

**T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KARSİNOMLARINDA “YENİ  
KUŞAK DNA DİZİ BELİRLENİMİ (NEXT GENERATION  
SEQUENCING – NGS)” YÖNTEMİ İLE KANSER HÜCRELERİNDEKİ  
DNA DEĞİŞİKLİKLERİNİN SAPTANMASI, DÖKÜMLENMESİ VE  
KLİNİKOPATOLOJİK VERİLER İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. AYSU SADIOĞLU**

**TEZ DANIŐMANI  
Doç. Dr. ÖZGÜR EKİNCİ**

**ANKARA  
MART 2020**

**T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KARSİNOMLARINDA “YENİ  
KUŞAK DNA DİZİ BELİRLENİMİ (NEXT GENERATION  
SEQUENCING – NGS)” YÖNTEMİ İLE KANSER HÜCRELERİNDEKİ  
DNA DEĞİŞİKLİKLERİNİN SAPTANMASI, DÖKÜMLENMESİ VE  
KLİNİKOPATOLOJİK VERİLER İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. AYSU SADIOĞLU**

**TEZ DANIŐMANI  
Doç. Dr. ÖZGÜR EKİNCİ**

**ANKARA  
MART 2020**



**Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tez Sınav Tutanağı**

Adı ve Soyadı	Aysu Sadioğlu
Baba Adı	Suphi
Doğum Yeri/Tarihi	Van / 20.06.1990
Diploma Tarihi / Diploma No	01.07.2015 / 45090
Mezun Olduğu Fakülte	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Tıbbi Patoloji
İhtisas Süresi	Yıl: 4
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

**UZMANLIK TEZİNİN ADI:**

Küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında "yeni kuşak DNA dizi belirlenimi (next generation sequencing – NGS)" yöntemi ile kanser hücrelerindeki DNA değişikliklerinin saptanması, dökümlenmesi ve klinikopatolojik veriler ile karşılaştırılması

**JÜRİ KARARI:** Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. Aysu Sadioğlu'nun "Küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında "yeni kuşak DNA dizi belirlenimi (next generation sequencing – NGS)" yöntemi ile kanser hücrelerindeki DNA değişikliklerinin saptanması, dökümlenmesi ve klinikopatolojik veriler ile karşılaştırılması" konulu tezi, bölümümüz araştırma görevlilerinden Dr. Aysu Sadioğlu tarafından sunulmuştur. Tez sınavında başarılı bulunmuştur. Uzmanlık sınavına girmesi uygundur. Gereğini bilgilerinize saygılarımızla arz ederiz.

**JÜRİ ÜYELERİ**

**BAŞKAN**

Prof. Dr. Özlem Erdem  
Prof. Dr. Özlem Erdem  
T.C. G.Ü.T.F. Gaziantep  
Tıbbi Patoloji ABD  
Dip. No: 11151

Doç. Dr. Sevgen ÖNDER  
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Patoloji Anabilim Dalı  
Dip. No: 9704-A-145

**ÜYE**

Doç. Dr. Özgür Ekinci

**ÜYE**

Prof. Dr. Nalan Akyürek

**ÜYE**

Doç. Dr. Sevgen Önder

## İÇİNDEKİLER

Teşekkür .....	vi
Kısaltmalar .....	vii
Tablolar Dizini .....	x
Şekiller Dizini.....	xii
Grafikler Dizini .....	xiii
Resimler Dizini .....	xiv
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. Akciğer kanseri ve etiyolojisi .....	2
2.2. Dünya Sağlık Örgütü 2015 Sınıflaması .....	2
2.3. Kromozomlar ve mutasyonlar hakkında genel bilgiler .....	14
2.4. Karsinogenezde ve rol oynayan genler .....	18
2.4.1. Onkogenез ve KHDAK' deki moleküler değişmeler.....	18
2.4.2. Tirozin kinaz reseptör genleri.....	21
2.4.3. Tirozin kinaz reseptörlerinin aracılık ettiği sinyal yolaklarında rol oynayan onkoproteinler.....	32
2.4.4. Tümör süpressör genler .....	36

2.4.5. Akciğer kanserinde immünoterapiye yönelik biyobelirteçler .....	39
2.5. Yeni nesil dizileme (YND) yöntemi .....	39
2.6. Akciğer kanserinde moleküler testler için uygun biyopsi seçimi ve yeterlilik kriterleri .....	45
3. GEREÇ ve YÖNTEM .....	51
3.1. Olguların seçilmesi ve verilerin toplanması .....	51
3.2. Morfolojik parametreler .....	51
3.3. Olguların hazırlanması .....	54
3.3.1. FFPG örneğinde DNA izolasyonu .....	54
3.3.2. Likit biyopsi örneğinde DNA izolasyonu .....	54
3.3.3. İzole edilen DNA'ların ölçümü .....	54
3.3.4. Dizileme basamakları .....	55
3.3.4.1. DNA'yı parçalama, tamir ve adaptör bağlama ....	55
3.3.4.2. Hedef zenginleştirme ve PCR ile amplifikasyon .	55
3.3.4.3. Dizileme aşaması.....	56
3.4. Verilerin yorumlanması .....	58
3.5. İstatistiksel Analiz .....	60
3.6. Etik kurul onayı .....	60

4. BULGULAR .....	61
4.1. Hastaların demografik verileri ve klinik özellikleri .....	61
4.2. Primer ve metastatik tümörlerin belirlenmesi ve materyalin örneklenme şekilleri .....	61
4.3. Dokulardaki tümör hücre oranları .....	62
4.4. Tanıların analizi .....	63
4.5. Alt tip analizi .....	63
4.5.1. Adenokarsinomlardaki alt tiplerin analizi .....	63
4.5.2. Skuamöz hücreli karsinomdaki alt tip analizi .....	64
4.6. Gen değişikliklerinin analizi .....	67
4.7. Tanılara göre gen değişikliklerinin analizi .....	88
4.7.1. Adenokarsinom tanı grubunda saptanan gen değişikliklerinin analizi .....	88
4.7.2. Skuamöz hücreli karsinom tanı grubunda saptanan gen değişikliklerinin analizi .....	99
4.7.3 Adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinom tanısı dışındaki akciğer kanserlerinde gen değişikliklerinin analizi .....	100
4.8. Adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinomlardaki gen değişikliklerinin karşılaştırılması .....	102

4.9. Cinsiyete göre gen değişikliği görölme sıklığı .....	105
4.10. Yaş a göre gen değişikliği görölme sıklığı .....	107
4.11. Adenokarsinomların alt tiplerine göre gen değişikliği görölme sıklıkları .....	108
4.12. Tümör hücre oranlarının gen değişikliği karşılaştırılması .....	112
4.13. Mutasyonların birlikte görölme sıklığı.....	115
5. TARTIŞMA .....	119
5.1. Küçük hücreli dış ı akciğer kanserinde görülen gen değişikliklerinin sıklığının yorumlanması .....	119
5.2. Tümör hücre oranlarının gen değişikliği saptamadaki etkisi .....	129
5.3. Cinsiyet ve gen değişkenliği arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi	131
5.4. Yaş ve gen değişkenliği arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi .....	133
5.5. KHDAK'ler ile gen değişkenliği arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi .....	134
5.5.1. Adenokarsinomlar ile gen değişkenliği arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi .....	134
5.5.1.1. İnvaziv müssinöz adenokarsinomların moleküler profil ..	135
5.5.1.2. Taşlı yüzük hücreli adenokarsinomların moleküler profil .....	136

5.5.1.3. Adenokarsinomların alt tiplerindeki gen değışikliklerinin karşılaştırılması .....	136
5.5.2. Skuamöz hücreli karsinomlar ile gen değışikleri arasındaki ilişkinin değeriendirilmesi .....	138
5.5.3. Adenokarsinomlar ve skuamöz hücreli karsinomlardaki gen değışikliklerinin karşılaştırılması .....	139
5.5.4. Büyük hücreli nöroendokrin karsinomların moleküler profili .....	140
5.5.5. Akciğerin sarkomatoid ve pleomorfik karsinomlarının moleküler profili .....	141
5.5.6. Büyük hücreli karsinomun moleküler profili .....	142
5.6. Mutasyon birliktelikleri .....	142
6. SONUÇLAR .....	146
7. KAYNAKLAR .....	149
8. ÖZET .....	166
9. SUMMARY .....	168
10. ÖZGEÇMİŞ .....	170

## TEŞEKKÜR

Patoloji uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan başta tez hocam Doç. Dr. Özgür EKİNCİ ve tez sürecime büyük katkıları olan Prof. Dr. Nalan AKYÜREK olmak üzere, sayın hocalarım Prof. Dr. Ömer ULUOĞLU, Prof. Dr. Leyla MEMİŞ, Prof. Dr. Ayşe DURSUN, Prof. Dr. Gülen AKYOL, Prof. Dr. Aylar POYRAZ, Prof. Dr. Özlem ERDEM, Prof. Dr. İpek IŞIK GÖNÜL, Doç. Dr. Güldal ESENDAĞLI, Doç. Dr. Pınar UYAR GÖÇÜN, Öğr. Gör. Dr. Arda İnan ve Öğr. Gör. Dr. Betül Öğüt'e, keyifle çalıştığım, karşılıklı sevgi ve saygı ile tüm problemlerimizi çözdüğümüz, patolojiye gönül veren uzman olmuş patolog ve halen araştırma görevlisi olarak çalışan sevgili hekim arkadaşlarıma, bizlere yardımcı olan tüm Gazi Üniversitesi Tıbbi Patoloji Bölümü sekreterlerine ve laboratuvar personellerine, değerli büyüğüm Tekn. Abdülbaki Akgül'e, benim bugünlere gelmem için tüm fedakarlıkları gösteren, maddi ve manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen canım annem, babam, ablam ve enişteme, varlığıyla hayatımı güzelleştiren canım yeğenime, hayata dair çok şey öğrendiğim teyzem Mehtap Güney'e ve son olarak hayatıma ortak olduğu günden bugüne her aşamada arkamda ve karşıma çıkan her zorlukta sabırla yanımda olan, naif ruh eşim Erkan Sadioğlu'na en içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

## KISALTMALAR

<b>AACR</b>	Amerikan Kanser Araştırmaları Derneği
<b>ADK</b>	Adenokarsinom
<b>AİS</b>	Adenokarsinoma in situ
<b>AKT</b>	Protein kinaz B
<b>ALK</b>	Anaplastik lenfoma kinaz
<b>AMP</b>	Moleküler Patoloji Derneği
<b>BHK</b>	Büyük hücreli karsinom
<b>BHNEK</b>	Büyük hücreli nöroendokrin karsinom
<b>c</b>	Kodlanan DNA
<b>CAP</b>	Amerika Patoloji Derneği
<b>CDK4</b>	Siklin bağımlı kinaz 4
<b>COSMIC</b>	Kanserdeki Somatik Mutasyon Kataloğu
<b>CSF1R</b>	Makrofaj koloni stimüle edici faktör reseptörü
<b>DDR2</b>	“Discoidin” alanı tirozin kinaz reseptörü 2
<b>Del</b>	Delesyon
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>DSÖ</b>	Dünya Sağlık Örgütü
<b>Dup</b>	Duplikasyon
<b>EGFR</b>	Epidermal büyüme faktör reseptörü
<b>ERK</b>	Hücre dışı sinyal regülasyonlu kinaz
<b>ESMO</b>	Avrupa Tıbbi Onkoloji Derneği
<b>ESR</b>	Östrojen reseptör alfa
<b>FGFR</b>	Fibroblast büyüme faktör reseptörü
<b>FISH</b>	Floresan in situ hibridizasyon
<b>FLT3</b>	FMS benzeri tirozin kinaz 3
<b>g</b>	Genomik DNA
<b>HIF-1 alfa</b>	Hipoksi indüklenbilir faktör-1 alfa
<b>IASLC</b>	Uluslararası Akciğer Kanseri Araştırmaları Derneği
<b>ICGC</b>	Uluslararası Kanser Genom Birliği

<b>İHK</b>	İmmünohistokimya
<b>İndel</b>	İnsersiyon/delesyon
<b>İns</b>	İnsersiyon
<b>İnv</b>	İnversiyon
<b>KHAK</b>	Küçük hücreli akciğer karsinomu
<b>KHDAK</b>	Küçük hücreli dışı akciğer karsinomu
<b>KRAS</b>	Kristen rat sarkomu viral onkogen homolog gen
<b>LOH</b>	Heterozigosite Kaybı
<b>LKB1</b>	Karaciğer kinaz B1
<b>m</b>	Mitokondrial DNA
<b>MAPK</b>	Mitojen aktifleştiren protein kinaz
<b>MET</b>	Mezenkimal epithelyal tranzisyon faktörü
<b>MİA</b>	Mikroinvaziv adenokarsinom
<b>NET</b>	Nöroendokrin tümör
<b>PCR</b>	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>PDGFR</b>	Platelet kaynaklı büyüme faktör reseptörü alfa
<b>PI3K</b>	Fosfoinositid 3-kinaz
<b>PIP3</b>	Fosfatidilinositol 3,4,5-Trifosfataz
<b>p</b>	Protein
<b>PTEN</b>	Fosfat ve tensin homologu
<b>Q skoru</b>	Kalite skoru
<b>QCI</b>	QIAGEN Clinical Insight
<b>RNA, r</b>	Ribonükleik asit
<b>ROS1</b>	Proto-onkogen tirozin-protein kinaz 1
<b>SHK</b>	Skuamöz hücreli karsinom
<b>SNV</b>	Tek nükleotid değişimi
<b>STK11</b>	Serin/treonin kinaz 11
<b>t</b>	Translokasyon
<b>TCGA</b>	Kanser Genom Atlas
<b>TKİ</b>	Tirozin kinaz inhibitörü
<b>TMB</b>	Tümör mutasyon yükü

<b>TTF-1</b>	Tiroid transkripsiyon faktörü
<b>VEGF</b>	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
<b>YND</b>	Yeni nesil dizileme

## TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Akciğerin epitelyal tümörlerinin 2015 DSÖ sınıflaması.....	3
Tablo 2: Çalışmamızdaki hastaların verileri .....	65
Tablo 3: Tek saptanan <i>EGFR</i> mutasyonlarının sıklığı .....	70
Tablo 4: İki <i>EGFR</i> mutasyon birlikteliği .....	72
Tablo 5: Üç <i>EGFR</i> mutasyon birlikteliği .....	74
Tablo 6: KHDAK'lerde <i>EGFR</i> amplifikasyonu ile birliktelik gösteren <i>EGFR</i> mutasyonları ve sıklığı .....	76
Tablo 7: <i>EGFR</i> mutasyonu ile <i>EGFR</i> amplifikasyon durumlarının karşılaştırılması .....	78
Tablo 8: <i>KRAS</i> mutasyon sıklığı .....	80
Tablo 9: ADK'lerde tek <i>EGFR</i> mutasyon sıklığı .....	89
Tablo 10: ADK'lerde iki <i>EGFR</i> mutasyon sıklığı .....	91
Tablo 11: ADK'lerde üç <i>EGFR</i> mutasyon sıklığı .....	92
Tablo 12: ADK'lerde <i>EGFR</i> amplifikasyonu ile birliktelik gösteren <i>EGFR</i> mutasyonları ve sıklığı .....	93
Tablo 13: ADK'lerde <i>KRAS</i> mutasyonlarının sıklığı .....	96
Tablo 14: Cinsiyete göre tanı grupları .....	98
Tablo 15: Gen değişikliklerinin cinsiyete göre sıklığı .....	107

Tablo 16: Alt tiplerdeki gen değişikliklerinin sıklığı .....	111
Tablo 17: Tümör hücre oranları ile saptanan gen değişikliğinin karşılaştırılması .....	114
Tablo 18: <i>EGFR</i> gen değişikliği ile <i>KRAS</i> mutasyon durumlarının karşılaştırılması .....	116
Tablo 19: <i>PIK3CA</i> mutasyonu ile <i>KRAS</i> mutasyon durumlarının karşılaştırılması .....	117
Tablo 20: <i>STK11</i> mutasyonu ile <i>KRAS</i> mutasyon durumlarının karşılaştırılması .....	118

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: KHDAK'lerde moleküler test algoritması .....	20
Şekil 2: <i>EGFR</i> TKİ'lerine duyarlı ve dirençli mutasyonlar .....	23
Şekil 3: ErbB ailesi reseptör tirozin kinazlar ve hücre içi sinyal yolları	27
Şekil 4: <i>BRAF</i> proteininin yapısı ve mutasyonlarının yerleşim yerleri. .....	34
Şekil 5: Akciğer ADK'deki yollar .....	39
Şekil 6: Somatik mutasyonların kanıta dayalı sınıflandırılması .....	45
Şekil 7: Tümör panellerinin listesi .....	57

## GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1: Analiz edilen bir vakanın kalite skoru .....	59
Grafik 2: KHDAK'larında <i>EGFR</i> mutasyonlarının görülme sıklığı .....	69
Grafik 3: Hastalardaki <i>EGFR</i> gen değişikliklerinin yüzdeleri .....	75
Grafik 4: KHDAK'lerde genel gen değişikliklerinin görülme sıklığı .....	87
Grafik 5: ADK'lerdeki gen değişiklik sıklığı .....	95
Grafik 6: İnvaziv müsinöz adenokarsinomlardaki gen değişiklik sıklığı ..	97
Grafik 7: SHK'lerdeki gen değişiklik sıklığı .....	100
Grafik 8: ADK ve SHK'lerde görülen gen değişikliklerinin karşılaştırılması .....	104

## RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Lepidik patern H&E x100 .....	7
Resim 2: Asiner patern H&E x100 .....	7
Resim 3: Papiller patern H&E x100 .....	7
Resim 4: Mikropapiller patern H&E x100 .....	8
Resim 5: Solid patern H&E x100 .....	9
Resim 6: Kribriform patern H&E x200 .....	9
Resim 7: Hücre bloğu, tümör hücre oranı %5, H&E x12,5 .....	52
Resim 8: Akciğer rezeksiyonu, tümör hücre oranı %30, H&E x12,5 .....	52
Resim 9: Akciğer rezeksiyonu, tümör hücre oranı %85, H&E x12,5 .....	53

## 1. GİRİŞ

Akciğer kanseri, tüm dünyada erkeklerde en sık görülen kanserdir ve her iki cinsiyette de kansere bağlı ölümlerin en sık nedenidir (1, 2).

