkili olduğu ve bunun da literatür verileriyle uyumlu olduğu görüldü.

Yine Çin'de yapılan benzer bir çalışmada 2013 yılında Lina Zhang ve arkadaşları 122 KHDAK olan hastayı PIK3CA mutasyonu açısından incelemişlerdir. Bu 122 hastanın 72'si erkek, 50'si ise kadın iken; kadın hastalarda 60 yaş üzeri 21 hasta tespit edilmiştir, erkek hastalarda ise bu sayı 41 olarak belirtilmiştir. 60 hasta sigara kullanımı olmadığını belirtmiştir, 59 hasta ise sigara kullanıcısı olarak tespit edilmiştir. Klinikopatolojik evrelemede ise 72 hasta evre 3 – 4, 50 hasta evre 1 - 2

olarak değerlendirilmiştir. Toplam 25 (%20,5) hastada PIK3CA mutasyonu tespit edilmiştir. Mutasyonu tespit edilen 1 hasta çalışma devam ederken hastalığa bağlı nedenlerden kaybedilmiştir. Mutasyonu exon 20 bölgesinde olan 24 hasta varken, exon 9 bölgesinde 1 hasta tespit edilmiştir. Exon 20 bölgesinin H1047R mutasyonu 18 hastada, H1047L mutasyonu 6 hastada görülmüştür. Exon 9 bölgesinde ise 1 hastada E545K mutasyonu izlenmiştir. Mutasyon izlenen 25 hastanın 13'ü sigara içicisidir. Benzer şekilde mutasyon olan 24 hastanın 18'i evre 3 – 4 iken, 6 hasta evre 1 - 2 olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda rezeke edilebilir akciğer adenokarsinomunda PIK3CA mutasyonlarının kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu bulgunun klinik bir önemi olabilir. Diğer yaygın maligniteler gibi akciğer adenokarsinomunda da PI3K/AKT yolağının terapötik inhibitörlerinin tanımlanması üzerine oldukça fazla çaba harcanmıştır (141). Çalışmamızda ise 1 hastada E542K, 1 hastada E545K, 1 hastada ise H1047L mutasyonu tespit edildi. Hasta sayısı az olduğu için alt grup çalışmaları için istatistiksel analiz yapılamadı. Genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım üzerine ise anlamlı farklılık saptandı. PIK3CA mutasyonlu hastalarda daha kısa progresyonsuz ve genel sağkalım olduğu görüldü.

PIK3CA geninin kemoterapiye dirençli KHDAK olan hastalarda potansiyel bir tedavi hedefi olduğu aşikârdır. Bu konuyla ilgili Shibata Tatsuhiko ve arkadaşları sadece skuamöz hücreli kanser olan hastalarda 2009 yılında bir çalışma yapmıştır. Primer skuamöz hücreli 15 kanser hastasının 2 tanesinde PIK3CA mutasyonu tespit edilmiştir. Kanser hücre dizileri kullanılarak, AKT inhibitörü olan tricribine tedavisine yanıtları değerlendirilmiştir. Mutasyon pozitif hastaların wild tiplere göre tedaviye yanıtının daha iyi olduğu gösterilmiştir. Özellikle tedaviye dirençli hastalar için PIK3CA mutasyon analizlerinin yararlı olabileceği belirtilmiştir (142). Çalışmamızın çıkış noktası da benzer şekilde yeni tedavi metodları geliştirmek ve hedefe yönelik tedavilerin önünü açmaktır.

Son dönemde KHDAK ile ilgili tedavi ve prognozu belirleyebilecek laboratuvar belirteçleri gündeme gelmektedir. KHDAK 'nde performans durumu, sigara içimi, eşlik eden hastalıklar ve hastalığın evresi bilinen prognositik faktörlerdir. Bu faktörlerin yanı sıra kanser hastalarında malnütrisyona bağlı morbidite % 40 – 80

arasında değişmektedir (143). Malnütrisyon hastanede yatış süresini uzatırken, mortaliteyi de artırmaktadır. Hastalarda malnütrisyon değerlendirilirken albümin seviyeleri, beden kitle indeksi (BKİ) ve sistemik inflamatuvar yanıt kriterleri kullanılmaktadır. Bunların dışında nötrofil – lenfosit oranı (NLR), trombosit – lenfosit oranı (PLR) ve C reaktif protein (CRP) de prognostik olarak kullanılmaktadır (144). NLR ve PLR'nin birçok kanser hastalığında prognositik faktör olarak kullanılması son dönemde önem kazanmaya başlamıştır. CRP ise non spesifik bir inflamatuvar belirteç olup KHDAK' nde kötü prognoz ile ilişkilidir (145).

Yıldırım M. ve arkadaşları tarafından 2013 yılından Türkiye'de yapılan bir çalışmada KHDAK olan hastalarda NLR ve PLR değerlerinin genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım üzerine etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada ek olarak hastaların albümin ve BKİ'lerinin yardımı ile malnütrisyon durumlarının sağkalım üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmaya 18'i kadın, 77'si erkek olmak üzere toplam 95 hasta alınmış olup; hastalar tanı anlarındaki albümin düzeyleri (normoalbüminemik ve hipoalbüminemik) ve NLR değerlerine (>5 ve <5) göre ikiye gruba ayrılmışlardır. Hastaların 69 (%72,6)'u normoalbüminemik, 26 (%27,4)'sı ise hipoalbüminemik; 27 (%28,4) hasta NLR > 5 , 61 (62,4) hasta ise < 5 olarak tespit edilmiştir. Hastalar ortalama 14 ay izlendikten sonra sağkalım süreleri değerlendirilmiştir. NLR değerlerinin ortalama sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı farklılığı olurken, PLR değerli hasta gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. NLR < 5 olan hasta grubunda ortalama sağkalım 14,7 ay olurken; NLR > 5 grupta ise ortalama sağkalım 7,2 ay olarak saptanmıştır. Çalışma sonucunda nutrisyonel durumu gösteren serum albumini ve SIR (Sistemik inflamatuvar yanıt)'ın bir indikatörü olan NLR, lokal ileri ve metastatik KHDAK'nde prognozla önemli oranda ilişkili bulunmuştur. Serum albumin ölçümü ve NLR'nin hesaplanması, labarotuvan yöntemlerinin kullanılmasında kolayca erişilebilir, ucuz ve kolaydır. Serum albümin düzeyleri ve NLR'nin, KHDAK'li hastaların tedavi planlamasında kullanılabileceğini düşünülmüştür (146). Bizim çalışmamızda da NLR ve PLR oranları hesaplandı; bu iki grubun progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı farklılığı tespit edilmedi. Bu farklılığın sebebinin çalışılan hasta popülasyonun özellikleri ile alakalı olabileceği düşünüldü.

Hua Zhang ve arkadaşları tarafından 2015 yılında yayınlanan bir başka kohort çalışmada benzer şekilde KHDAK tanılı hastalarda preoperatif trombosit sayısı ve nötrofil – lenfosit oranı kullanılarak prognoz belirlemeye çalışılmıştır. Hastaların temel özelliği tam rezeksiyon yapılan hastalar olmasıdır. Preoperatif COP-NLR, elde edilen veriler baz alınarak hesaplanmıştır. Hem artmış trombosit sayısı ($>30.0 \times 10^4 \text{ mm}^{-3}$) ve artmış NLR ($>2,3$) olan hastaların skoru 2 iken, birisine sahip olan veya hiç olmayanların skoru 1 veya 0 olarak belirlenmiştir. Bu analize toplam 1238 hasta dahil edilip tek değişkenli analizler sayesinde seçilen 15 klinikolaboratuvar değişkenin kullanıldığı çok değişkenli analizlerde; preoperatif COP-NLR değerinin hastalıksız sağkalım (HR:1.834, %95 CI:1.536-2.200, $p<0.001$) ve genel sağkalım (HR:1.810, %95 CI:1.587-2.056, $p<0.001$) için bağımsız bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir. Alt grup analizlerinde tümör evresi (I, II, IIIA) ile hastalıksız sağkalım, genel sağkalım ve COP-NLR düzeyi arasında her grupta (hastalıksız sağkalım için $p<0.001$, $p=0.002$, $p<0.001$ ve genel sağkalım için $p<0.001$, $p=0.001$, $p<0.001$) anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Yüksek riskli COP-NLR (skor 2) olan gruptaki hastalar analiz edildiğinde, adjuvan kemoterapinin hiçbir faydası olmadığı görülmüştür (hastalıksız sağkalım için $p=0.237$ ve genel sağkalım için $p=0.165$). Preoperatif COP-NLR, KHDAK’li hastaların prognozu tahmin etmeyi sağlayabilir ve bu hastaları ameliyat öncesinde 3 bağımsız gruba ayırır. Bu çalışmadaki sonuçlara baktığımızda COP-NLR’ye göre yüksek riskli hastalar adjuvan kemoterapiden fayda görmemiştir (147). Bu çalışmaların ışığında NLR değerlerinin KHDAK’nin prognozunu etkileyebildiği gibi tedavisinde de değişiklikler yapılmasını sağlayabileceği görülmüştür. Yüksek hasta popülasyonlu benzer çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇLAR

KHDAK olan hastalarda BRAF, DDR-2 ve PIK3CA gen mutasyonun görülme sıklığı, genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım üzerine etkileri, ayrıca KHDAK olan hastalarda NLR ve TLR değerlerinin sağkalım üzerine etkilerini araştırdığımız bu çalışmanın sonuçlarına göre:

* BRAF gen mutasyonunun progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi yoktur.

* DDR-2 gen mutasyonunun progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi yoktur.

* PIK3CA gen mutasyonunu progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım üzerine negatif yönde etkilidir.

* NLR değerlerinin progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım üzerine etkisi yoktur.

* PLR değerlerinin progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım üzerine etkisi yoktur.

* Hastaların yaşadığı yer, kilo kaybı, metastatik olması, kemoterapi verilmiş olması ve tedavi sırasında toksisite gelişmesinin progresyonsuz ve genel sağkalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturduğu görülmüştür.

* Hastaların patolojik tipleri, sigara kullanımı, evreleri arasında progresyonsuz ve genel sağkalım analizlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir.