Akciğer kanserlerinin %80-85'ini küçük hücreli dışı akciğer karsinomları (KHDAK), KHDAK'lerin ise %50'sinden fazlasını adenokarsinomlar oluşturur (3). KHDAK'lerin birçok tipi olmasına rağmen uzun yıllar boyunca standart yöntemler ile tedavi edilmiştir. Son yıllarda KHDAK patogenezindeki bilgilerin artması, tirozin kinaz reseptörleri ve hücre içi sinyal yollarını hedefleyen ajanların gelişmesi ile hedefe yönelik kişiselleştirilmiş tedavi gündeme gelmiştir (4).

*Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), Kirsten rat sarkomu viral onkogen homolog gen (KRAS) mutasyonları ve Anaplastik lenfoma kinaz (ALK) translokasyonları, akciğer kanserinde belirlenen en eski genomik değişiklikler olup bu liste son 5 yılda önemli ölçüde artış göstermiştir.*

Çalışmamızda KHDAK örneklerine 2018-2019 yılları arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda akciğer kanseri için uygun hedef panel kullanılarak yeni nesil dizileme (YND) yöntemi uygulandı. Kanser hücrelerinde saptanan gen değişiklikleri, bunların histolojik tiplerle olan ilişkisi ve sıklıkları belirlenip bu veriler literatürle karşılaştırıldı.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Akciğer kanseri etiyojisi**

Sigara özellikle akciğer kanserinin gelişmesinin ana nedenidir (5). Akciğer kanseri olan hastaların %10-25'i yaşamı boyunca 100 adetten az sigara içen bireylerden ya da hiç sigara içmemiş olan gruptan oluşur. Bu grupta genellikle kadın cinsiyet ve ADK tanısı baskın olup aile öyküsü, postmenapozal hormon replasman tedavisi, çevresel tütün dumanı, radon maruziyeti, hava kirliliği, fosil ve kömür yakıtlarından açığa çıkan aromatik hidrokarbonlar, asbest, yemeklik yağ dumanı, tüberküloz, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, amfizem, kronik bronşit öyküsü, düşük sosyoekonomik düzey ya da iyonize radyasyon gibi sigara dışı risk faktörleri rol oynamaktadır (6).

### **2.2. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2015 sınıflaması**

DSÖ'nün 2015 yılındaki sınıflama sisteminde akciğer kanserleri genel olarak küçük hücreli akciğer karsinomu (KHAK) ve KHDAK olmak üzere 2 gruba ayrılır. KHDAK %80, KHAK ise %20 oranında görülür. KHDAK olan hastalara cerrahi ve adjuvan tedavi yapılırken, KHAK'lerde öncelikle neoadjuvan tedavi uygulanır. DSÖ'nün 2015 akciğer kanser sınıflamasındaki epitelial tümörler Tablo 1'de gösterilmiştir (3, 7).

**Tablo 1. Akciğerin epitelyal tümörlerinin 2015 DSÖ sınıflaması**

<b>Akciğerin Epitelyal Tümörleri</b>	<b>ICD-O kodu</b>
Histolojik Tip ve Alt Tipler	
Adenokarsinom	8140/3
Lepidik adenokarsinom	8250/3 <sup>d</sup>
Asiner adenokarsinom	8551/3d
Papiller adenokarsinom	8260/3
Mikropapiller adenokarsinom	8265/3
Solid adenokarsinom	8230/3
İnvaziv müsinöz adenokarsinom	8253/3d
Mikst invaziv müsinöz ve müsinöz dışı adenokarsinom	8254/3d
Kolloid adenokarsinom	8480/3
Fetal adenokarsinom	8333/3
Enterik adenokarsinom	8144/3
Minimal invaziv adenokarsinom	
Müsinöz dışı	8256/3d
Müsinöz	8257/3d
Preinvaziv lezyonlar	
Atipik adenomatöz hiperplazi	8250/0d
Adenokarsinoma in situ	
Müsinöz dışı	8250/2d
Müsinöz	8253/2d
Skvamöz hücreli karsinom	8070/3
Keratinize skuamöz hücreli karsinom	8071/3
Keratinize olmayan skuamöz hücreli karsinom	8072/3
Bazaloid skuamöz hücreli karsinom	8083/3
Preinvaziv lezyon	
Skvamöz hücreli karsinoma in situ	8070/2
Nöroendokrin tümörler	
Küçük hücreli karsinom	8041/3
Kombine küçük hücreli karsinom	8045/3
Büyük hücreli nöroendokrin karsinom	8013/3
Kombine büyük hücreli nöroendokrin karsinom	8013/3
Karsinoid tümörler	
Tipik karsinoid tümör	8240/3
Atipik karsinoid tümör	8249/3
Preinvaziv lezyon	
Diffüz idiyopatik pulmoner nöroendokrin hücre hiperplazisi	8040/0d
Büyük hücreli karsinom	8012/3

Adenoskuamöz karsinom	8560/3
Sarkomatoid karsinom	
Pleomorfik karsinom	8022/3
İğsi hücreli karsinom	8032/3
Dev hücreli karsinom	8031/3
Karsinosarkom	8980/3
Pulmoner blastom	8972/3
Diğer ve Sınıflanamayan karsinomlar	
Lenfoepitelioma benzeri karsinom	8082/3
NUT karsinom	8023/3d
Tükrük bezi tipi tümörler	
Mukoepidermoid karsinom	8430/3
Adenoid kistik karsinom	8200/3
Epitelyal myoepitelyal karsinom	8562/3
Pleomorfik adenom	8940/0
Papillomlar	
Skuamöz hücreli papillom	8052/0
Egzofitik	8052/0
İnverted	8053/0
Glandüler papillom	8260/0
Mikst skuamöz ve glandüler papillom	8560/0
Adenomlar	
Sklerozan pnömositom	8832/0
Alveoler adenom	8251/0
Papiller adenom	8260/0
Müsinöz kistadenom	8470/0
Müsinöz gland adenomu	8480/0

ADK, akciğer kanserinin en sık tipi olup tüm akciğer kanserlerinin %40'ını, KHDAK'lerin ise %60'ını oluşturur. Genellikle akciğerin periferinde lokalizedir ve plevral çekintiye yol açarlar. Santral yerleşimli, diffüz lobüler konsolidasyon şeklinde, bilateral-multinodüler ya da plevral kalınlaşmalar şeklinde de görülebilirler (3, 7).

Glandüler yapılanmalar ve müsin üretimi akciğer ADK'leri için tanımlanan başlıca iki özelliktir (3, 7). Pnömosit kökenli olmaları sebebiyle

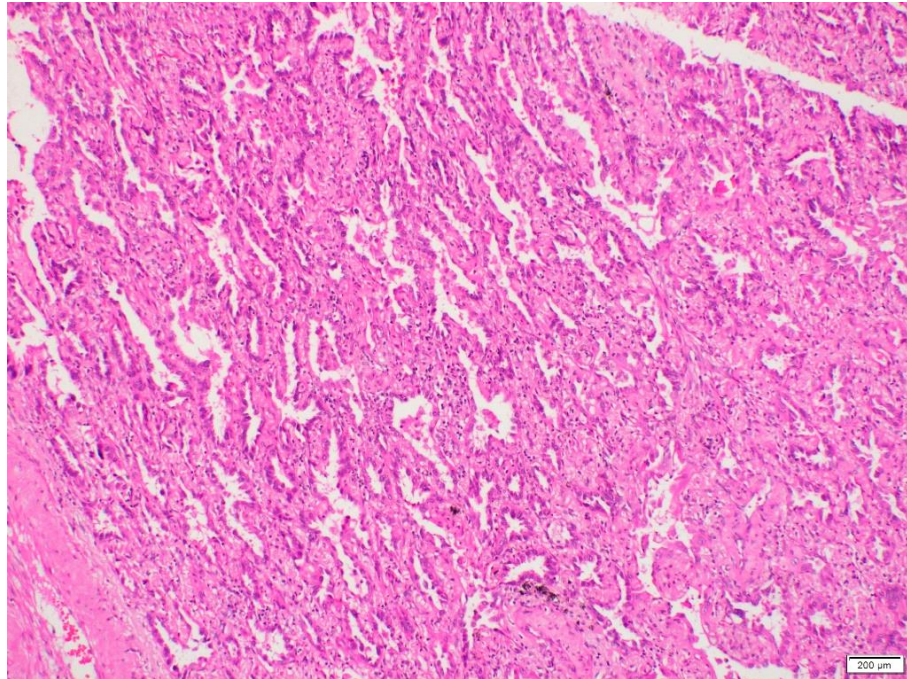
ADK'lerin %80'i tiroid transkripsiyon faktörü (TTF-1) ve Napsin-A eksprese ederler (8).

Adenokarsinoma in situ (AİS) 3 cm'den küçük, lepidik büyüme paternine sahip olan ve vasküler, stromal ya da plevral invazyon içermeyen tümörler için kullanılır. Bu özelliklerdeki bir tümör 5 mm'den küçük bir odakta invaziv büyüme gösterir ise tümör mikroinvaziv adenokarsinom (MİA) olarak adlandırılır. İnvazyon alanında genellikle desmoplastik bir stroma mevcut olup, invaziv olan komponent lepidik dışı (örn. asiner, papiller, mikropapiller veya solid) paterne sahiptir. MİA'da tümör nekrozu, lenfovasküler invazyon ve plevral invazyon olmamalıdır. Hem AİS hem de MİA'da 5 yıllık sağ kalım %100'dür (9).

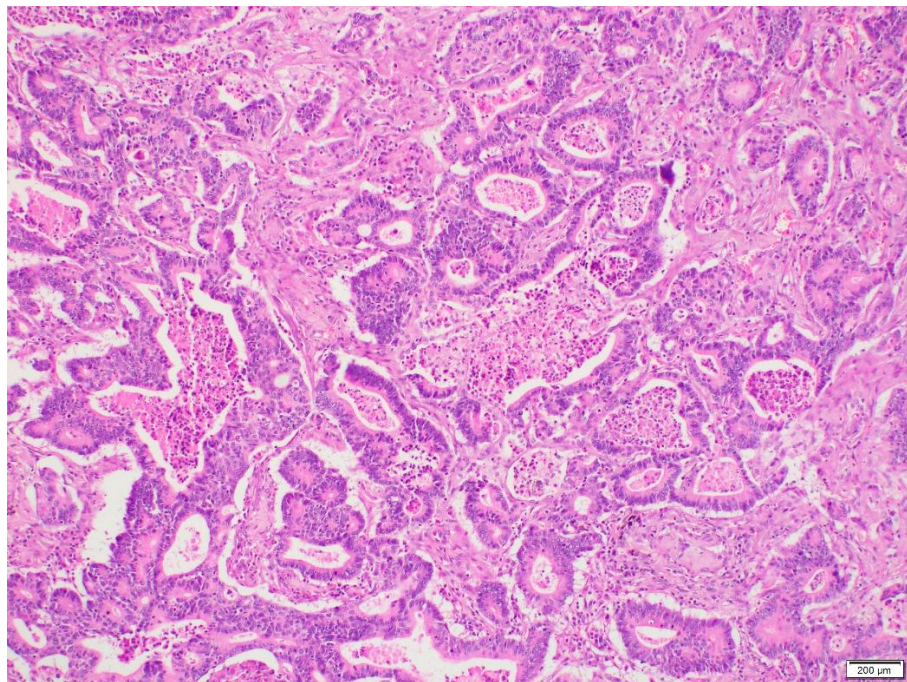
İnvaziv ADK'ler büyüme paternlerine göre lepidik, asiner, papiller, mikropapiller, solid olmak üzere 5 gruba ayrılır (10). Lepidik patern en iyi prognozlu alt tip iken asiner ve papiller patern daha kötü prognoza sahiptir. En kötü prognozlu olan alt tipler ise mikropapiller ve solid paternlerdir (9, 11).

Lepidik patern, akciğer ADK'lerinde sıklıkla görülen bir alt tiptir. Alveoler yapı korunmuştur ve bazen de sklerotik kalınlaşmış alveoler septalar oluştururlar. Daha önceki 2004 Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) sınıflamasında bronkioalveoler karsinom olarak adlandırılan tümörler lepidik patern adenokarsinom olarak isimlendirilmiştir (Resim 1) (3, 7).

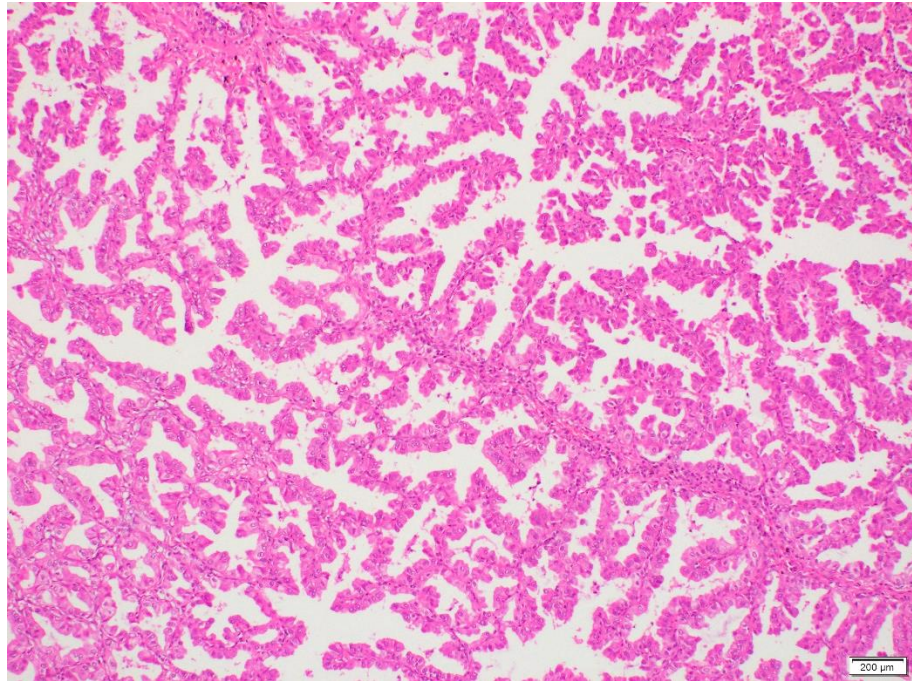
Asiner patern, en sık görülen alt tiptir. Fibroelastik bir stroma içinde klasik glandüler yapılar oluşturur (Resim 2) (3, 9). Papiller patern, dallanan fibrovasküler korlar çevresini kaplayan tümör hücrelerinden oluşur. Fibrovasküler kor, papiller paterni mikropapiller paternden ayırmada yardımcı olur (Resim 3) (3, 9). Mikropapiller patern, fibrovasküler korları olmadan çıkıntılar oluşturan hücre kümelerinden meydana gelir. Psammom cisimcikleri görülebilir ve diğer alt tiplere göre daha kötü prognozludur (Resim 4) (12-14). Solid paternde tümör hücreleri tabakalar oluşturur. Pnömositik belirteçleri eksprese eden az diferansiye alt tip olarak tanımlanır (Resim 5) (3, 9). Kribriform patern sonradan tanımlanan bir alt tip olup DSÖ'nün sınıflamasında henüz yer almamaktadır. Solid bileşen olmaksızın glandüler lümenlerin bulunduğu, invaziv sırt sırta birleşen tümör glandları şeklinde tanımlanır. Kribriform paterni baskın olan adenokarsinomların, asiner baskın paterne göre daha kötü prognozlu oldukları gösterilmiştir (15, 16) (Resim 6).