* PIK3CA mutasyon sonucu için hastaların sonuçları literatür verileri ile uyumlu gelmiştir. BRAF mutasyonu bulunmasının literatür verilerinde, prognoz üzerine negatif etkili olduğu görülmesine rağmen çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı etkisinin olmadığı görülmüştür. DDR-2 mutasyonu varlığının literatür verilerinde, prognoz üzerinde negatif yönde etkili olmasına rağmen çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı etkisinin olmadığı görülmüştür. NLR ve TLR değerleri ise literatür verileri ile uyumsuz olarak izlenmiştir. Bu farklılığın sebebinin hasta sayısının daha az olması, bizim hasta popülasyonumuzda skuamöz hücreli karsinom histopatolojik

tipinin daha sık görülmesi, hastalarımızın sigara içimi yüzdesinin daha fazla olması olabileceği düşünülmüştür.

* Gen mutasyon analizleri daha önceki çalışmalarda doku düzeyinde yapılırken bizim çalışmamızda periferik kanda bakılmıştır. Bu sayede gelecekte yapılacak çalışmalarda doku yerine periferik kanda gen mutasyon analizi yapılmasına olanak sağlanmıştır ve daha büyük örnek sayıları ile anlamlı sonuçlar elde edilebilir.

* Hedefe yönelik tedaviler; kanser tedavisinin en önemli gelecek hedefleri olarak göze çarpmaktadır. Gen mutasyonlarının araştırılması, mutasyon sonucu üretilen proteinlerin ve ürünlerin araştırılması için yüksek hasta sayılı ve çok merkezli prospektif, sağkalım üzerine etkilerini de açıklayan çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Akciğer ve Plevra Maligniteleri Çalışma Grubu. Akciğer kanseri tanı ve tedavi rehberi. Toraks Dergisi 2006; 7 (Ek 2): 1-37.
2. Ferlay, P.Autier. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006 Annals of Oncology. Ann Oncol. 2007 Mar;18(3):581-92.
3. Kanser bildirimlerinin değerlendirilmesi 1993-1994. TC Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Daire Başkanlığı, Yayın No:582, Ankara 1997:54-66.
4. Türk Akciğer Kanseri Derneği. Akciğer Kanseri Tarama Çalıştay Raporu, 2014
5. Travis WD, Lubin J, Ries L, et al. United States Lung carcinoma incidence trends: Declining for most histologic types among males, increasing among females. Cancer 1996; 77: 2464-70.
6. Weiss W. Cigarette smoking and lung cancer trends: A light at the end of the tunnel? Chest 1997; 111: 1414-16.
7. Payne S. ‘Smoke like a man, die like a man?’: A review of the relationship between gender, sex and lung cancer. Soc Sci Med 2001; 53: 1067-1080.
8. Çelik İ. Akciğer kanserinde epidemiyoloji. Engin K, Özyardımcı N (Editörler). Akciğer kanserleri. Tanı ve tedavide temel ilkeler ve uygulamalar’ında. Avrupa Tıp Kitapçılık Ltd. Şti.; 2001:50-6.
9. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, Non-Small Cell Lung Cancer v.3 2015
10. Akciğer ve Plevra Maligniteleri Çalışma Grubu. Akciğer kanseri tanı ve tedavi rehberi. Toraks Dergisi 2006; 7 (Ek 2): 1-37.
11. Scagliotti G. Symptoms, sign and staging of lung cancer. European Respiratory Monograph 2001; 17: 86-119.
12. Özlü T, Bülbül Y. Sigara ve akciğer kanseri. Tüberküloz ve Toraks Dergisi 2005;53(2): 200-209.

13. Denissenko MF, Pao A, Tang M, Pfeifer GP. Preferential formation of benzoapyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in P53. *Science* 1996; 274:430.
14. Secretan B, Straif K, Baan R, Grosse Y, El Ghissassi F, Bouvard V, Benbrahim-Tallaa L, et al. A review of human carcinogens--Part E: tobacco, areca nut, alcohol, coal smoke, and salted fish.
15. Smith LE, Denissenko MF, Bennett WP, et al. Targeting of lung cancer mutational hotspots by polycyclic aromatic hydrocarbons. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 803.
16. Samet JM, Wiggins CL, Humble CG, Pathak DR. Cigarette smoking and lung cancer in New Mexico. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137:1110.
17. Newcomb PA, Carbone PP. The health consequences of smoking. *Cancer. Med Clin North Am* 1992; 76: 305.
18. Alberg A J, Samet JM. Epidemiology of Lung Cancer. *Chest* 2003;123: 21-49.
19. Torun E. Küçük Hücreli Akciğer Kanseri Tedavi Öncesi Prognostik Faktörler ve Tedavi Sonuçları. Dr.Lütfi Kırdar Kartal Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Göğüs Hastalıkları Kliniği. Uzmanlık Tezi. İSTANBUL-2005
20. Engin K, Özyardımcı N. Akciğer Kanseri. Bursa 2001.145-72
21. Alberg AJ¹, Brock MV, Ford JG, Samet JM, Spivack SD. Epidemiology of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2013 May;143(5 Suppl):e1S-29S. doi: 10.1378/chest.12-2345.
22. Grosche B, Kreuzer M, Kreisheimer M, et al. Lung cancer risk among German male uranium miners: a cohort study, 1946-1998. *Br J Cancer* 2006; 95: 1280.
23. Fishman AP, Elias JA, Fishman JA, Grippi MA, Kaiser LR. Epidemiology of Lung Cancer. In: Senior RM. Postmus PE. Fishman's Pulmonary Disease and Disorders, 3rd Ed. New York: McGraw-Hill, 1998: 1707-1711
24. İtil O. Akciğer Kanserlerinin Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi. Haydaroğlu A. Akciğer Kanseri Tanı ve Tedavi. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 2000: 15-34
25. Omenn GS, Merchant J, Boatmann E, et al. Contribution of environmental fibers to respiratory cancer. *Environ Health Perspect* 1986; 70: 51-56.