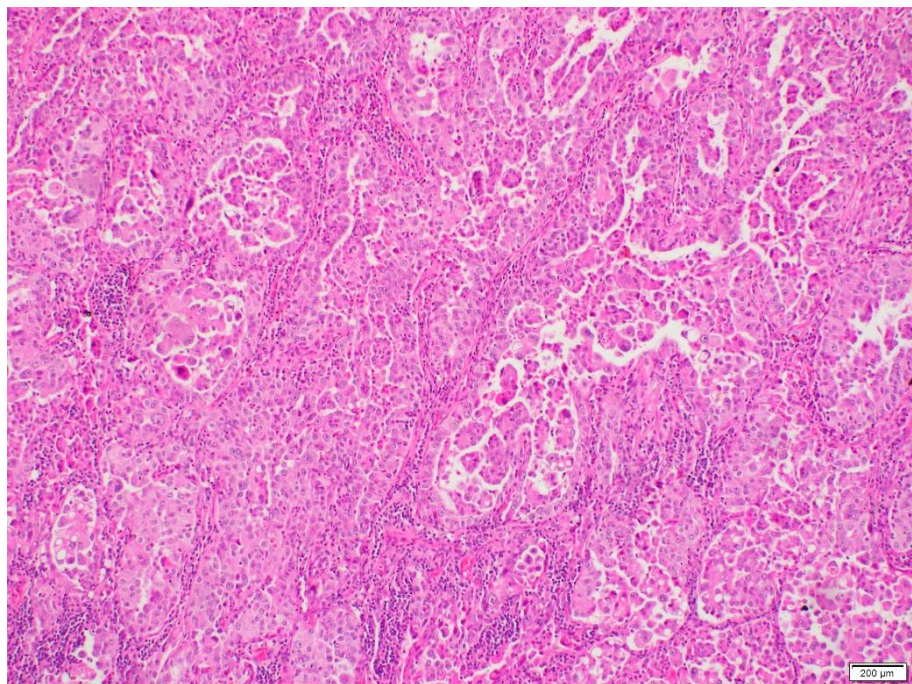
**Resim 1: Lepidik patern H&E x100**



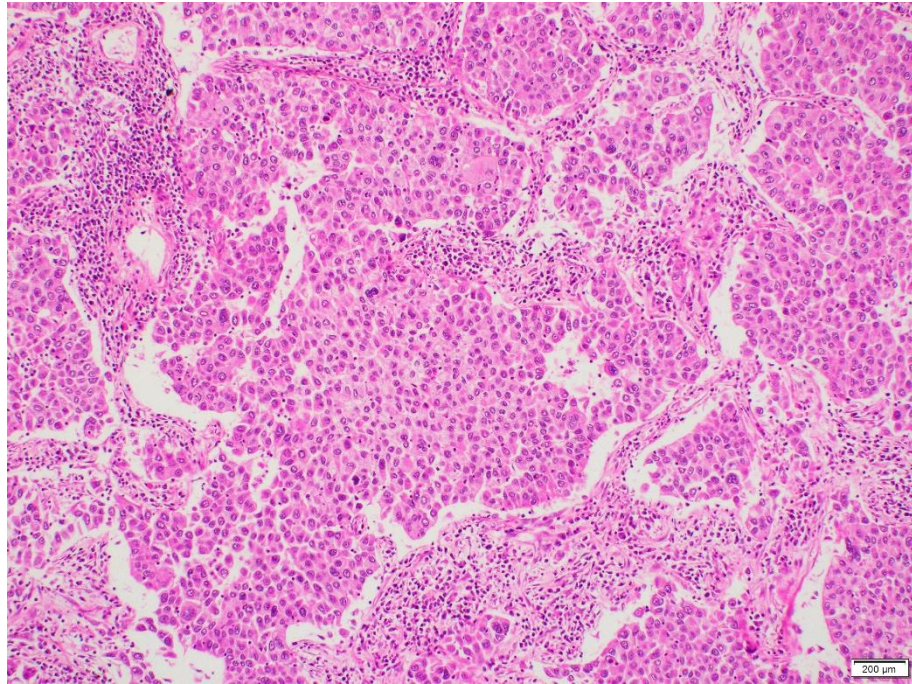
**Resim 2: Asiner patern H&E x100**



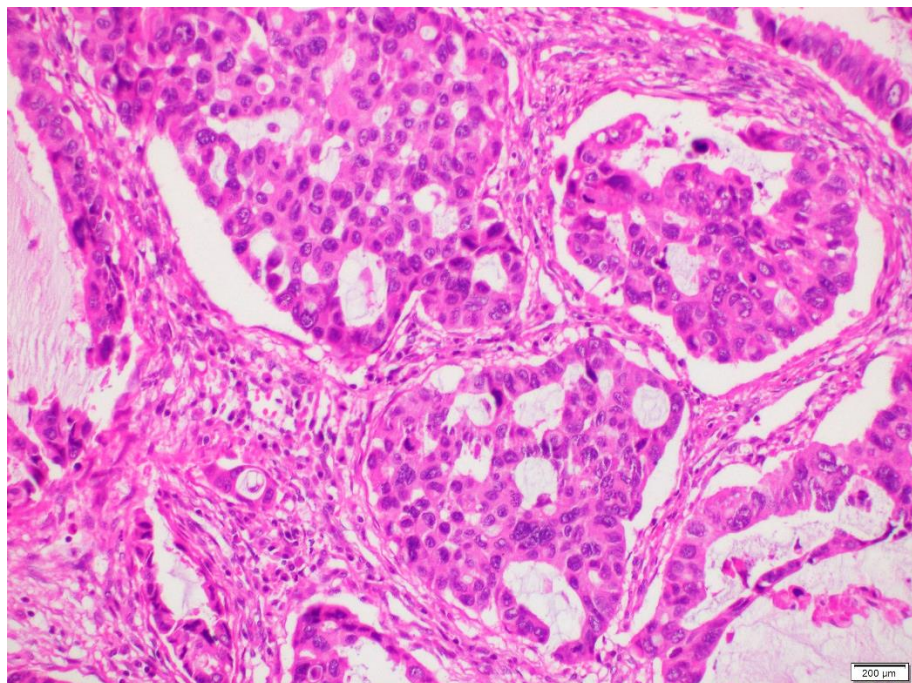
**Resim 3: Papiller patern H&E x100**



**Resim 4: Mikropapiller patern H&E x100**



**Resim 5: Solid patern H&E x100**



**Resim 6: Kribriiform patern H&E x200**

İnvaziv müsinöz, enterik, kolloid ve fetal adenokarsinomlar, invaziv ADK'lerin nadir varyantlarıdır. İnvaziv müsinöz adenokarsinom, bol miktarda intrasitoplazmik müsin içeren kolumnar hücrelerden oluşur. İmmünohistokimyasal olarak TTF-1 negatiftir. Moleküler profili kolon adenokarsinomları ile benzerdir (3, 17).

Kolloid ADK, alveol boşluklarında, müsin gölcükleri içerisinde invaziv tümör hücrelerinden oluşur. Genellikle intestinal belirteçler eksprese olurken TTF-1 ve keratin 7 ekspresyonları değişkendir (3).

Fetüs akciğerine benzeyen fetal ADK, düşük dereceli ise saf fetal tipte iken yüksek dereceli ise en az %50 oranında invaziv ADK komponenti eşlik eder. Subnükleer glikojenden zengin vakuoller içeren ve kompleks glandüler yapılar oluşturan tümör hücreleri görülür. TTF-1 ve nükleer beta-katenin ekspresyonu gösterir (3, 18).

Enterik ADK, kolorektal ADK benzeri histolojik görünüme sahip olup ilk olarak Tsao ve ark. tarafından tanımlanmıştır (19). Fırçamsı kenara sahip, veziküler nükleuslu, eozinofilik sitoplazmalı, uzun kolumnar tümör hücrelerine sahiptir. Nekroz bulundurabilen asiner, kribriform ya da tübülopapiller paternler oluşturur. İmmünohistokimyasal olarak, tümördeki enterik diferansiyasyon nedeniyle CDX2, Keratin 20 ve Villin ekspresyonu görülebilir (3).

Skvamöz hücreli karsinom (SHK), akciğer kanserlerinin %20'sini oluşturur (20). Sigara içme insidansındaki düşüş nedeniyle görülme oranı

son yıllarda azalmıştır. Genellikle akciğerin santralinde yerleşim gösterir. Morfolojik olarak keratinizasyon ve hücreler arası köprülerin görülmesi ile tanı konur. Tümör hücreleri geniş sitoplazmalı ve belirgin nükleollüdür. Keratinize SHK'de keratin oluşturan yuvalar ya da tek hücre keratinizasyonu görülür. Keratinize olmayan SHK'yi büyük hücreli karsinomdan ayırt edebilmek için immünohistokimyasal yöntem ile p40, keratin 5/6 ve p63 gibi SHK belirteçleri kullanılmalıdır. Bazaloid SHK, az diferansiye olup periferdeki hücrelerin palizatlanma gösterdiği lobüller yapılanmalar oluşturan bir SHK alt tipidir. Tümör hücreleri, küçük, monomorfik, küboidal ya da füziform şekilli, genellikle nükleol içermeyen hiperkromatik nükleusludur (3). SHK'ler ADK'ye göre daha iyi prognozludur (9).

Büyük hücreli karsinom (BHK), tüm akciğer kanserlerinin %3'ünden azını oluşturur (21). Sitolojik, yapısal ve immünohistokimyasal olarak adenokarsinom, SHK ve KHK özelliklerine sahip olmayan az diferansiye bir karsinomdur. Akciğerin periferinde yerleşir. Çoğunlukla solid tabakalar ya da yuvalar şeklinde görülür ve nekroz içerebilir. Küçük biyopsilerde ve sitolojik materyallerde KHDAK, sınıflanamayan olarak tanı verilmelidir (3). BHK'lerin solid ADK ile benzer moleküler değişiklikler gösterdiği belirtilmektedir (22).

Adenoskuamöz karsinomlar, tüm akciğer karsinomlarının %5'inden azında görülür (9). Her iki karsinom komponenti de tümörün %10'undan

fazla olmalıdır. ADK ile benzer genetik mutasyonlar görülür (3). ADK ya da SHK'ye göre daha kötü prognozludur (23).

Pleomorfik, iğsi hücreli ve dev hücreli karsinom, tüm akciğer karsinomlarının %3'ünden azında görülür. İğsi, dev hücreli ya da pleomorfik hücreler, sarkomatoid farklılaşma sonucu oluşur. Bu isimlendirme rezeksiyon materyalinde yapılmalıdır (3, 10). Primer bir pulmoner sarkomu ekarte etmek için tümörün keratin (pansitokeratin, keratin 7 vb.) ya da epitelyal membran antijen (EMA) ekspresyonu olduğunun gösterilmesi gerekir. Diğer KHDAK'lerden daha kötü prognoza sahiptir (24).

Karsinosarkom, KHDAK yanı sıra rabdomyosarkom, kondrosarkom ya da osteosarkom gibi bir sarkom komponentinin bulunmasıdır.

Pulmoner blastom, fetal adenokarsinom ile primitif mezenkimal stromanın birlikte bulunduğu bir akciğer tümörüdür (3).

Sınıflanamayan karsinomların başında lenfoepitelyoma benzeri karsinom gelir. Epstein Barr Virüs ilişkili lenfoid infiltrasyonun belirgin olarak bulunduğu, sinsityal büyüme paternindeki, veziküler nükleuslu, belirgin eozinofilik nükleollü, skuamöz ve iğsi hücre diferansiyasyonu olan tümör hücrelerinden oluşur. NUT karsinom, *NUT* gen yeniden düzenlemesi bulunan tümörler olup, agresif gidişli ve kötü prognozludur. Tabakalar ve adalar şeklinde dizilim gösteren, küçük-orta çaplı monomorfik, düzensiz nükleer kontürlere sahip, kaba granüler nükleuslu hücrelere sahiptir (3).

Bronşiyal glandlar ile tükrük bezlerinin analog olmaları nedeniyle akciğerde, tükrük bezindeki tümörlere benzer özellikte olan mukoepidermoid karsinom, adenoid kistik karsinom ve epitelyal myoepitelyal karsinomlar da görülebilir (3).

Nöroendokrin tümör (NET) grubu akciğerdeki kanserlerin %20-25'ini oluşturur (25). Tipik karsinoid, atipik karsinoid, KHK ve büyük hücreli nöroendokrin karsinom (BHNEK) olarak 4 ana kategori mevcuttur. Düşük dereceli NET grubunda tipik karsinoid, orta dereceli NET grubunda atipik karsinoid, yüksek dereceli NET grubunda ise KHK ve BHNEK bulunmaktadır (26). Düşük, orta ya da yüksek dereceli NET'ler temel olarak mitoz ve Ki67 proliferasyon oranlarına göre gruplanır.

Tipik karsinoid tümör, organoid adalar, rozetler, trabeküller oluşturan monoton hücrelerden meydana gelir. Mitoz 10 büyük büyütme alanında (BBA) 2'nin altında, Ki67 proliferasyon indeksi ise %4-5'den azdır. Atipik karsinoid morfolojik olarak tipik karsinoide benzer görünümde olup fokal ya da noktasal tümör nekrozu içerebilir. Mitoz 10 BBA'da 2-10 adet görülürken Ki67 proliferasyon oranı %20-25'den azdır.

KHK, küçük boyutlu, ince granüler kromatine sahip, nükleolleri belirgin olmayan, dar sitoplazmalı 10 BBA'da 10'un üzerinde mitoz içeren ve Ki-67 proliferasyon indeksi %50'nin üzerinde olan yüksek dereceli nöroendokrin karsinom kategorisinde yer alır.

BHNEK, KHK'ye göre daha büyük boyutlu hücrelerden oluşmaktadır. Geniş eozinofilik sitoplazmaları ve belirgin nükleolleri bulunur. Mitoz 10 BBA'da 10'un üzerinde olup Ki-67 proliferasyon indeksi %40'dan fazladır (9).

### **2.3. Kromozomlar ve mutasyonlar hakkında genel bilgiler**

Kromozomlar, proteinlerle kompleks halde bulunan çift zincirli deoksiribonükleik asitten (DNA) oluşur. Genom, DNA'nın  $10^9$  baz çiftlik kısmını ifade eder. İnsan genomu 46 kromozom (2N) içerir. 22 otozomal kromozom ve 2 seks kromozomu vardır. İnsan genomunda yaklaşık 35.000 adet gen bulunur (27, 28).

Her kromozom, 2 adet uzun kol, 2 adet kısa kol, 1 adet sentromer ve çok sayıda telomer içerir. Sentromer, iki kardeş kromatidin birleştiği daraltılmış bölgedir. Kısa ve uzun kolları birbirinden ayırır. Mitozda kromozomların mitotik iğciğe bağlanması ve kromozom ayrılması için gerekli bölgedir. Telomer, kromozom uçlarında bulunan heterokromatik DNA bölgeleridir. Kromozom uçlarındaki bozulmaya ve kromozomların yanındaki diğer kromozom ile yapışıp birleşmesine karşı korur (27, 28).

Kromatin, genetik materyalin interfaz süresince bulunduğu formdur. DNA proteinlerle kompleks hale gelerek koilleri ve süperkoilleri oluşturur. Histonlar kromatinlere bağlanan majör proteindir. 147 baz çiftlik DNA bu histon proteinleri çevresinde 1.65 tur atarak katlanırlar. Bu kompleks

nükleozom olarak adlandırılır ve 6-8 nükleozom tekrar sarmallanarak 30 nm'lik kromatin ağını oluşturur (27, 28).

Ökromatin, genellikle interfazda görülen, gen ekspresyonunda transkripsiyonun aktif olduğu, gevşek paketlenmiş DNA'dır. Heterokromatin ise, sıkı paketlenmiş DNA'dır. Transkripsiyonun olmadığı inaktif alanlarda görülür (27, 28).

Otozomal kromozomlar büyükten küçüğe doğru sıralanırlar. Sentromer durumlarına göre ortada ya da ortaya yakın ise metasentrik, belirgin uzunluk farkları içeriyorsa submetasentrik, kromozomun sonunda ya da sonuna yakın ise akrosentrik olarak gruplanır (27, 28).

DNA ve ribonükleik asit (RNA) uzun doğrusal büyük nükleik asit polimerlerdir. Beş (5) karbonlu şeker ve fosfat grubu içerir. DNA'daki şekerin 2' karbon pozisyonunda bir hidroksil grubu eksiktir. Nitrojen baz ve şeker bağlanınca nükleozid oluşur. Nükleoziddeki 3' ya da 5' karbon grubuna bir fosfat grubu fosfodiester bağ ile bağlanınca nükleotid oluşur. Fosfodiester bağlar, güçlü kovalent bağlardır. Nükleik asitler, nükleotidlerden oluşur ve RNA'da şeker grubu riboz iken, DNA'da deoksiribozdur (27, 28).

DNA'da deoksiribozun 1. karbonuna pürin ya da pürimidin bazları bağlanır. DNA'daki pürinler, adenin ve guanin, pirimidinler ise timin ve sitozindir. Adenin timin ile 2 hidrojen bağı, guanin de sitozin ile 3 hidrojen bağı kurarak baz çiftlerini oluştururlar (27, 28).

RNA'da pürimidin bazlarından timin yerine urasil bulunur. Tek zincirlidir. Ancak bazen kendi içlerinde ya da DNA ile hidrojen bağları oluşturabilirler (27, 28).

Kromozomlarda sayısal anomaliler, poliploidi, anöploidi, mozaizm ve kimerizm olmak üzere 4'e ayrılır. Poliploidi, kromozom sayısının  $3N$  ya da daha fazla olmasıdır. Anaploidi, tek ya da daha fazla kromozom kayıp ya da kazanımlarını ifade eder. Monozomi, bir parental kromozom kaybı (örn. 45,XY-7), trizomi ise bir paranteral kromozom kazanımı (örn. 47,XY+21) durumudur. Mozaizm, tek bir zigottan, kimerizm ise farklı zigotlardan gelen iki ya da daha fazla hücre dizisinin farklılığıdır (27, 28).

Mutasyon, genetik dizideki farklılaşmadır. Bu, dizideki gerçek değişim (tek nükleotid değişikliği, delesyon vb.), konum değişikliği (inversiyon, translokasyon) ya da dizi miktarındaki değişiklik (kopya sayısı değişikliği) şeklinde olabilir. Somatik mutasyon, sonradan kazanılmış ve kalıtımsal olmayan, germline mutasyonlar ise kalıtımsal olan germ hücrelerinde de bulunan mutasyonlardır. Sürücü mutasyonlar, tümörün oluşumunu sağlayan seçici mutasyonlar olup yolcu mutasyonlar tipik olarak tümörün büyümesi ve hayatta kalması için önemli olan mutasyonlar değildir. Sürücü mutasyonlar tümörün ölümsüzlüğünün ana nedeni (onkogen bağımlılık fenomeni) olduğundan bu mutasyonların inaktivasyonu kanser hücrelerinin ölümü ile sonuçlanır (28, 29).