26. Ernster VL, Mustachhi P, Osann KE. Epidemiology of lung cancer. In: Murray JF, Nadel JA. Textbook of Respiratory Medicine. 2nd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co, 1994: 1504-1527
27. Ginsberg RJ, Vokes EE, Rosenweig K. Non-small cell lung cancer. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. Cancer Principles and Practice of Oncology, 6th ed. Philadelphia: Lippicott Williams and Wilkins, 2001: 925-983
28. Yu YH, Liao CC, Hsu WH, et al. Increased lung cancer risk among patients with pulmonary tuberculosis: a population cohort study. J Thorac Oncol 2011; 6: 32
29. Ursavaş A. Akciğer Kanseri. Özyardımcı N.Akciğer Hastalıkları El Kitabı. Bursa: Uludağ Üniversitesi Basımevi, 2001: 456-492
30. Akkoçlu, Atilla. *Akciğer kanserlerinde tanı, evreleme ve tedavi öncesi değerlendirme*. Türk toraks derneği.
31. Chlebowski RT, Schwartz AG, Wakelee H, Anderson GL, Stefanick ML, Manson JE, Rodabough RJ, Chien JW, Wactawski-Wende J, Gass M, Kotchen JM, Johnson KC, O'Sullivan MJ, Ockene JK, Chen C, Hubbell FA, Women's Health Initiative Investigators SO Lancet. 2009;374(9697):1243.
32. Tosun Z. Ülger F. Numanoglu N. Ailesel kanser hikayesi ve Akciğer Kanseri. Tüberküloz ve Toraks Dergisi 2004; 52(2): 130-6
33. Sellers TA, et al. Evidence for Mendelian Inheritance in the Pathogenesis of Lung Cancer- J Natl Cancer Inst.1990; 82(15): 1272-1279
34. Weinstein IB. Cancer. Addiction to oncogenes the Achilles heal of cancer. *Science* 2002; 297: 63–64.
35. Fisher GH, Wellen SL, Klimstra D, et al. Induction and apoptotic regression of lung adenocarcinomas by regulation of a *K-Ras* transgene in the presence and absence of tumor suppressor genes. *Genes Dev* 2001; 15: 3249–62.
36. H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the *BRAF* gene in human cancer. *Nature* 2002; 417: 949–54.
37. Leicht DT, Balan V, Kaplun A, et al. Raf kinases: function, regulation and role in human cancer. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 1196–212.

38. Sen B, Peng S, Tang X, Erickson HS, Galindo H, Mazumdar T, et al. Kinase-impaired BRAF mutations in lung cancer confer sensitivity to dasatinib. *Sci Transl Med* 2012;30;4(136):136-70.
39. Wan PT, Garnett MJ, Roe SM, Lee S, Niculescu-Duvaz D, Good VM, et al. Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell* 2004;116:855–67.
40. Oxnard GR, Binder A, Jänne PA. New targetable oncogenes in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2013;31:1097–104.
41. Gautschi O, Pauli C, Strobel K, Hirschmann A, Printzen G, Aebi S, et al. A patient with BRAF V600E lung adenocarcinoma responding to vemurafenib. *J Thorac Oncol* 2012;7:e23–4.
42. Ding L, Getz G, Wheeler DA, et al. Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma. *Nature* 2008; 455: 1069–75.
43. Naoki K, Chen TH, Richards WG, Sugarbaker DJ, Meyerson M. Missense mutations of the *BRAF* gene in human lung adenocarcinoma. *Cancer Res* 2002; 62: 7001–03.
44. Kobayashi M, Sonobe M, Takahashi T, Yoshizawa A, Ishikawa M, Kikuchi R et al. Clinical Significance of BRAF gene mutations in patients with non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 2011;31(12):4619-4623.
45. Gautschi O, Peters S, Zoete V, Aebbersold-Keller F, Strobel K, Schwizer B, et al. Lung adenocarcinoma with BRAF G469L mutation refractory to vemurafenib. *Lung Cancer* 2013; 82: 365-7.
46. Cardarella S, Ogino A, Nishino M, Butaney M, Shen J, Lydon C, et al. Clinical, pathologic, and biologic features associated with BRAF mutations in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2013;19: 4532–40.
47. Garnett MJ et al. Guilty as charged: B-RAF is a human oncogene. *Cancer Cell* 2004;6:313-9.
48. Flaherty KT et al. BRAF a target in melanoma: implications for solid tumor drug development. *Cancer* 2010;116:4902–13.