İnsan genomundaki her 300 nükleotidden biri tek nükleotid pleomorfizmi (değişimi) gösterir (28). Tek nükleotid değişimlerinde (SNV) proteinde fonksiyonel bir bozulma yaratma ihtimali olanlar yanlış anlamlı ya da anlamsız mutasyonlardır. Yanlış anlamlı mutasyon, bir DNA baz çiftinde değişiklik oluşması ile bir aminoasit değişmesidir. Anlamsız mutasyonda, bir baz çifti değişimi ile durdurucu kodon oluşur ve düzgün fonksiyon göstermeyen ya da hiç fonksiyon göstermeyen bir protein oluşur. İnsersiyon (ins), bir ya da birden fazla bazın orijinal DNA dizisine eklenmesidir. Delesyon (del), bir DNA parçasının orijinal diziden ayrılmasıdır. Duplikasyon (dup), bir DNA parçasının bir ya da daha fazla kez kopyalanmasıdır. Çerçeve kayması, delesyon, insersiyon ve duplikasyonlar ile eklenen ya da çıkarılan DNA bazlarının yarattığı değişimin genin okunduğu çerçeveyi değiştirmesidir. Genellikle oluşan protein işlevsizdir. Küçük DNA dizilerinde çok sayıda tekrarların oluşması tekrarlar ile genişlemeler oluşturur. Genelde bu tekrar dizileri proteinlerde işlev bozukluğuna yol açmaz. Delesyon / insersiyon (indel) bir ya da birden fazla nükleotidin silinerek yerine başka nükleotid ya da nükleotidlerin yerleşmesidir. İnversiyon (inv), birden fazla nükleotidin ters dönmesi, translokasyon (t), homolog olmayan kromozom parçaları arasındaki yer değiştirmesi olarak tanımlanır. Transpozisyon, nükleotidlerin bir pozisyondan başka bir genom ya da diziye hareket etmesidir.

Bir mutasyonun okunması sırasında öncelikle kodlanan DNA (c), sonra pozisyonu ve sonrasında mutasyon tipi ile hangi aralıklarda

bulunduğu yazılır. Örneğin, c.546A>T, 546. pozisyondaki adenin yerine timin nükleotidinin geldiğini, c.586\_591delTGGTCA ya da c.586\_591del6, 586 ve 591 arasındaki yazılan 6 tane nükleotidde silinme olduğunu gösterir (28).

## **2.4. Karsinogenez ve rol oynayan genler**

### **2.4.1. Onkogenez ve KHDAK'da moleküler değişmeler**

Kanser, sıklıkla hücrelerdeki çok basamaklı olan kazanılmış mutasyon serileri ile oluşur. Tümör süpressör genlerin fonksiyon kaybı ve/veya onkogenlerin fonksiyon kazanımlarına yol açan mutasyonlar görülür. Kontrolsüz büyüme ve hücre ölüm mekanizmalarında duraklama meydana gelir.

Proto-onkogen, onkogenin mutasyona uğramış şeklidir. Yaklaşık 14 proto-onkogen kanser gelişimi ile kuvvetli ilişkilidir. Proto-onkogenlerin başlangıç bölgelerindeki nokta mutasyonları, delesyonlar ya da insersiyonlar, transkripsiyonun artışına, gen amplifikasyonları, proto-onkogenlerin ekstrakromozomal kopya artışına, kromozomal translokasyonlar proto-onkogenlerin kromozomdaki yeni yerlerinde aşırı ekspresyona ve füzyon oluşturduğu ikinci gen ile birlikte onkogenik aktivite oluşmasına yol açar. Onkogen ürünlerindeki artış hücre bölünmesini artırır, hücre ölümünü inhibe eder ve hücre diferansiyasyonunu azaltır.

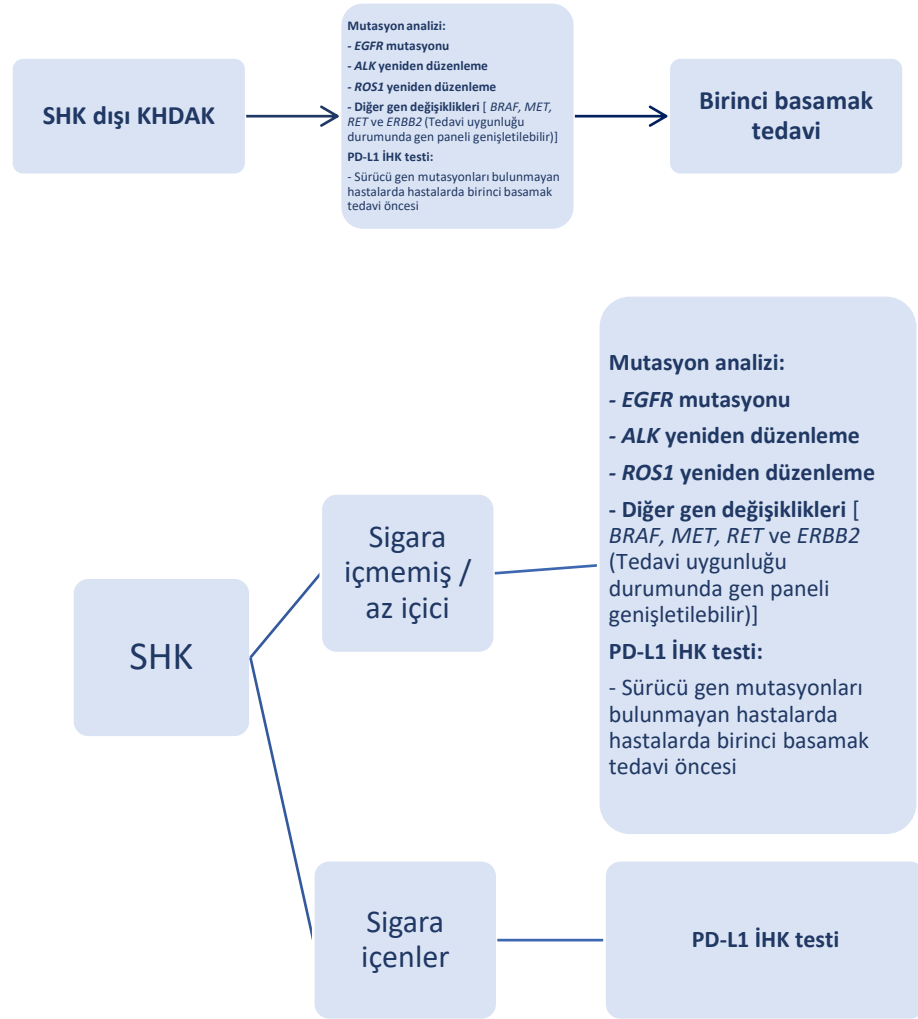
Tümör süpressör genler, genellikle hücre siklusunda ve apoptozis de rol oynar. Bazılarının (örn. DNA yanlış eşleşme tamir proteinleri, MEN1,

BRCA1 ya da BRCA2) DNA tamir görevi de vardır. Hücre adezyon moleküllerinin sentezlenmesi ile tümör hücrelerinin metastaz yapmasını engeller. Tümör süpresör genlerde meydana gelen mutasyonlar, heterozigozite kaybı (LOH) ve çift vuruş hipotezi oluşarak fonksiyon kayıpları ile sonuçlanır(28, 30, 31).

İleri evre KHDAK'si olan hastalarda özellikle tedavi seçimlerini yönlendirmede protein ve genetik düzeydeki moleküler değişikliklerin saptanması çok önemlidir (32). KHDAK'de 300 somatik mutasyon bulunmuştur (33). 2004 yılında Boston'daki iki araştırmacı grup (34, 35) ve ardından New York'taki bir grup (36) *EGFR* geninde aktive edici mutasyonların KHDAK'te bulunduğunu ve tirozin kinaz inhibitörlerine karşı oldukça duyarlı olduklarını belirtmiştir.

En iyi bilinen sürücü mutasyonların olduğu genler *EGFR*, *KRAS* ve *ALK*'tir. *ALK* ve *EGFR*'deki mutasyonlar genellikle hiç sigara içmemiş olan hastalarda görülür ve tümör periferik yerleşimlidir. Buna karşın *KRAS* mutasyonu olan hastaların büyük çoğunluğu sigara içicisidir ve tümörleri SHK ve KHK'te olduğu gibi santralde yerleşme eğilimindedir (6, 37). Kadın cinsiyet, Asya etnik kökeni, hiç sigara içmemiş olması ve adenokarsinomun histolojik alt tipleri (lepidik patern baskınlığı) *EGFR* ilişkili tirozin kinaz inhibitörlerine daha iyi yanıt ile ilişkili bulunmuştur (32, 38). Bazı kaynaklarda *EGFR* mutasyonu görülme sıklığı beyaz ırkta %15 iken, Doğu Asya'lılarda %30-50'dir (39, 40).

Akciğer kanserinde tanı ve hedefe yönelik tedavide uygulanması gereken moleküler test algoritması Şekil 1’de gösterilmiştir (41).



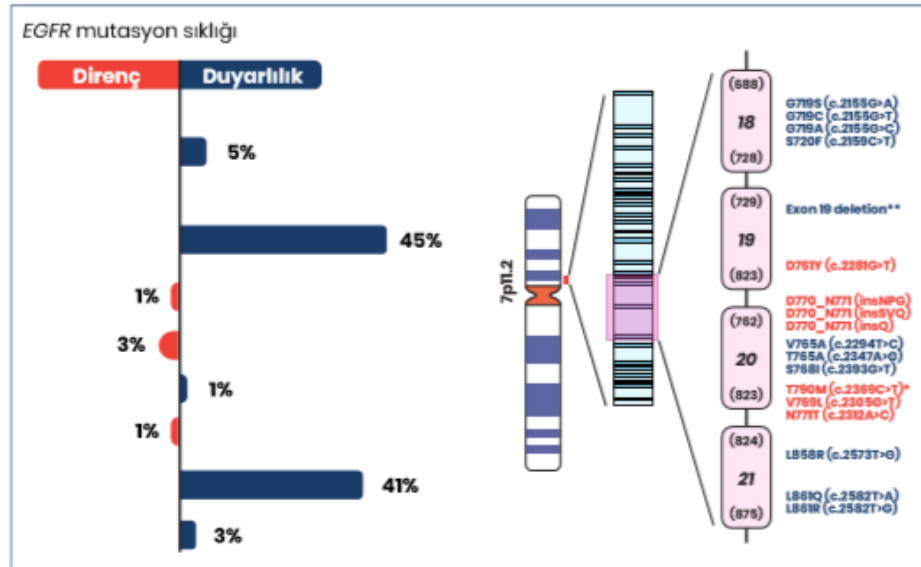
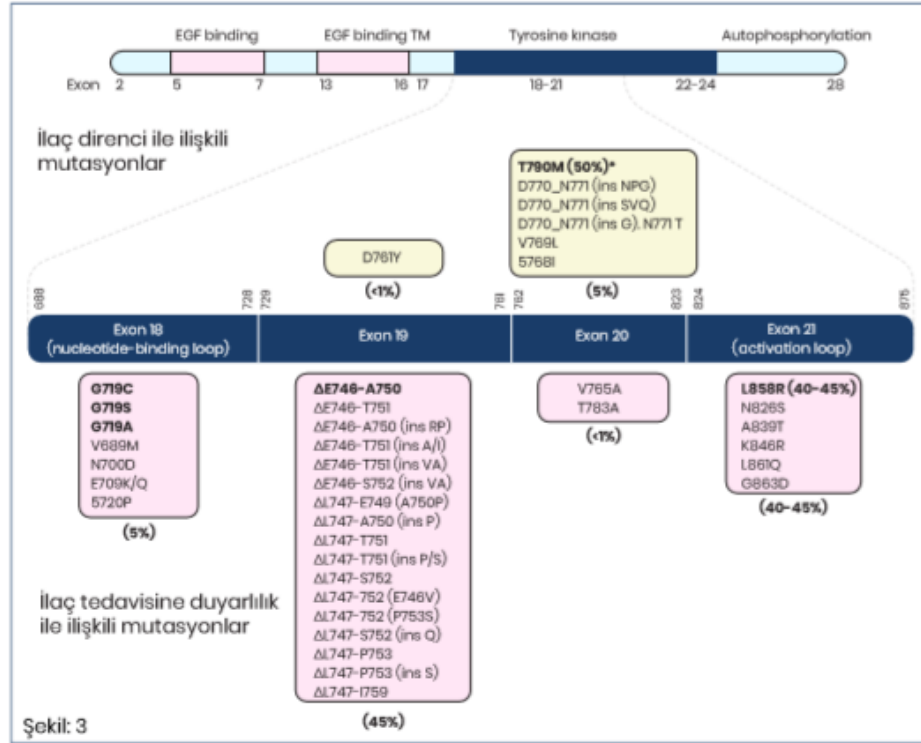
Şekil 1: KHDAK’lerde moleküler test algoritması (42)

#### 2.4.2. Tirozin kinaz reseptör genleri

EGFR, HER1 ya da ErbB1 olarak da bilinen, ErbB reseptör kinaz ailesinin dört üyesinden (*EGFR*, HER2, HER3, HER4) biridir (Şekil 3). *EGFR* geni 7. kromozomun kısa kolunda (7p12.13) bulunur. Tüm ErbB proteinlerinin, hücre dışı ligand bağlama alanı, hücre membranından geçtiği kısım, hücre içinde tirozin kinaz alanı ve C terminal düzenleyici bölge olmak üzere 4 adet fonksiyonel bölgeleri vardır. Tirozin kinaz bölgesi N ve C loblarından oluşur. ATP bu iki lob arasına bağlanır. C terminal düzenleyici ise birkaç tirozin rezidüsüne sahip olup fosforilasyonun gerçekleştiği bölgedir. Bir spesifik protein reseptöre bağlandığında homo ve heterodimerizasyonlar oluşur ve konfigürasyon değişiklikleri meydana gelir. Tirozin kinaz aktive olup sitoplazmadaki düzenleyici alan içindeki tirozin rezidülerinde otofosforilasyon gelişir. Fosforile tirozinler, Cg, CBL, GRB2, SHC ve p85 gibi adaptör proteinlerin bağlanma bölgelerini aktive ederek mitojen aktifleştiren protein kinaz (MAPK), fosfatidilinositol 3 kinaz (PI3K)/protein kinaz B (AKT), STAT gibi sinyal yollarının aktivasyonuna yol açar. Bu reseptörlerin fazlaca aktive olması sinyal yolak aktivasyonlarına neden olarak hücre proliferasyonu, ölümsüzlük, anjiyogenez ve metastazın oluşmasını sağlar. (32, 38, 43).

EGFR ekspresyonu birçok insan kanserlerinde (akciğer, baş boyun, kolon, pankreas, meme, over, mesane, böbrek vb.) artış gösterir ve *EGFR* ekspresyonu gösteren tümörler daha kötü prognozludur (32).

*EGFR* geninde ekzon 18-21 arası tirozin kinaz alanını kodlayan bölgeler olup akciğer kanserinde aktif somatik mutasyonlar burada olur. *EGFR*'nin tirozin kinaz alanında mutasyonların olması neredeyse sadece akciğer kanserinde görülür. Ekzon 19 içindeki çerçeve içi (in-frame) delesyonlar ve ekzon 21'in 858. pozisyonundaki Lösin yerine Arjinaz aminoasidinin gelmesi (p.L858R) ile oluşan SNV, *EGFR* mutasyonlarının sırasıyla yaklaşık %45 ve %40 kadarını oluşturur. Kalan %5-10 mutasyon ekzon 18'deki nükleotid değişimleri ve ekzon 20'deki çerçeve içi insersiyonlardır (32, 39) (Şekil 2).



Şekil 2: EGFR TKİ'lerine duyarlı ve dirençli mutasyonlar (44)

Ekzon 18'deki mutasyonlar EGFR tirozin kinaz inhibitörlerine (TKİ) duyarlı iken, ekzon 20'deki çerçeve içi insersiyonlar TKİ'ye direnç ile ilişkilidir (32, 39). Bu direnç mekanizmalarının %50'si ekzon 20'de 790.

pozisyona treonin yerine metiyonin aminoasidinin (T790M) gelmesidir (45). Üçüncü kuşak tirozin kinaz inhibitörleri (osimertinib) hem aktive edici *EGFR* mutasyonlarına hem de ekzon 20 T790M direnç mutasyonuna karşı etkili olan pan-ErbB inhibitörleridir (32). Diğer direnç mekanizmaları, *MET* amplifikasyonu (%5), *HER2* amplifikasyonu (%8), *PI3CA* mutasyonu (%8) ve küçük hücreli akciğer karsinomuna (%14) dönüşümdür (46, 47).

*EGFR* amplifikasyonu, gendeki kopya sayısı artışına neden olur. Yüksek dereceli ve invaziv büyüme gösteren tümörlerde daha sık görülür. Metastatik odaklarda amplifikasyon sıklığının prekürsör lezyonlardan daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle mutasyonların daha erken ortaya çıktığı, amplifikasyonun ise tümör progresyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (48).

*HER2* (*NEU*, *EGFR2* ya da *ERBB2*) ErbB ailesinin üyelerinden olup 17. kromozomda bulunan *HER2* geni tarafından kodlanan bir reseptör tirozin kinazdır (Şekil 3). Güçlü bir kinaz aktivitesine sahip olmasına karşın tanımlanmış bir ligandı yoktur (49, 50).

*HER2*, hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu ve migrasyonunu sağlayan PI3K/AKT/mTOR ve MEK/ERK yollarını aktive eder (51). *HER2* onkojenik aktivasyonu meme, mide, akciğer, mesane, over ve pankreas kanserlerinde görülür.

*HER2* protein ekspresyonunda artış, *HER2* amplifikasyonu ve *HER2* gen mutasyonu olarak üç farklı *HER2* değişimi saptanmış olup, bunların

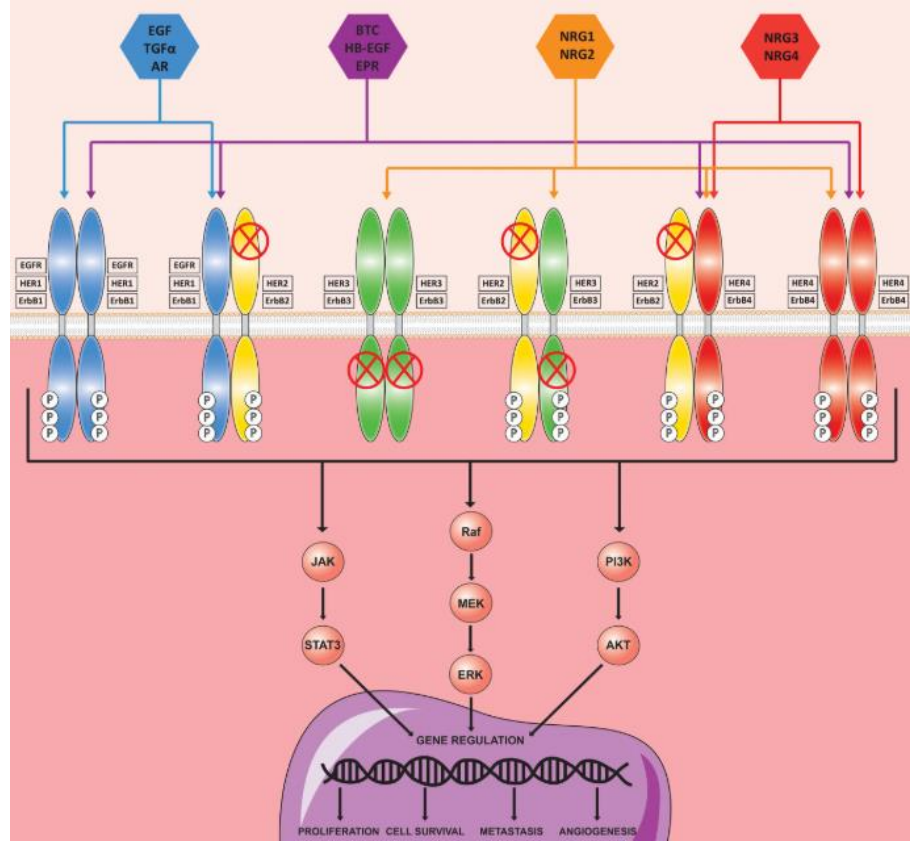
varlığında tümörün kemoterapiye göreceli direnç gösterdiği bilinmektedir. Bu nedenle hedefe yönelik tedavilerin belirlenmesi amacıyla HER2'nin onkojenik aktivasyonunun varlığı sorgulanmadır (51-53). Akciğer kanserinde, HER2 aşırı ekspresyonu yaklaşık %20 oranında görülürken *HER2* amplifikasyon sıklığı meme kanserlerinden daha azdır (49). *HER2* mutasyonları sıklıkla ekzon 20'deki çerçeve içi insersiyonlar olarak görülür (54, 55). *HER2* mutasyonları %2-4, *HER2* amplifikasyonu %10-20 ve HER2 ekspresyonu %35 oranında görülür. Ayrıca EGFR ve HER2 arasında heterodimer bulunup bu yolla sinyalizasyonun çoğalması sağlanır. Bu yüzden EGFR-TKİ'lerle yukarıda blokaj sağlansa bile hücre içinde sinyal aktarımı devam ettiğinden *ERBB2* mutasyonu olan tümörler TKİ'lere dirençlidir. Ancak geniş spektrumlu TKİ'ler hem *EGFR* hem de *HER2* mutasyonlarında hedefe yönelik tedavi olarak kullanılabilir (38, 49, 56).

*HER2* mutasyonu görülme sıklığı, kadınlarda, ADK'te, sigara içmeyenlerde ve Doğu Asya'lılarda *EGFR* mutasyonlarında olduğu gibi daha fazla oranda görülür. Bu özelliği taşıyan bir hastada *EGFR* mutasyonunun görülme sıklığı %61 iken *HER2* mutasyonunun görülme sıklığı %4,3'tür (49).

HER2 tirozin kinaz reseptrünün aktivasyonunun tespiti için immünohistokimya (İHK) ve floresan in situ hibridizasyon (FISH) arasında çok değişken oranlar mevcuttur. Bu açıdan İHK ve FISH seçimleri patoloğa bırakılmıştır. YND, HER2 mutasyon ve kopya sayısı değişikliklerinde önemli ipuçları sağlar (55).

*ERBB3 (HER3)* bir tirozin kinaz reseptörünü kodlayan ErbB ailesinin bir üyesidir. Hücre proliferasyonu ve hücrenin hayatta kalmasını sağlayan RAS/RAF/MAPK ve PI3K/AKT/mTOR gibi yolları aktive eder (Şekil 3) (57). *ERBB3*, tirozin kinaz aktivitesine sahip değildir. Ancak PI3K'nin düzenleyici alt birimi olan p85 için birçok bağlanma bölgesine sahip olduğundan sinyal aktivasyonu yapabilir (32). *ERBB3* mutasyonu olan KHDAK'lerde dacomitinib, osimertinib ve afatinib gibi *EGFR-TKİ*'lerinin kullanımı önerilmektedir(58).

*ERBB4 (HER4)*, 2q34 lokalizasyonunda olan ERBB ailesinden tirozin kinaz reseptörünü kodlayan onkogendir (Şekil 3). KHDAK'de *ERBB4*'ün yanlış anlamlı mutasyonları %5,4 oranında (ADK'lerin %5,2'sinde SHK'lerin %6,3'ünde) görülür. Afatinib, dacomitinib ve osimertinib gibi 2. ve 3. nesil *EGFR-TKİ*'lerle tedavi edilmesi önerilir (59).



**Şekil 3: ErbB ailesi reseptör tirozin kinazlar ve hücre içi sinyal yolakları (60)**

“Discoidin” alanı tirozin kinaz reseptörü 2 (DDR2), tirozin kinazların alt sınıflarından biridir. Kollajene bağlanarak hücrenin çoğalmasına, migrasyonuna ve hayatta kalmasına katkıda bulunur. Genellikle SHK’te görülür (61). *DDR2* sürücü gen olup DDR2 kinaz inhibitörlerine duyarlıdır (62).

Fibroblast büyüme faktörü reseptörü (FGFR) ailesinin 4 adet FGFR üyesi (FGFR1-4) vardır. Hücrenin büyümesini ve hayatta kalmasını sağlayan RAS/RAF/MAPK ve PI3K/AKT/mTOR yolaklarının aktivasyonunu sağlayan tirozin kinazlardır. Bu tirozin kinazların

amplifikasyonları, fonksiyon kazanım mutasyonları ve translokasyonları görülebilir. *FGFR* mutasyonları kötü prognosisla ilişkili bulunmuştur (63).

*FGFR1*, onkojenik sürücü genidir. Gen amplifikasyonu, füzyon ve artmış ekspresyonları görülür. Akciğer kanserinde sıklıkla *FGFR1* gen amplifikasyonları mevcuttur. Sigara içenlerde daha sık görülür ve akciğer SHK'lerinin %15-20'sinde saptanır (64, 65).

*FGFR1* mutasyonları üçüncü nesil *EGFR*-TKI'lere karşı direnç ile ilişkili bulunmuştur (66). Nintedanib, bir tirozin kinaz inhibitörü olup *FGFR1* amplifikasyonu olan lokal ileri evre, metastatik ya da lokal rekürrens gösteren akciğer ADK'lerinde doksitaksel ile kombine ikinci basamak tedavi olarak kullanılabilir (67).

Akciğerin SHK'lerde *FGFR2* ve *FGFR3*'teki somatik mutasyon oranları yaklaşık %2,7'dir. Bu iki gende de amplifikasyon izlenmez (68). Akciğer ADK'lerde yaklaşık %5,5 oranında *FGFR3* mutasyonu mevcuttur. Nintedanib kullanımının *FGFR3* mutasyonu olan hastalarda yarar sağlar (69).

Platelet kaynaklı büyüme faktörü alfa (PDGFRA), KIT, PDGFRB, makrofaj koloni sitümile edici faktör reseptörü (CSF1R) ve FMS benzeri tirozin kinaz 3 (FLT3) ile birlikte tip III reseptör tirozin kinaz ailesinin bir üyesi olup hücrenin proliferasyonunu ve hayatta kalmasını sağlayan RAS/RAF/MAPK ve PI3K/AKT/mTOR yollarını aktive eden proteini kodlayan bir onkogendir (70). Fonksiyon kazanımı sağlayan mutasyonlar,

amplifikasyonlar ve füzyonlar PDGFRA'nın aktivasyonuna neden olur (71). Nintedanib, FGFR1'de olduğu gibi PDGFRA'nın da tirozin kinaz aktivitesini bloke ederek yolakların inhibisyonuna katkı sağlar (67).

*KIT*, tip III tirozin kinaz reseptör ailesindeki *KIT* proteinini kodlar. Amplifikasyon, fonksiyon kazanım mutasyonları ya da protein aşırı ekspresyonu ile *KIT* aktivasyonu oluşur (70, 72). *KIT* amplifikasyonu, akciğer ADK'lerinin %3-7'sinde, SHK'lerinin ise %8-10'unda bulunur (71). *ALK* mutasyonu pozitif olan vakalarda *ALK-TKİ*'lerine oldukça duyarlıdır. Ancak *KIT* amplifikasyonu bulunan bir tümörde *ALK-TKİ* olan krizotinibe karşı direnç görülür. (73).

*FLT3* de *KIT* ve *PDGFRA* gibi tip III tirozin kinaz ailesindeki *FLT3* proteinini kodlayan bir onkogendir. *FLT3*, çeşitli kanserlerin proliferasyonlarında, diferansiyasyonlarında ve anjiogenezinde rol oynar. Solid tümörlerde *FLT3* mutasyonu henüz bildirilmemiş olup, *FLT* amplifikasyonu akciğerde %0,4 oranındadır (74). *FLT3*'ü etkileyen çoklu kinaz inhibitörleri özellikle akut myeloid lösemi gibi hematolojik malignitelerde kullanılmakta olup solid tümörlerde düşük etkinlik nedeniyle kullanımı önerilmemektedir. Yeni çalışmalarda KHDAK hedefli tedavi ajanları denenmektedir (75).

*ALK*, 2p23 lokalizasyonunda olup insülin reseptör süper ailesinden *ALK* proteinini kodlar. Ekstrasellüler kısım, hidrofobik membran içindeki kısım ve intrasellüler kinaz alanından oluşur. Diğer tirozin kinaz reseptörleri

gibi hücre içi yolaklarının sinyal aktivasyonuna rol alır. *ALK* geninde füzyonlar, fonksiyon kazanım mutasyonları ve amplifikasyonlar görülür (61). Bu değişimler akciğer kanserinde %5-7 oranında saptanır. Genç, sigara içemeyen, asiner paterne sahip Asya'lı, taşlı yüzük hücreli komponenti olan beyaz ırklarda daha sık görülür. Özellikle solid ve en az %10'u taşlı yüzük hücreli komponente sahip olan hastalarda mutasyon görülme sıklığı artış gösterir (76). *ALK* yeniden düzenlemesi olan hastalar *ALK-TKİ* olan krizotinibe %60 oranında yanıt vermesine karşın bir-iki yıl içinde krizotinibe karşı direnç gelişir. Krizotinib direncini oluşturan durumlar, tirozin kinaz bölgesinde gelişen SNV'ler ya da EGFR, KIT, IGF-1R gibi reseptörlerin aktivasyonlardır. YND ile direnç ilişkili nokta mutasyonları saptanabilir. Direnç mekanizmaları belirlendikçe seritinib, birigatinib, alektinib (ikinci kuşak *ALK-TKİ*) ve lorlatinib (üçüncü kuşak *ALK-TKİ*) gibi yeni *ALK-TKİ*'leri kullanılır (77).

*Proto-onkojen tirozin-protein kinaz 1 ROS (ROS1)*, 6p22 lokalizasyonunda olup *ALK* gibi insülin reseptör süper ailesi üyesi, tirozin kinaz aktivitesine sahip integral membran proteini olan *ROS1*'i kodlar ve hücre içi sinyal yolaklarının aktivasyonundan sorumludur. Fonksiyon kazanım mutasyonları ve füzyonlar ile aktive olur. *ROS1* yeniden düzenlemeleri akciğer kanserlerinde %1,7 oranında görülüp adenokarsinomlarda özellikle solid ve papiller paternlerde siktir. Hastalar genellikle genç ve hiç sigara içmemiştir. Asya'da yaygın olup, SHK'te de

saptanmıştır (78). *ALK* mutasyonlarında kullanılan TKİ'lerle tedavi edilirler (79).

*Mezenkimal epitelyal geçiş (MET)* geni tarafından kodlanan hepatosit büyüme faktörü (HGF) reseptörü, hücrenin büyümesinin düzenlenmesinde temel rol oynayan bir tirozin kinaz reseptörüdür (80). Hücrenin proliferasyona, migrasyonuna ve tümörün metastazına aracılık eden RAS/RAF/MAPK ve PI3K/AKT/mTOR yollarını aktive eder (81). Amplifikasyon ve mutasyonları ile *MET* aktivasyonu sağlanır. Bu gen değişiklikleri *EGFR* TKİ'lere karşı direnç ile ilişkilidir (82). *MET* mutasyonları akciğer ADK'lerin %7'sinde görülür (5). *MET* ekzon 14 atlama bölgelerinin etkileyen somatik mutasyonlar ilk olarak primer akciğer kanserinde bildirilmiştir. Ekzon 14 atlama mutasyonları ile *MET*-kinaz aktivasyonu oluşur. En bilinen atlama mutasyonu, negatif düzenleyici rolünde olan Y1003 bölgesinde meydana gelir. Reseptördeki bu bölge ubiquitin ligazın bağlanıp reseptörün parçalanmasını sağlayan alandır. Ancak mutasyon olduğunda bu parçalanma engellenmiş olur. Ekzon 14 atlama mutasyonları KHDAK'lerde %3 oranında görülür ve krizotinib, kabozantinib tedavilerine yanıt verir (80). Yüksek *MET* amplifikasyonları (*MET*/*CEP17* oranı:  $\geq 5$ ) ekzon 14 atlama mutasyonları ile birliktelik gösterebilir (83). Krizotinib monoterapisi yüksek *MET* amplifikasyonu (*MET*/*CEP17* oranı:  $\geq 5$ ) olan hastalara da önerilmektedir (84, 85).

Östrojen reseptör alfa (*ESR1*), akvitatör protein 1 ya da uyarıcı protein 1 gibi transkripsiyon faktörlerine bağlanarak gen ekspresyonunu

düzenleyen ya da hücre membranına yerleşerek protein kinaz ve sinyal yollarının aktivasyonuna yol açan *ESR1* proteinini kodlar. *ESR1* özellikle akciğer ADK'lerde bulunur. Prognozu olumsuz yönde etkiler. Östrojen reseptör antagonistleri ile tedavi edilen hastaların mortalitesi azalmaktadır (86, 87).

2.4.3. Tirozin kinaz reseptörlerinin aracılık ettiği sinyal yollarında rol oynayan onkoproteinler

*KRAS* mutasyonları, *EGFR* mutasyonları gibi akciğer kanserinde sürücü mutasyonlardır. RAS/RAF/MAPK ve PI3K sinyal yollarının aktivasyonuna neden olur (88). Akciğer kanserlerinde *KRAS*'ın onkogenik aktivasyonun olduğu ilk defa 1990 yılında bildirilmiştir (89). Batı ülkelerinde akciğer kanserinde %20-30, Doğu ülkelerinde %10-15 oranında *KRAS* mutasyonları görülür. *KRAS* mutasyonu olan hastalar daha kötü prognozludur (90). *KRAS* mutasyonları, müsinöz adenokarsinomlarda müsin üretmeyenlere göre daha sıktır (38). Yakın zamana kadar standart kemoterapiler haricinde başka tedavi verilmezken son yıllarda bazı alt gruplara immünoterapi şansı verilmiştir. MEK inhibitörleri, kinaz inhibitörleri ve RAF-MEK-ERK yolağı ile birlikte PI3K yolağının inhibitörleri de önerilen tedavilerdir (91-97).

*NRAS*, *KRAS* ile ilişkili GTPaz aktivitesi bulunan bir RAS ailesi üyesidir. MEK yolağında sinyal iletiminde görevlidir. Hücrenin hayatta kalmasını ve proliferasyonunu sağlar. Akciğer kanserlerinde *NRAS*

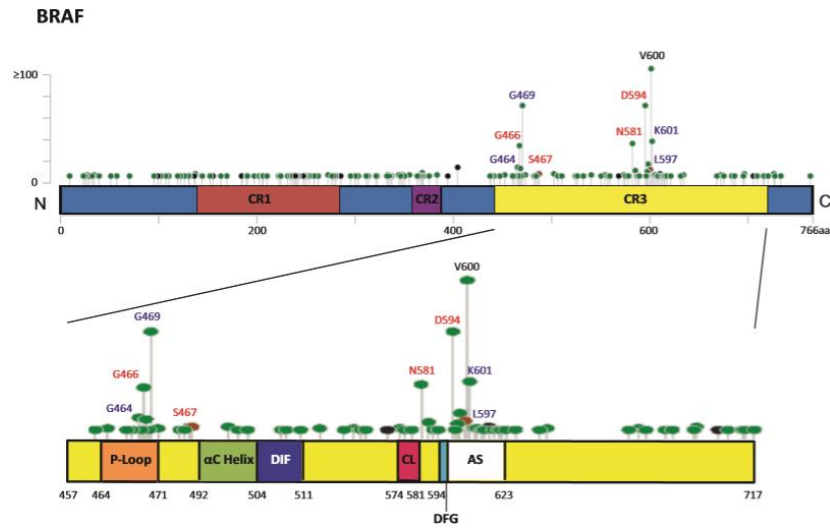
mutasyonlarının olduğu gösterilmiştir. Bir çalışmada *NRAS* mutant olan 6 vakanın 5'i MEK inhibitörlerine, celumetinib ve trametinibe karşı duyarlı olarak bulunmuş olmakla birlikte günümüzde *NRAS* mutasyonu olan hastalara henüz hedefe yönelik tedavi verilmemektedir (61, 98).