49. Ji H, Wang Z, Perera SA, et al. Mutations in *BRAF* and *KRAS* converge on activation of the mitogen-activated protein kinase pathway in lung cancer mouse models. *Cancer Res* 2007; 67: 4933–39.
50. Paik PK, Arcila ME, Fara M, Sima CS, Miller VA, Kris MG, et al. Clinical characteristics of patients with lung adenocarcinomas harboring *BRAF* mutations. *J Clin Oncol* 2011;29:2046–51.
51. Odd Terje Brustuguna, Asma Malik Khattakc, Anette Kjosshagen Tromborgc, Marzieh Beigic, Klaus Beiskec, Marius Lund-Iversenc, Aslaug Hellanda, Department: *BRAF*-mutations in non-small cell lung cancer
52. Vogel W, Gish GD, Alves F, Pawson T: The discoidin domain receptor tyrosine kinases are activated by collagen. *Mol Cell* 1997, 1(1):13–23.
53. Zhang K, Corsa CA, Ponik SM, Prior JL, Piwnica-Worms D, Eliceiri KW, Keely PJ, Longmore GD: The collagen receptor discoidin domain receptor 2 stabilizes *SNAIL1* to facilitate breast cancer metastasis. *Nat Cell Biol* 2013, 15(6):677–687.
54. Mantripragada K, Khurshid H. Targeting genomic alterations in squamous cell lung cancer. *Front Oncol.* 2013;. doi:10.3389/fonc. 2013.00195.
55. Oxnard GR, Binder A, Janne PA. New targetable oncogenes in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2013;31:1097–104.
56. Ren T, Zhang J, Liu X, Yao L: Increased expression of discoidin domain receptor 2 (*DDR2*): a novel independent prognostic marker of worse outcome in breast cancer patients. *Med Oncol* 2013, 30(1):397.
57. H, Shitara M, Yokota K, Okuda K, Hikosaka Y, Moriyama S, Yano M, Fujii Y: *DDR2* polymorphisms and mRNA expression in lung cancers of Japanese patients. *Oncol Lett* 2012, 4(1):33–37.
58. Liyun Miao, Yongsheng Wang, Suhua Zhu, Minke Shi, Yan Li, Jingjing Ding, Jun Yang, Qing Ye, Hourong Cai, Deping Zhang, Hongbing liu and Yong Song Identification of novel driver mutations of the discoidin domain receptor 2 (*DDR2*) gene in squamous cell lung cancer of Chinese patients *BMC Cancer* 2014, 14:369
59. Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA: Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 2009, 139(5):871–890.

60. Lee JM, Dedhar S, Kalluri R, Thompson EW: The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease. *J Cell Biol* 2006, 172(7):973–981.
61. Zavadil J, Bottinger EP: TGF-beta and epithelial-to-mesenchymal transitions. *Oncogene* 2005, 24(37):5764–5774.
62. Bremnes RM, Veve R, Gabrielson E, Hirsch FR, Baron A, Bemis L, Gemmill RM, Drabkin HA, Franklin WA: High-throughput tissue microarray analysis used to evaluate biology and prognostic significance of the E-cadherin pathway in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2002, 20(10):2417–2428.
63. Liu D, Huang C, Kameyama K, Hayashi E, Yamauchi A, Kobayashi S, Yokomise H: E-cadherin expression associated with differentiation and prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2001, 71(3):949–954. discussion 954–945.
64. Hammerman PS, Sos ML, Ramos AH, Xu C, Dutt A, Zhou W, Brace LE, Woods BA, Lin W, Zhang J, Deng X, Lim SM, Heynck S, Peifer M, Simard JR, Lawrence MS, Onofrio RC, Salvesen HB, Seidel D, Zander T, Heuckmann JM, Soltermann A, Moch H, Koker M, Leenders F, Gabler F, Querings S, Ansén S, Brambilla E, Brambilla C, et al: Mutations in the DDR2 kinase gene identify a novel therapeutic target in squamous cell lung cancer. *Cancer Discov* 2011, 1(1):78–89.
65. Ding L, Getz G, Wheeler DA, et al: Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma. *Nature* 455: 1069-1075, 2008.
66. Davies H, Hunter C, Smith R, et al: Somatic mutations of the protein kinase gene family in human lung cancer. *Cancer Res* 65: 7591-7595, 2005.
67. An SJ, Chen ZH, Su J, et al: Identification of enriched driver gene alterations in subgroups of non-small cell lung cancer patients based on histology and smoking status. *PLoS One* 7: e40109, 2012.
68. Jimenez C, Jones DR, Rodriguez-Viciana P, et al. Identification and characterization of a new oncogene derived from the regulatory subunit of phosphoinositide 3-kinase. *EMBO J* 1998; 17: 743–53.
69. Ikenoue T, Kanai F, Hikiba Y, et al. Functional analysis of *PIK3CA* gene mutations in human colorectal cancer. *Cancer Res* 2005;65: 4562–67.