*HRAS*, RAS/RAF/MEK/ERK yolağını aktive eden RAS ailesine ait olup mutasyonları, özellikle baş boyun kanserleri olmak üzere mesane, vulva ve derideki SHK'lerde görülür. Akciğerdeki SHK'lerde %2,8, ADK'lerde %1 oranında saptanır. *HRAS* mutasyonları olan akciğer kanserli olguların MEK inhibitörlerine yüksek duyarlılık gösterdiği saptanmış ve mTOR yolak inhibisyonu ile sinerjistik olarak bu etki artırılabilir. Ancak henüz MEK ve mTOR inhibitörleri hedefe yönelik tedavi olarak akciğer kanseri olgularında kullanılmamaktadır (99).

*BRAF*, RAS/RAF/ERK sinyal yollarındaki efektör proteinlerden biri olan BRAF proteinini kodlar. *BRAF* ve *RAF1*, RAF kinaz ailesinin bir üyesidir. Hücre çoğalması ve hayatta kalım için ERK aktivasyonunu sağlar. MEK'i doğrudan fosforilleyebilir (61). *BRAF* mutasyonları, KHDAK'lerin %3-5'inde bulunan nadir mutasyonlardandır (100).

Sınıf I, II, III ve diğer olarak 4'e ayrılır. Sınıf I'de V600D/E/K/R mutasyonları bulunur ve MAPK yolağını güçlü bir şekilde aktive eder ve RAS'tan bağımsızdır. Sınıf II'de G469, G464, K601 ve L597, sınıf III'te G466, S467, D594, N581 mutasyonlarından oluşur. Sınıf II, orta-yüksek kinaz aktivitesi gösterir ve RAS bağımsız olup, sınıf III, düşük kinaz

aktivitesi gösteren ya da kinaz aktivitesi göstermeyen bir gruptur. Sınıf III mutasyonları, sıklıkla RAS aktivasyonu ve NF-1 fonksiyon kaybına yol açan ek genetik değişiklikler içerir. Diğer grup yanlış anlamlı SNV, füzyon ve delesyonları içerir (Şekil 4) (101).



**Şekil 4: *BRAF* proteininin yapısı ve mutasyonlarının yerleşim yerleri. Siyah, sınıf I, mavi, sınıf II, kırmızı sınıf III mutasyonları gösterir (101).**

En sık *BRAF* ekzon 15'teki V600E mutasyonu (%50 oranında) görülür. Sigara içen ya da içip bırakanlarda ve kadınlarda sık görülmesine karşın V600E dışı mutasyonlar erkeklerde sıktır. Histolojik olarak V600E mutasyonu mikropapiller ya da müsin içeren TTF-1 ekspresyonu fazla olan ADK'lerde daha sık görülür. Sarkomatoid karsinomlarda ve BHNEK'lerde de *BRAF* mutasyonu bulunabilir. Tedavide kinaz inhibitörleri olan dabrafenib, vemurafenib, trametinib gibi ilaçlar kullanılır (100).

*EGFR, ERBB2, BRAF, KRAS ve ALK* mutasyonları akciğer karsinogenezinde tamamlayıcı bir rol oynar ve neredeyse hiçbir zaman eşzamanlı olarak meydana gelmez (38).

*Mitojen aktif protein kinaz 1 ve 2 (MAP2K1-2)*, RAS-RAF-MEK-ERK sinyal yolağındaki MEK 1 ve 2'yi kodlayan onkogenlerdir. MEK1 ve 2, RAF ve birçok kinaz ile fosforillenip aktive olur. ERK aktivasyonu ile siklin D1, siklin bağımlı kinaz 4 (CDK4)-siklin D1 ve CDK2-siklin E aktivasyonu ile hücre döngüsünün ilerlemesini sağlar. Aynı zamanda proapoptotik bcl2 ailesi proteinlerinin (BIM, BAD) ekspresyonunu baskılayarak ve antiapoptotik elemanların (BCL-2, BCL-XL, MCL-1) ekspresyon ve aktivasyonunu indükleyerek apoptozisin durmasına yol açar. Yine bu yolak epitelyal mezenkimal dönüşümde (EMT) önemlidir. Rho/Rac-aktin yolunu ve matriks metalloproteinaz ekspresyonunu sağlayarak hücrenin invazyon yeteneği kazanmasını sağlar (102). *MAP2K* mutasyonları akciğer ADK'lerinin %2'sinde, SHK'lerin ise %1,03'ünde görülmekte olup trametinib gibi MEK inhibitörleri tedavi için önerilen ajanlardır (103).

*AKT1 ve PIK3CA*, PI3K-AKT-mTOR sinyal yolağındaki AKT1 ve PI3K proteinlerini kodlayan onkogenlerdir. *AKT1* E17K en sık rastlanan, fonksiyon kazandıran nokta mutasyonudur. Akciğer kanserlerinin %0,6-2'sinde görülür (104, 105).

PI3K, hücre metabolizması ve proliferasyonunda etkilidir. KHDAK'lerde *PIK3CA* geninde %2-4 oranında mutasyon görülürken, en sık saptanan mutasyonlar genellikle PI3K'nin katalitik alt biriminde (ekzon 20, H1047R ya da H1047L) ya da sarmal bağlama alanındadır (ekzon 9 E545K ya da E542K). Diğer sürücü mutasyonların aksine *EGFR*, *BRAF*, *ALK* (en sık) ve *KRAS* mutasyonları ile birlikte görülebilir. SHK'lerde diğer KHDAK alt tiplerine kıyasla daha sık görülme eğiliminde olup yaklaşık %4.2 oranında görülür (106). *PIK3CA* mutasyonu olan hastalara mTOR inhibitörü olan everolimus ilacı verilir (107).

#### 2.4.4. Tümör süpressör genler

*Serin/treonin kinaz 11 (STK11)*, diğer adıyla *karaciğer kinaz B1 (LKB1)*, Peutz-Jeghers sendromunda germline mutasyonu görülen bir tümör süpressör genidir. *STK11*, mTOR yolağını düzenler. Aktivitesinin kaybı ile onkogenez, metastaz ve invazyona katkı sağlar. SHK'nin dahil olmadığı KHDAK'lerde %25-30 oranında *STK11* mutasyonu görülür. *KRAS* mutasyonları ile birlikte görülürken, *EGFR* mutasyonları ile birlikte bulunmazlar (108). T- lenfosit aracılı immünite tümör büyümesini kontrol eden önemli bir duraktır. *STK11* mutasyonları bu önemli kontrol noktasının aktivitesini azaltarak immünoterapi direncinin gelişmesine, tümördeki PD-L1 ekspresyonun ve CD8 + T lenfosit sayısının azalmasına neden olur. *KRAS* mutasyonlarında da tümördeki CD8 + T lenfosit sayısının bir miktar azaldığı bildirilmiş olup, *STK11* ve *KRAS* mutasyonlarının birlikteliği güçlü

bir immünoterapi direncinin gelişmesine yol açar ve KHDAK'lerde KRAS-STK11 mutasyon birlikteliği kötü prognoz göstergesidir (109).

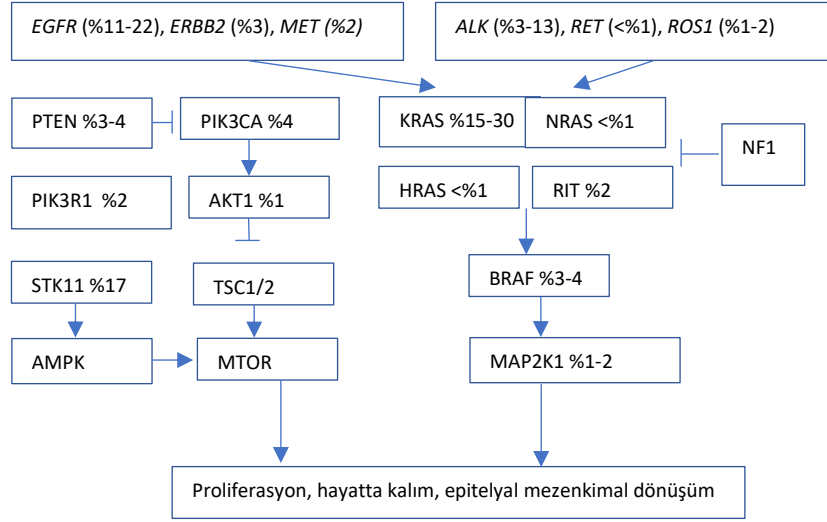
*NOTCH1*, NOTCH sinyalizasyonundaki 4 adet NOTCH (1-4) reseptör izoformundan NOTCH1'i kodlar. Epitelyal mezenkimal dönüşüm, kemoterapiye direnç ve hücre proliferasyonu ilişkilidir. *NOTCH1* için tümör süpresyonu ya da tümör progresyonu olduğuna dair yayınlar mevcuttur (110, 111). KHDAK'lerde *NOTCH1*'in fonksiyon kazanım mutasyonları görülür. Özellikle solid baskın adenokarsinomlarda *NOTCH1* ekspresyonu gözlenmezken, papiller ve mikropapiller baskın olanlarda yüksek oranda ekspresse ettiği gözlenir (112).

*SMAD4*, TGF beta yolağının regülasyonunda görev alan bir tümör süpressör gendir. Ana mekanizma hücre döngüsünün ilerlemesini durdurmaktır. Mutasyonlarında *SMAD4* proteininde fonksiyon ya da ekspresyon kaybı görülür. Böylece TGF beta bağımlı RAS/RAF/ERK ve/veya PI3K/AKT/mTOR yolaklarının aktive olmasına neden olur. Sıklıkla pankreatik ADK'te görülür (113). KHDAK'lerde *SMAD4*'teki mutasyonlar tek nükleotid değişimleri şeklinde olup KHDAK'lerin %4-6'sında saptanır (114).

*Fosfat ve tensin homolog (PTEN)*, 10q23.3 lokalizasyonunda bulunan, hücre büyümesi, proliferasyonu ve hayatta kalma hedefleri bulunan PI3K/AKT/mTOR yolağının inhibisyonunu sağlayan, hipoksi indüklenebilir faktör-1 alfa (HIF-1 alfa) ve vasküler endotelyal büyüme

faktörünü (VEGF) inhibe ederek anjiogenezi durduran bir tümör süpressör gendir. *PIK3CA* mutasyonları ile birlikte görülebilir. Akciğer kanserlerinde *PTEN* ekspresyon kaybı kötü prognoz ile ilişkilidir (115, 116).

*FBXW7* tümör süpressör gendir ve F-box protein ailesinin bir üyesi olan *FBXW7* proteinini kodlar. *FBXW7*, proteinlerin ubiquitinasyonunu tetikleyerek NOTCH1, c-myc, siklin E, mcl-1, mTOR ve jun gibi proteinlerinin proteazomlarda degradasyonunu aktive eden bir ubiquitin ligazdır. Mutasyonunda, hücre bölünmesinde artış, hücre diferansiyasyonunda azalma ve kromozomal instabilite gözlenir (117). Kanser genom atlas verilerine göre *FBXW7* delesyonu, akciğer ADK'lerde % 30,9, SHK'lerde %63,5 oranında, fonksiyon kazanım mutasyonu ise sırasıyla %8,3 ve %6,2 oranında görülür (118).



**Şekil 5: Akciğer ADK'deki yollar (5)**

#### 2.4.5. Akciğer kanserinde immünoterapiye yönelik biyobelirteçler

Bazı tümörlerde, tümöre karşı gelişen T- lenfositlerin programlı ölüm 1 (PD-1) reseptörlerine bağlanan programlı ölüm ligand 1 (PD-L1) reseptörleri bulunur. T- lenfositlerde inhibisyona neden olur. Bu bağlanmayı inhibe eden ajanlar tümöre yönelik olan bağışıklık sistemini güçlendirir. Diğer immünoterapi ajanı ise T- lenfosit ilişkili antijen- 4 (CTLA-4)'ün ligandına bağlanarak, CTLA4'ün yarattığı immün sistemdeki inaktivasyonu ortadan kaldırmayı amaçlar (41).

#### 2.5. Yeni nesil dizileme (YND) yöntemi

YND, milyonlarca DNA fragmanın eş zamanlı nükleotid dizilemesini yapan ve geleneksel yöntemlere kıyasla daha duyarlı, hızlı ve doğru bir dizileme oluşturan bir teknolojidir (119).

Geleneksel DNA dizileme yöntemi Sanger dizilemesi olarak bilinir. Sanger yöntemi, birim zamanda sadece bir ya da birkaç genin dizilemesinde kullanılır. Ancak maliyet/verim oranı YND yöntemine göre çok yüksektir (120). YND’de hata olasılığı Sanger dizilemeye oranla daha yüksektir. Bu hatalar, dizileme yapılacak materyaldeki okuma sayısının artırılması ile en aza indirilir (28).

YND yöntemi, genetik materyalin fragmanlara ayrılması, bir kütüphane oluşturulması ve çoğaltılması ile oluşan milyonlarca DNA’nın eş zamanlı dizilenmesini sağlar (121). SNV’ler, amplifikasyonlar, kromozom parçalarındaki kayıplar ya da eklenmeler, yapısal değişimler (translokasyon, inversiyonlar vb.), gen ekspresyon farklılıkları gibi birçok değişiklik YND teknolojisi ile tespit edilebilmektedir (122).

Son yıllarda YND teknolojisinin kullanılmasıyla elde edilen genomdaki çok sayıda moleküler değişiklik ile karakterli tümör mutasyon yükü (TMB) tanımlaması da ortaya çıkmıştır (123).

Klinik laboratuvarlarda hem kalıtsal hem de somatik mutasyonların saptanması amacıyla belirli hastalık grupları için hedef gen panelleri kullanılırken, tüm ekzon ve tüm genom dizilemesi de yapılabilmektedir (124). Tüm genom dizilemesi, genomun tamamındaki nükleotid dizisinin tespit edilmesidir. Tüm ekzom dizilemesi, bir genomun kodlanan bütün ekzomlarının dizilmesidir. Bir hastalık (tüberosklerozis, kistik fibrozis vb.) spesifik bir fenotipte ve tek bir gen ile ilişkili ya da

genomik heterojenitesi oldukça düşük ise hedef gen panelleri kullanılması daha uygun iken, retinitis pigmentosa ve serebellar ataksi gibi hastalıklarda genomik heterojenite yüksek olduğundan çoklu hedef gen panelleri, tüm ekzom ya da genom dizilemesi yapılması önerilir (120). Tüm ekzom ya da tüm genom dizilemesi bir hastalıkla ilişkili yeni aday sinyal yollarının tanımlanmasında da kullanılır(125).

Avrupa Tıbbi Onkoloji Derneği (ESMO) ve Moleküler Patoloji Derneği (AMP) klinik uygulama klavuzlarının önerileri mevcut klinik kullanım hedeflerinin belirlenmesi ve bu hedefe yönelik olan sınırlı sayıda ön görücü ve prognostik biyobelirteç kullanılmasıdır.

Solid tümörlerde tüm ekzon ya da tüm genom sekanslama kullanımı yaygın olmamakla birlikte YND'nin uygulandığı hemen tüm solid tümörlerde hedef gen panelleri kullanılır (126).

YND ile RNA dizilemesi de yapılabilir. Tüm kopyalanmış transkriptler dizilenebilir. Fakat RNA'nın az bir kısmı proteinlere çevrildiği için eldeki dizilerin doğru bir şekilde tanınması ve analiz edilmesi gibi zorluklar mevcuttur (127).

YND'deki iş akışı genel hatlarıyla kütüphanenin hazırlanması, dizilemenin yapılması ve veri analizidir. İlk olarak DNA izolasyonu yapılır. İzole edilen DNA -20 °C, RNA -80 °C'de saklanmalıdır. DNA izolasyonu sonrasında nükleik asit sayısı spektrofotometrik (örn. NanoDrop), fluorometrik (örn. Qubit) ya da kantitatif PCR (qPCR) ile ölçülür (126).

Hedef zenginleştirme aşamasında 3 farklı yöntem vardır. Birincisi, genomdaki tüm kodlanan dizinin (ekzon), ikicisi, ayrı ayrı seçilmiş genlerin kodlanma dizilerinin, üçüncüsü ise klinik olarak bilinen varyantların (sıcak bölgelerin) zenginleştirilmesidir (128). Kütüphane hazırlanırken izole edilen DNA zincirleri 200-500 baz çifti uzunluğunda parçalanıp DNA zincirlerinin hareketsizleştirilmesi için uçlarına adaptörler ve her numunenin tanınması için farklı dizilerden oluşan barkodlar eklenir. Elde edilen stabil DNA parçaları çoğaltılarak milyonlarca DNA fragmanı elde edilir (126, 128, 129).

Dizileme aşamasında, sentezlenirken dizileme ya da hibridizasyon/ligasyon ile dizileme teknikleri kullanılabilir. Sentezlerken dizileme daha yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Yeni zincir oluşması esnasında her bir bazın eklendiği sırada ortaya çıkan floresan ışımaların ölçümü ile dizi analizi yapılır. Ligasyon ile dizilemede ise DNA'ya bağlanan adaptörün yanına, DNA'nın ise karşısına gelecek olan floresan ile işaretli oligonükleotid dizileri, ligaz enzimi ile adaptöre bağlanarak zincirin uzamasını ve yaydıkları floresan ile de dizilemenin oluşmasını sağlar (128, 130).

Veri analizi aşamasında bir takım biyoinformatik araçların kombinasyonları kullanılır. Tüm dizileri analiz etmek için farklı yazılım araçları kullanılarak varyant analizleri yapılır. Özel olarak tasarlanan, ticari olarak temin edilen diziyi dijital bilgiye dönüştüren yazılım paketleri ile biyoinformatik süreç tamamlanır (126). Bahsedilen süreç "base call"

floresan sinyallerinin kalite puanları hesaplanarak gerçek dizilere dönüşmesi ile başlar. Bunun için çoğu dizileme programı Pherd kalite skora sistemini kullanır. Pherd kalite skoru (Q skoru) hazırlık aşamasında yapılan hatalarla logaritmik olarak ilişkilidir. Yüksek çıkan kalite skorları yüksek kalite ile ilişkilendirilir (128, 131, 132).

Başarılı bir “base call” dan sonraki adım, genomik bölgelerin haritalanması ve hizalanmasıdır. Referans verilerde her bir okumanın doğru yeri bulunup hizalanır ve hastalık ilişkili olan genetik varyasyonlar ayırt edilir. Bu hizalaması sırasında referans dizinin çok büyük olması, indellerin çok fazla olması nedeniyle referans dizide tam olarak yerine oturamaması ya da okunan dizinin çok küçük olup birden fazla referans dizi ile eşleşiyor olması bazı zorluklar yaratır.

Araştırmacıların ve klinisyenlerin karşılaştıkları zorluk, genomdaki çok sayıda genetik varyasyonun ve her ekzomdaki yaklaşık 13.000 tek nükleotid varyasyonlarının biyolojik ve klinik önemini tasvir etmek ve bu bilgileri klinik uygulamaya aktarmaktır (133).

Mevcut verilere dayanarak bulunan moleküler değişiklikler, benign, muhtemelen benign, belirsiz öneme sahip değişiklikler, muhtemelen patojenik ve patojenik olarak 5 gruba ya da aktive olmayan, nötr-belirsiz öneme sahip değişiklikler ve aktive olarak 3 gruba ayrılır (128, 134, 135). Bu gruplandırma ilgili organa ve tümörün tipine göre literatürdeki daha önce yapılmış araştırmaların kaynak gösterilmesiyle hazırlanır (126). CAP, AMP

ve ASCO klavuzlarına göre varyantlar klinik olarak tedavi, prognoz ve tanısal açısından yol gösterici olan 4 gruba ayrılır. Bu gruplar Şekil 5’da açıklanmıştır (136).



**Şekil 6: Somatik mutasyonların kanıta dayalı sınıflandırılması**

## 2.6. Akciğer kanserinde moleküler testler için uygun biyopsi seçimi ve yeterlilik kriterleri

Akciğer kanserleri tanısı büyük çoğunlukla küçük biyopsilerden ya da sitolojik materyallerden konur. Histomorfolojik bulgular, immünohistokimyasal ya da histokimyasal testler ile tip ve tespit edilebiliyorsa alt tip belirlenir. Yapılabiliyorsa hedefe yönelik moleküler testler yapılır, yapılamıyorsa yapılabilecek uygun merkeze gönderilir.

Son zamanlarda sürücü mutasyonların keşfi ve buna yönelik tedavilerin gelişmesi ile geleneksel kemoterapinin (KT) yerini hedefe yönelik tedaviler almıştır. Kişiselleştirilmiş tedavi dönemi ile birlikte tümörün genotip ve fenotip karakterizasyon taleplerinde artış gözlenmektedir (137). KHDAK olan hastaların 2/3'ü cerrahi operasyon

şartlarını sağlamayacak durumda olan ileri evre hastalardır (138). Bu nedenle hastaların çoğunda kullanılacak biyopsi materyali küçük biyopsiler ve sitolojik materyallerdir (137).

Moleküler testlerin doğru olarak yapılabilmesi için, ilk adım yeterli tümör dokusunun örneklenmiş olmasıdır. Moleküler testlerin doğruluğu, yeterli ve kaliteli numune toplama ve materyalin uygun tekniklerde ve koşullarda hazırlanması ile yakın ilişkilidir (139).

Tümörden alınan örneğin seçimine genellikle klinisyenler, cerrahlar ve girişimsel radyologlar karar verir. Tek bir biyopsi örneğinden yapılan analizde genetik heterojenite nedeniyle primer tümör ve metastatik tümörlerin genelini temsil edemez (140). Fakat bu bariz heterojeniteye rağmen sürücü mutasyonlar, primer ya da metastatik tümörlere yönelik olarak belirlenen kişileştirilmiş tedaviler için önemli yol göstericilerdir (141). Hastada çok sayıda tümör odağı varsa tümör boyutu en büyük ve erişilebilirliği en kolay olan odak seçilir. Görüntüleme yöntemleri doğru yerden biyopsi alınması ve nekrotik alanlardan biyopsi alınmaması için kullanılabilir (142).

Moleküler testlerde kullanılan numuneler çoğunlukla sınırlı miktarda tümör hücresi ve neoplastik olmayan hücrelerin değişken oranlarını içerir. Bu nedenle moleküler testler için yeterli tümör hücresi kalacak şekilde morfolojik ve immünohistokimyasal belirteçlerin kullanımı sınırlandırılmaldır (143).

Moleküler testler için doku örneklerini kullanmak altın standart olmasına karşın ileri evre KHDAK'lerin önemli bir kısmına sitolojiden tanı konmaktadır. Sitoloji örneğinin tanı ve moleküler testlerde kullanım için uygun olduğu saptanmıştır (144). Sitoloji örneklerindeki *EGFR* mutasyon saptama oranları doku örnekleri ile benzerdir (145). Sitoloji örneklerinde tümör hücre oranı düşük olabileceğinden YND gibi daha duyarlı testlerin kullanılması gerekir. Tanısal ince iğne aspirasyon örnekleri, tümör hücrelerinin diskoheziv ve kolay aspire edilebilir olması nedeniyle sıklıkla yüksek tümör hücre oranlarına sahiptir (146). Yapılan çalışmalarda sitolojik örneklerden kazıma yöntemi ile alınan materyalde ya da hücre bloklarında da yüksek kalitede nükleik asit elde edilebileceği gösterilmiştir (146, 147).

Biyopsi ya da sitoloji örneklerinin alınmadığı durumlarda başka bir seçenek olarak dolaşımdaki tümör hücreleri ya da serbest tümör DNA'ları içerdiğinden plazma örnekleri de kullanılabilir. Serbest tümör DNA'sı evre I akciğer kanserlerinde %50, evre II-IV olanlarda %100 oranında plazmada bulunur. KHDAK'lerde likit biyopsi kullanımı, T790M mutasyonunun saptanmasında mutlak endikasyondur (41). Plazma ile tümör dokusundan alınan örneklerdeki mutasyon durumu arasındaki uyum oranları tespit yöntemleri ve uygun hasta gruplarına göre %34 ile %80 arasında değişmektedir (148). Plazma örnekleri, tümöre ait genetik heterojenite içermesi, minimal rezidüel hastakları ve erken nüksleri saptaması ve ileri evre akciğer kanserlerinde tedavi yanıt tahmini sağlması nedeniyle önemli avantajlar sağlar (140).

Formalin ile fikse örneklerde 300'den az hücre bulunması artefaktual mutasyonun yüksek olması nedeniyle yanlış sonuç riskini artırır (149). Başarılı bir mutasyon testi için önerilen hücre sayısı 100 ile 400 hücre aralığındadır (137). Sitoloji örnekleri için DNA konsantrasyonunun  $>25 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  olması, 30'dan fazla tümör hücresi içermesi ya da %30'dan fazla tümör hücre oranına sahip olması yeterlilik kriterleri olarak belirlenir (147).

Amplifiye edilecek olan tümör DNA'sının kalitesi numunelerdeki miktarından daha önemlidir. Kesin bir bilgi olmamakla birlikte bazı gruplar kapsamlı bir genomik analiz için tümör hücre oranında eşik değeri %60 olarak belirlemiştir (18, 150, 151). Moleküler testler için ideal bir örnek yüksek oranda tümör hücresine, minimum miktarda müsin ve nekroza sahip olmalıdır (137).

Artan duyarlılık ve tespit yöntemlerindeki hızlı ilerlemeler ile tümör hücresinin analitik sınırlaması azalır ve daha düşük tümör hücresine sahip örnekler moleküler testlerde kullanılabilir. CAP, Uluslararası Akciğer Kanseri Araştırmaları Derneği (IASLC) ve AMP kılavuzları, moleküler laboratuvarların, özellikle *EGFR* hedefli tedavi için, %10'dan az tümör hücresine sahip örneklerde mutasyonları tespit edebilen hassas moleküler yöntemlere sahip olunmasını önermektedir (152). Ancak 2018 yılında CAP, IASLC ve AMP'nin fikir birliği ile yayınlanan yeni moleküler test rehberinde, moleküler testler için kullanılacak olan örneklerin tümör hücre oranlarının %20 ve daha üstünde olması gerektiği vurgulanmıştır (153).

Çalışılacak solid tümöre %10'luk nötral tamponlu formalinde dokunun boyutlarına göre optimum zaman diliminde fiksasyon işlemi uygulanmalı ve soğuk iskemi süresi en aza indirilmelidir (154). Örnekleme ve rezeksiyondan sonraki 10 dakika içinde dokularda önemli biyokimyasal değişiklikler oluşmaya başlar. RNA ve protein bozulmasını azaltmak için soğuk iskemi süresi minimuma indirilmelidir. Materyal rezeksiyon ise ince dilimlere ayrılarak en kısa sürede fiksatif içine konulmalıdır (155). Formalin fiksasyonu artefaktual mutasyonlara ve nükleik asitlerin parçalanmasına neden olduğu için uzun fiksasyon süreleri moleküler testlerin duyarlılığını düşürür (156). Optimum fiksasyon süresi küçük biyopsi örnekleri için 6-12 saat, rezeksiyonlar için 8-24 saat olarak önerilmektedir. Son klavuzlar 6-48 saatlik bir fiksasyonun moleküler testler için kabul edilebilir bir zaman aralığı olduğunu belirtmektedir (152, 157).

Kemik, akciğer kanserinin sık metastaz alan bölgelerinden biridir. Kemikten alınan biyopsilerde nükleik asit yapısını bozması sebebiyle dekalsifikasyondan kaçınılmalıdır. Dekalsifikasyon yapılması zorunlu olan biyopsilerde ise nükleik asit hasarının minimum olması için dekalsifikasyon aşamasında EDTA'lı solüsyonların kullanımı önerilmektedir (158, 159).

Dondurulmuş materyalde yüksek kalitede nükleik asit ve protein olmasına karşın morfolojik detaylar net olarak seçilemez ve dokuların işlenmesinde, saklanmasında problemler yaratır. Alkol fiksasyonu, formaline göre daha az kimyasal değişikliğe sahip olduğu için alkol ile fikse

olan numuneler daha yüksek kalitede nükleik asit içerir (155, 160). Ancak morfolojik detayları değiştirebileceği unutulmamalıdır (161).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

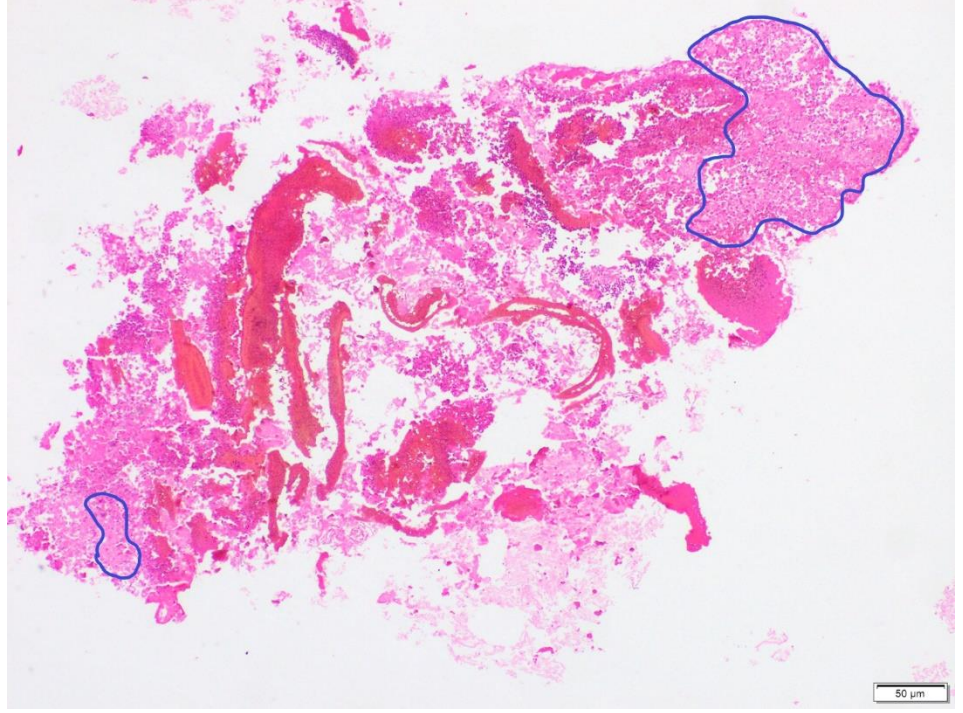
#### **3.1. Olguların seçilmesi ve verilerin toplanması**

Çalışmamızda 2018-2019 yılları arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'na başvuran 1500 küçük hücreli dışı akciğer kanseri tanısı alan olgular değerlendirildi.

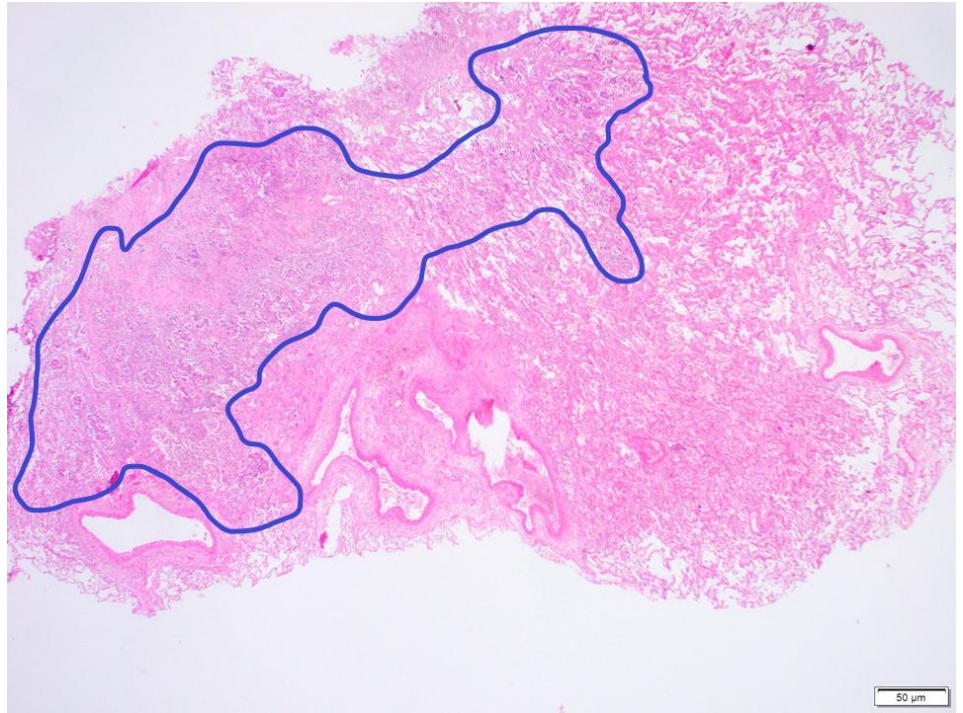
Olguların yaşı, cinsiyeti, materyalin tipi ve alındığı yer "Nucleus" otomasyon sisteminden tarandı. Hastaların materyallerinin 136'sı likit biyopsi (periferik kan örneği), 1364'ü formalin ile fikse parafine gömülü (FFPG) dokulardan oluşmaktadır.