70. Gardefors K., “The Effects of PIK3CA Mutations on the Function and Structure of the Phosphatidylinositol 3-kinase p110 α Catalytic Subunit in Breast Cancer”, Project in Microbial Biotechnology, Department of Biomedicine and Surgery Division of Oncology Faculty of Health Sciences Linköpings Universitet, (2007).
71. Liu Z., Roberts T. M., “Human Tumor Mutants in the p110 α Subunit of PI3K”, *Cell cycle*, (2006), 5, (7).
72. Karaks B., Bachman K. E., Park B. H., “Mutation of the PIK3CA Oncogene in Human Cancers”, *British Journal of Cancer* (2006) 94, 455–459.
73. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/54792081> (25.07.09).
74. Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, et al. High frequency of mutations of the *PIK3CA* gene in human cancers. *Science* 2004; 304: 554.
75. Zhao L., Vogt P. K., “Helical Domain and Kinase Domain Mutations in p110 of Phosphatidylinositol 3-kinase Induce Gain of Function by Different Mechanisms”, *PNAS*, (2008), 105, (7), 2652–2657 .
76. Zhang H., Liu G., Dziubinski M., Yang Z., Ethier S. P., Wu G. “Comprehensive Analysis of Oncogenic Effects of PIK3CA Mutations in Human Mammary Epithelial Cells”, *Breast Cancer Res Treat*, (2007).
77. Okudela K, Suzuki M, Kageyama S, et al. *PIK3CA* mutation and amplification in human lung cancer. *Pathol Int* 2007; 57: 664–71.
78. Kawano O, Sasaki H, Endo K, et al. *PIK3CA* mutation status in Japanese lung cancer patients. *Lung Cancer* 2006; 54: 209–15.
79. Kang S, Bader AG, Vogt PK. Phosphatidylinositol 3-kinase mutations identified in human cancer are oncogenic. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 802–07
80. Angulo B, Suarez-Gauthier A, Lopez-Rios F, et al. Expression signatures in lung cancer reveal a profile for EGFR-mutant tumours and identify selective PIK3CA overexpression by gene amplification. *J Pathol* 2008; 214: 347–56.
81. Engelman JA, Chen L, Tan X, et al. Effective use of PI3K and MEK inhibitors to treat mutant Kras G12D and PIK3CA H1047R murine, lung cancers. *Nat Med* 2008; 14: 1351–56.

82. Shapiro G, Kwak E, Baselga J, et al. Phase I dose-escalation study of XL147, a PI3K inhibitor administered orally to patients with solid tumors. *J Clin Oncol* 2009; 27: 15s (3500).
83. Travis WD, Brambilla E, Muller-Mermelink HK, Harris CC. Pathology and genetics of tumours of the lung, pleura, thymus and heart. Volume 10, IARC Pres, 2004:1-344.
84. Janssen-Heijnen ML, Coebergh JW, Klinkhamer PJ, et al. Is there a common etiology for the rising incidence of and decreasing survival with adenocarcinoma of the lung? *Epidemiology* 2001; 12: 256.
85. Bedsmoore CJ, Screaton NJ. Classification, staging and prognosis of lung cancer. *Eur J Radiol* 2003;45:8-17.
85. Akay H. Akciğer kanserleri. In: H. Akay ed. Göğüs Cerrahisi. Antip Ankara 2003:165-213.
87. Aoki T, Nakata H, Watanabe H, Nakamura K, Kasai T, Hashimoto H et al. Evolution of peripheral lung adenocarcinomas: CT findings correlated with histology and tumor doubling times. *Am J Roentgenol* 2000;174:763-68.
88. Pathology and genetics of tumours of the lung, pleura, thymus and heart. In: World Health Organization classification of tumours, Travis, WD, Brambilla, E, Muller-Hermlink, HK, Harris, CC (Eds), IARC Press, Lyon 2004.
89. Kish JK, Ro JY, Ayala AG, McMurtrey MJ. Primary mucinous adenocarcinoma of the lung with signet-ring cells: a histochemical comparison with signet-ring cell carcinomas of other sites. *Hum Pathol* 1989; 20: 1097.
90. Ou SH, Ziogas A, Zell JA. Primary signet-ring carcinoma (SRC) of the lung: a population-based epidemiologic study of 262 cases with comparison to adenocarcinoma of the lung. *J Thorac Oncol* 2010; 5: 420
91. Miyoshi T, Satoh Y, Okumura S, et al. Early-stage lung adenocarcinomas with a micropapillary pattern, a distinct pathologic marker for a significantly poor prognosis. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 101.

92. Amin MB, Tamboli P, Merchant SH, et al. Micropapillary component in lung adenocarcinoma: a distinctive histologic feature with possible prognostic significance. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 358.
93. Nitadori J, Bograd AJ, Kadota K, et al. Impact of Micropapillary Histologic Subtype in Selecting Limited Resection vs Lobectomy for Lung Adenocarcinoma of 2cm or Smaller. *J Natl Cancer Inst* 2013.
94. Nakatani Y, Dickersin GR, Mark EJ. Pulmonary endodermal tumor resembling fetal lung: a clinicopathologic study of five cases with immunohistochemical and ultrastructural characterization. *Hum Pathol* 1990; 21:1097.
95. Yousem SA, Wick MR, Randhawa P, Manivel JC. Pulmonary blastoma. An immunohistochemical analysis with comparison with fetal lung in its pseudoglandular stage. *Am J Clin Pathol* 1990; 93:167.
96. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* 2011; 6:244.
97. Shields TW. Pathology of Carcinoma of The Lung. In Shields TW (ed): *General Thoracic Surgery*, 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2005: 1455-81
98. Vallieres E, Waters PF. Incidence Of mediastinal node involvement in clinical T1 bronchogenic carcinoma. *Can J Surg* 1987;30(5):341-2.
99. Sulu E, Damadoğlu E, Nergiz S. Does tumor type and sex distribution of primary lung cancer change? The comparison of the results of 2004 and previous years. *Tuberk Toraks* 2007;55(1): 59-63.
100. Laye SB, Regnier A, Beauchet A. Expression of endothelin receptor subtypes in bronchial tumors. *Oncology reports* 2010;23: 457-463
101. Roggli VL, Vollmer RT, Greenberg SD, et al. Lung cancer heterogeneity: a blinded and randomized study of 100 consecutive cases. *Hum Pathol* 1985; 16:569.

102. Cooke DT, Nguyen DV, Yang Y, et al. Survival comparison of adenosquamous, squamous cell, and adenocarcinoma of the lung after lobectomy. *Ann Thorac Surg* 2010; 90:943.
103. Filosso PL, Ruffini E, Asioli S, et al. Adenosquamous lung carcinomas: a histologic subtype with poor prognosis. *Lung Cancer* 2011; 74:25.
104. Mooi WJ. Common lung cancers. In: Hasleton PS, ed. *Spencer's pathology of the lung*. 5th ed. New York: McGraw-Hill, 1996:1009-64.
105. Alberg A J, Samet JM. Epidemiology of Lung Cancer. *Chest* 2003;123: 21-49.
106. Lung cancer screening with sputum cytologic examination, chest radiography, and computed tomography: an update for the U.S. Preventive Services Task Force. Humphrey LL, Teutsch S, Johnson M, U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 2004;140(9):740
107. Boiselle PM Computed Tomography Screening for Lung Cancer *JAMA* 2013; 309: 1163-70.
108. Carbone PP, Frost JK, Feinstein AR, Higgins GA, Selawry OS. Lung cancer: perspectives and prospects. *Ann Intern Med* 1970;73:1003-24.
109. Aysan T, Göksel T. Akciğer kanserlerinde evreleme ve prognostik faktörler. In: Haydaroglu A. Eds. *Akciğer Kanserleri Tanı ve Tedavi*. İzmir: Ege üniversitesi basımevi, 2000:91-101.
110. Risse EK, van't Hof MA, Vooijs GP. Relationship between patient characteristics and the sputum cytologic diagnosis of lung cancer. *Acta Cytol* 1987;31:159-65.
111. Kraut M, Wozniak A. Clinical Presentation. In: Pass HI, Mitchell JB, Johnson DH, Turrisi AT, Minna JD, Eds. *Lung cancer*. 2nd Ed. Philadelphia: Lipincott Williams&Wilkins 2000:29:521-34.
112. Carr DT, Holoye PY, Hong WK. Broncogenic Carcinoma. Murrey JF, Nadel JA, Eds. *Textbook of Respiratory Medicine*. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1994:1528-96.
113. Spiro SG, Gould MK, Colice GL. American College of Chest Physicians. Initial evaluation of the patient with lung cancer: symptoms, signs, laboratory tests, and

paraneoplastic syndromes: ACCP evidenced-based clinical practice guidelines (2nd edition). Chest 2007;132(3):149-60.

114. Jardin MRG, Remy J. Spiral CT of the Chest. 1. baskı. Berlin: Springer;1996: 74–76. Akciğer ve Plevra Maligniteleri Çalışma Grubu. Akciğer kanseri tanı ve tedavi rehberi. Toraks Dergisi 2006; 7 (Ek 2): 1-37.

115. Akciğer ve Plevra Maligniteleri Çalışma Grubu. Akciğer kanseri tanı ve tedavi rehberi. Toraks Dergisi; 7 (Ek 2): 1-37,2006

116. Rivera M.P, Atul C. Mehta M.B. Initial Diagnosis of Lung Cancer ACCP Evidence-Based Clinical Practice Guidelines CHEST 123. 129S-136S.2003.

117. Kurimoto N, Miyazawa T, Okimasa S. Endobronchial ultrasonography using a guide sheath increases the ability to diagnose peripheral pulmonary lesions endoscopically. Chest;126,959-965,2004.

118. Bilaceroglu S, Kumcuoglu Z, Alper H. CT bronchus sign-guided bronchoscopic multiple diagnostic procedures in carcinomatous solitary pulmonary nodules and masses. Respiration; 65,49-55,1998

119. Zarbo, RJ, Fenoglio-Preiser, CM Institutional database for comparison of performance in lung fine-needle aspiration cytology: a College of American Pathologists Q-Probe study of 5264 cases with histologic correlation. Arch Pathol Lab Med; 116,463-470,1992.

120. Toloza EM, Harpole L, Detterbeck F, Maccroy DC. Invasive staging of nonsmall cell lungcancer A review of the current evidence. Chest 2003;123(1):157-166.

121. İÜ Cerrahpaşa tıp fakültesi sürekli tıp eğitimi etkinlikleri sempozyum. 2007;(58): 141-152.

122. Reed CE, Silvestri GA. Diagnosis and Staging of Lung Cancer. In: Shields TW, LoCicero III J, Ponn RB, Rusch VW, (eds). General Thoracic Surgery, 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins;2005:1534-47.

123. International Association For The Study of Lung Cancer (IASLC), Staging Manuel in Thoracic Oncology. Goldstraw P, 1st Edition, Florida, Editorial Rx Press, 2009.

124. Symposium on Intrathoracic Neoplasms, Mayo Foundation for Medical Education and Research. Mayo Clin Proc;68:1993.
125. Vigano A, Binera E, Jhangri GS. Clinical survival predictors in patients with advanced cancer. Arch Intern Med 2000;160: 861–868
126. Arrieta O, Michel Ortega RM, Villanueva-Rodríguez G. Association of nutritional status and serum albumin levels with development of toxicity in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with paclitaxel-cisplatin chemotherapy: a prospective study. BMC Cancer 2010;10: 50.
127. Neal CP, Mann CD, Sutton CD, Garcea G, Ong SL, Steward WP, Dennison AR, Berry DP: Evaluation of the prognostic value of systemic inflammation and socioeconomic deprivation in patients with resectable colorectal liver metastases. Eur J Cancer 2009;45: 56-64.
128. Schottenfeld D, Searle JG. The Etiology and Epidemiology of Lung Cancer. In: Pass HI, Carbone D, Johnson DH, Minna JD, Turrisi AT, (eds). Lung Cancer: Principles & Practice, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins;2005:3-24.
129. Mountain CF. New Prognostic factors in lung cancer. Biologic prophets of cancer cell aggression. Chest 1995;106:246-54
130. Nakamura H, Kawasaki N, Taguchi M and Kabasawa K: Association of HER-2 overexpression with prognosis in nonsmall cell lung carcinoma: a metaanalysis. Cancer 103: 1865-1873, 2005.
131. C-I Huang, T Taki, M Higashiyama, N Kohno, and M Miyake : p16 protein expression is associated with a poor prognosis in squamous cell carcinoma of the lung: British Journal of Medicine (2000) 82(2),374-380
132. Woenckhaus M¹, Merk J, Stoehr R, Schaeper F, Gaumann A, Wiebe K, Hartmann A, Hofstaedter F, Dietmaier W : Prognostic value of FHIT, CTNNB1, and MUC1 expression in non-small cell lung cancer: Hum Pathol. 2008 Jan;39(1):126-36. Epub 2007 Oct 18
133. Valsamo K Anagnostou, Frank J Lowery, Vassiliki Zolota, Vassiliki Tzelepi, Arun Gopinath, Camil Liceaga, Nikolaos Panagopoulos, Konstantina Frangia, et al.: High expression of BCL-2 predicts favorable outcome in non-small cell lung cancer patients with non squamous histology: BMC

134. Ping Zhan, Qian Qian, Benjamin Wan, Tristan D. Yan, Li-Ke Yu: Prognostic value of TTF-1 expression in patients with non-small cell lung cancer: a meta-analysis: Vol 2, No 1 (February 2013): Translational Cancer Research
135. Ponn RB, Lo Cicero III J, Daly BDT. Surgical treatment of non-small cell lung cancer. In: Shields TW, Lo Cicero III J, Ponn R, Rusch VW, editors. General thoracic surgery. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p. 1548–87.
136. Kris MG, Johnson BE, Berry LD, Kwiatkowski DJ, Iafrate AJ, Wistuba II, et al. Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs. *JAMA* 2014;311:1998–2006.
137. Paik PK, Arcila ME, Fara M, et al. Clinical characteristics of patients with lung adenocarcinomas harboring BRAF mutations. *J Clin Oncol.* 2011;29(15): 2046–2051.
138. Litvak A, Paik PK, Woo KM, Sima CS, Hellmann MD, Arcila ME, et al. Clinical characteristics and course of 63 patients with BRAF mutant lung cancers. *J Thorac Oncol* 2014;9(11):1669–74.
139. Gautschi O, Pauli C, Strobel K, Hirschmann A, Printzen G, Aebi S, et al. A patient with BRAF V600E lung adenocarcinoma responding to vemurafenib. *J Thorac Oncol* 2012;7:e23–4.
140. Lei Wang, Haichuan Hu, Yunjian Pan Rui Wang, Yuan Li, Lei Shen, 10.1371/journal.pone.0088291
141. Lina Zhang¹, Lei Shi, Xiaoting Zhao, Yue Wang, Wentao Yue. *OncoTargets and Therapy* 2013;6 497–502
142. Tatsuhiro Shibata, Akiko Kokubu, Koji Tsuta, Setsuo Hirohashi Volume 283, Issue 2, 8 October 2009, Pages 203–211
143. McMillan DC. Systemic inflammation, nutritional status and survival in patients with cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009; 12: 223–226.

144. Yamanaka T, Matsumoto S, Teramukai S et al. The baseline ratio of neutrophils to lymphocytes is associated with patient prognosis in advanced gastric cancer. *Oncology* 2007; 73: 215-220.
145. Nakahara Y, Mochiduki Y, Miyamoto Y et al. Prognostic significance of the lymphocyte-to neutrophil ratio in percutaneous fine-needle aspiration biopsy specimens of advanced non-small cell lung carcinoma. *Cancer* 2005; 104: 271–280.
146. M. Yildirim, M. Yildiz, E. Duman, S. Goktas, V. Kaya. *JBUON* 2013; 18(3): 728-732
147. Hua Zhang, Lianmin Zhang, Kaikai Zhu, Bowen Shi, Yuesong Yin, Jinfang Zhu. *PLOS ONE* | DOI:10. 1371/journal. pone.0126496 May 7, 2015.
148. Nicoś M, Powrózek T, Krawczyzak P, Jarosz B, Pajak B, Sawicki M, Kucharczyk K, Trojanowski T, and Milanowski J; Sensitive methods for detection of the S768R substitution in exon 18 of the *DDR2* gene in patients with central nervous system metastases of non-small cell lung cancer; *Med Oncol*. 2014; 31(10): 176. 2014 Aug 31. doi: 10.1007/s12032-014-0176-4
149. Yashima H, Shimizu K, Araki T, Aomori T, Ohtaki Y, Nagashima T, Enokida Y, Atsumi J, Nakamura T, Takeyoshi I. And Yamamoto K: Assessment of *DDR2*, *BRAF*, *EGFR* and *KRAS* mutations as therapeutic targets in non-adenocarcinoma lung cancer patients; *Molecular And Clinical Oncology* 2: 714-718714, 2014