#### **3.2. Morfolojik parametreler**

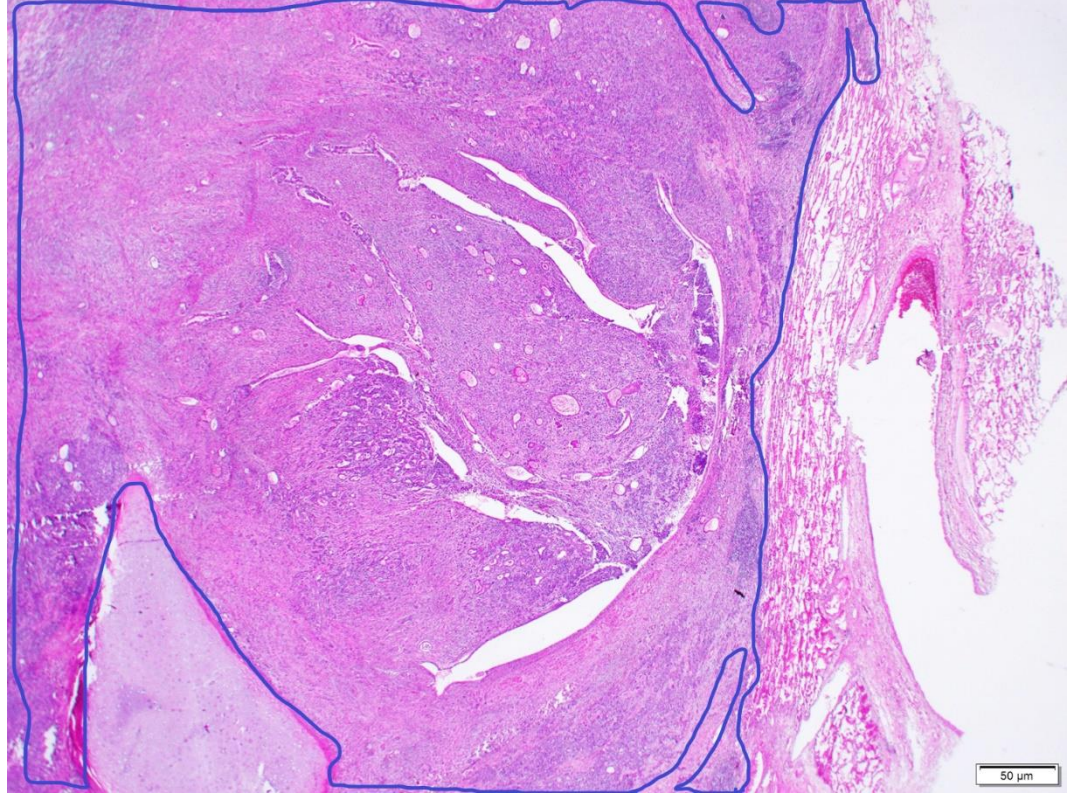
Olguların 1364'ü formalin fikse parafine gömülü doku (FFPG) örnekler olup 1327'sine ait tümör içeren hematoksilen eozin (H&E) boyalı lamalar değerlendirildi. Tümörün tipi, alt tipi ve YND için tümör hücre oranları saptandı (Resim 7, Resim 8, Resim 9).



**Resim 7: Hücre bloğu, tümör hücre oranı %5, H&E x12,5**



**Resim 8: Akciğer rezeksiyonu, tümör hücre oranı %30, H&E x12,5**



**Resim 9: Akciğer rezeksiyonu, tümör hücre oranı %85, H&E x12,5**

### 3.3. Olguların hazırlanması

#### 3.3.1. FFPG örneğinde DNA izolasyonu

Birinci adım, GeneRead DNA FFPG kiti (Cat no:180134) ve QIAcube cihazı kullanılarak yapılan DNA izolasyonudur. İzolasyon işleminde öncelikle parafin bloklardan 10 µm kalınlığında kesitler alınarak deparafinizasyon solüsyonu eklenerek deparafinizasyon ve deparafinizasyondan sonra RNAase-free su, 25 µl buffer FTB ve 20 µl proteinaz K eklenerek parçalama işlemi yapıldı. QIAcube cihazında çeşitli “buffer” lar (buffer AL, buffer AW1, buffer AW2 ve buffer ATE gibi) ve etanol (%96-100) kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı.

#### 3.3.2. Likit biyopsi örneğinde DNA izolasyonu

Hastalardan alınan kan örnekleri santrifüj edilerek santrifüj sonrası süpernatanttan 4 ml alındı. Proteinaz K ve birkaç “buffer” (buffer ACL, buffer ACB gibi) eklenip inkübasyon yapıldı. Kit içerisinde çıkan OIAmp Mini elüsyon kolonlarını QIAvac üzerindeki VacConnector'lara yerleştirildi. Paxgene tüplerine konulup 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Yine birkaç “buffer” ve 750 µl %96'lık etanol eklenerek QIAvac'taki işlemlere devam edilip sonrasında QIAvac'tan çıkarıldı. Etanol uzaklaştırılarak AVE Buffer eklendi.

#### 3.3.3. İzole edilen DNA'ların ölçümü

“Qubit™ dsDNA HS Assay *KIT* ve Qubit™ dsDNA HS buffer” kullanılarak materyal 1/200 oranında seyreltilip Qubit çalışma solüsyonu

hazırlanıp DNA ölçümü yapıldı. Qubit® 2.0 Fluorometer cihazında sırasıyla DNA, dsDNA High Sensitivity protokolleri seçilip her bir numune için ng/ $\mu$ L cinsinden DNA miktarı ölçüldü. DNA için eşik değeri “GeneRead QIAact Actionable Insight” kiti için 40 ng, “AIT UMI” ve “Lung UMI” için 40-100 ng arasındadır.

#### 3.3.4. Dizileme basamakları

##### 3.3.4.1. DNA’yı parçalama, tamir ve adaptör bağlama

DNA örnekleri, PCR tüpüne aktarılıp 10 ng/ $\mu$ L’ye seyreltilerek 4  $\mu$ L dilüe edilmiş (40 ng) örnekler temiz PCR tüpüne aktarıldı. Parçalayıcı enzim ve birkaç solüsyon eklenip PCR başlatıldı. “QIAact Adapter” solüsyonu eklenerek adaptör bağlama işlemi gerçekleştirildi.

##### 3.3.4.2. Hedef zenginleştirme ve PCR ile amplifikasyon

Çeşitli primerler ve solüsyonlar ile muamele edilen DNA materyalinde hedef bölgeler zenginleştirildi. Zenginleştirilen DNA’ya PCR solüsyonları eklenerek PCR cihazına yüklendi. Cihazdan çıkan primerlerin yüklendiği DNA bağlı boncuklar “Oil Mix” adı verilen sıvı ile birleştirilip “GeneRead Qiacube” cihazında emülsiyon PCR için hazırlandı ve PCR’ye yerleştirilerek klonal amplifikasyon yapıldı.

### 3.3.4.3. Dizileme aşaması

Dizilemenin primeri hazırlanarak DNA'nın bulunduğu tüpe eklendi. Manyetik alan üzerinde çeşitli temizleme işlemleri yapılarak materyal "flowcell" adı verilen dizilemenin yapılacağı alana alındı.

YND yöntemine dayanan bu analizde izole edilen nükleik asit, "QIAGEN GeneReader" YND sistemi cihazında, "QIAGEN GeneReader Panel PCR kiti" ile 594'ü "GeneRead QIAact Actionable Insight" (*ALK, BRAF, EGFR, ERBB2, ERBB3, ESR1, KIT, KRAS, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, RAF1*), 745'i "GeneRead QIAact Lung DNA UMI" (*ALK, AKT1, BRAF, DDR2, EGFR, ERBB2, ESR1, FGFR1, KIT, KRAS, MAP2K1, MET, NTRK1, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PTEN, RICTOR, ROS1*) ve 161'i "GeneRead QIAact AIT DNA UMI" (*AKT1, ALK1, BRAF, CTNNB1, DDR2, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ESR1, FBXW7, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT3, GNAQ, GNA11, HRAS, KIT, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, MET, NOTCH1, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, RAF1, SMAD4 ve STK11*) tümör panelleri kullanılarak incelendi. "QIAGEN Clinical Insight Analyse" ve "QIAGEN Clinical Insight (QCI) Interpret" arayüzlerinden biri ya da birkaçı kullanılarak biyoinformatik analiz yapıldı ve anlamlı bulunan varyantlar listelendi (Şekil 7).

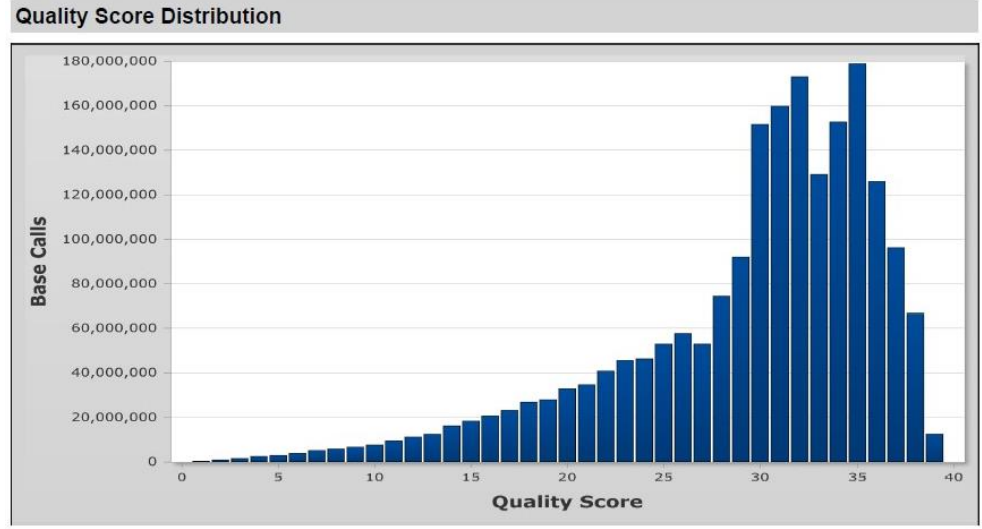
"GeneRead QIAact Actionable Insight"				"GeneRead QIAact Lung DNA UMI"				"GeneRead QIAact AIT DNA UMI"				
				ALK	AKT1	BRAF	DDR2	AKT1	ALK	BRAF	CTNNB1	DDR2
ALK	BRAF	EGFR	ERBB2	EGFR	ERBB2	ESR1	FGFR1	EGFR	ERBB2	ERBB3	ERBB4	ESR1
ERBB3	ESR1	KIT	KRAS	KIT	KRAS	MAP2K1	MET	FBXW7	FGFR1	FGFR2	FGFR3	FLT3
NRAS	PDGFRA	PIK3CA	RAF1	NTRK1	NRAS	PDGFRA	PIK3CA	GNAQ	GNA11	HRAS	KIT	KRAS
				PTEN	RICTOR	ROS1		MAP2K1	MAP2K2	MET	NOTCH1	NRAS
								PDGFRA	PIK3CA	RAF1	SMAD4	STK11

### Şekil 7: Tümör panellerinin listesi

“QIAGEN Clinical Insight (QCITM)” insan genetik verilerini analiz eden araştırma ve klinik laboratuvarlar için bir varyant analizi, yorumlama ve karar vermede destek aracıdır. “QCI Interpret” yazılımı, “QCI-Interpret (5.4.20181019), Ingenuity Knowledge Base (Stepford 190106.000), CADD (v1.3), Allele Frequency Community (2018-09-06), EVS (ESP6500SI-V2), Refseq Gene Model (2018-07-10), JASPAR (2013-11), Ingenuity Knowledge Base Snapshot Timestamp (2019-01-06 00:23:50.0), Vista Enhancer hg18 (2012-07), Vista Enhancer hg19 (2012-07), Clinical Trials (Stepford 190106.000), PolyPhen-2 (v2.2.2), 1000 Genome Frequency (phase3v5b), ExAC (0.3.1), iva (Oct 4 11:04 iva-1.0.736.jar), PhyloP hg18 (2009-11), PhyloP hg19 (2009-11), DbSNP (151), TargetScan (6.2), GENCODE (Release 28), CentoMD (5.0), OMIM (May 26, 2017), gnomAD (2.0.1), BSIFT (2016-02-23), TCGA (2013-09-05), Clinvar (2018-08-01), DGV (2016-05-15), COSMIC (v86), HGMD (2018.3), SIFT4G (2016-02-23) gibi temel veri tabanlarını, veri referans setlerini ve araçlarını içerir.

### 3.4. Verilerin yorumlanması

QCI programında oluşturulan veriler bir patolog tarafından analiz edildi. Her dizileme sonucunda kalite skoru verildi. Kalite skorunun 25'in altında olması çalışmanın kalitesinin düşük olduğunu ve fazla yanlış okumanın olduğunu gösterdiğinden kalite skoru 25'in altında olanlar çalışmaya dahil edilmedi. Çalışmamızda hem likit biyopsi hem de FFPG doku örneklerine ait ortalama kalite skoru yaklaşık 35'tir (Grafik 1). İkinci kalite skoru değerlendirmesinde "GeneRead QIAact Lung DNA UMI" ve "GeneRead QIAact AIT DNA UMI" tümör panellerinde, FFPG doku örneklerinin okuma derinliğinin %90'ının 100x'in, "GeneRead QIAact AIT DNA UMI" de ise 500x'in "GeneRead QIAact Actionable Insight" tümör panelinde ise plazma örneklerinin okuma derinliğinin %90'ının 200x'in üzerinde olmasına dikkat edildi.



**Grafik 1: Analiz edilen bir vakanın kalite skoru**

Varyant analizleri değerlendirilirken ileri ve geri yöndeki okumaların sayısının yeterliliğine ve dengeli olmasına dikkat edildi.

Referans diziye hizalanan çoğaltılmış DNA dizilerindeki aminoasit değişikliklerinin oluşturduğu yanlış anlamlı ya da erken durdurma kodonun oluşturduğu anlamsız mutasyonlar, çerçeve kayması yaratan ya da çerçeve içinde gerçekleyen delesyon, insersiyon, delins ve duplikasyonların yanı sıra kopya sayı değişiklikleri saptandı. Sistem bu varyantları, patojenik, muhtemelen patojenik, klinik önemi belirsiz, muhtemelen benign ve benign olarak 5 adet kategoride gruplandırdı.

Bir varyantın popülasyonda görülme sıklığının %0 ya da %0'a yakın bir değerde olmasına dikkat edildi. Dizinin okunma sayısının az olması ve varyantın somatik fraksiyonunun buna karşın düşük olması okumanın güvenilirliğini azalttığından değerlendirmeye alınmadı. Varyant analizi

yapılırken allel fraksiyonunun likit biyopsilerde düşük DNA miktarı nedeniyle FFPG biyopsilere göre daha az olabileceği göz önünde bulunduruldu.

Yukarda tanımlanan kategorilerden patojenik, muhtemelen patojenik ve literatür taraması sonucu kliniğe anlamlı katkılar sunabileceği düşünülen önemi belirsiz olan gruptaki varyantlar, hastanın klinik bulguları ve tümör tipi de göz önüne alınarak değerlendirilip rapor edildi.

### **3.5. İstatistiksel Analiz**

Çalışmamızda elde edilen verilerin değerlendirilmesi ve tabloların oluşturulması amacıyla SPSS (Statistical Package for Social Sciences) version 22 kullanıldı. Nicel verilerin sunulması amacıyla ortalama, standart sapma ve kategorik verilerin (nitel veriler) sunumu için ise frekans ve yüzde değerler kullanıldı. Kategorik değişkenlerin istatistiksel değerlendirilmesinde Ki-kare ( $X^2$ ) testi ve gerekli olduğu durumlarda Fisher exact test kullanıldı. Bütün istatistiksel analizlerde önemlilik seviyesi olarak  $p<0.05$  değeri kabul edildi.

### **3.6. Etik kurul onayı**

Gazi Üniversitesi Ölçme Değerlendirme Etik Alt Çalışma Grubu'nun 12.03.2019 tarihindeki 02 sayılı toplantısında 91610558-302.08.01- sayılı, 2019-050 araştırma kod numaralı çalışmamız etik kurul onayı almıştır.

## **4. BULGULAR**

### **4.1. Hastaların demografik verileri ve klinik özellikleri**

Çalışmamızda KHDAK tanısı alan 1500 olgu incelendi. Olguların 371'i (%24,7) kadın, 1129'u (%75,3) erkekti. Tanı alan en genç hasta 15, en yaşlı hasta 101 yaşında olup hastaların yaş ortalaması  $63,48 \pm 10,62$ , ortanca yaşları 64'tü. Erkek hastalarda yaş ortalaması  $63,7 \pm 10,1$ , kadınlarda ise  $62,9 \pm 12,1$ 'di.

### **4.2. Primer ve metastatik tümörlerin belirlenmesi ve materyalin örneklenme şekilleri**

Çalışılan dokuların %90,9'u (1364) FFPG doku, %9,1'i (136) plazma örnekleriydi. FFPG biyopsilerin 957'si (%70,2) akciğerdeki primer lezyondan, 74'ü (%5,4) plevral dokulardan, 188'i (%13,8) lenf nodu metastazlarından, 144'ü (%10,5) ise metastatik dokulardan oluşmaktaydı. Bir adet dokunun nereden alındığı raporlara not edilmemişti.

Akciğer tümör biyopsi örneklerinin, 488'i (%51) transtorasik biyopsi, 223'ü (%23,3) bronkoskopik biyopsi, 185'i (%19,3) rezeksiyon materyali şeklindeydi. Akciğer tümörlerinden alınan 61 (%6,4) sitoloji örneğinin 2'si (%0,2) bronkoalveolar lavaj (BAL), 5'i (%0,5), bronş lavajı (BL), 19'u (%2) endobronşial ince iğne aspirasyonu (İİAS) ve 16'sı (%1,7) transtorasik ince iğne aspirasyonu iken sitoloji örnekleme tipini belirtmeyen 19 olgu (%2) mevcuttu. Yetmiş dört adet plevra örneğinin

32'si biyopsi, 42'si transtorasik ince iğne aspirasyon sitolojisinden hazırlanan hücre bloğu şeklindeydi.

Çalışmamızdaki 188 lenf nodu metastazından alınan örneklerin 86'sı biyopsi, 102'si ince iğne aspirasyon sitolojisiydi. Metastatik lenf nodu örneklerinin 56'sı 4 numaralı lenf nodu, 1'i 5 numaralı lenf nodu, 26'sı 7 numaralı lenf nodu, 18'i 11 numaralı lenf nodu, 17'si supraklaviküler lenf nodu, 27'si servikal lenf nodu, 7'si aksiller lenf nodu, 4'ü paratrakeal lenf nodu, 5'i 10 numaralı lenf nodu, 1'i inguinal lenf nodu ve 1'i 12 numaralı lenf noduna aitti. Yirmibeş lenf nodu metastaz örneğinin ise hangi lenf noduna ait olduğu belirtilmemiştir.

Metastatik doku örneklerinin, 71'i insizyonel biyopsi, 73'ü eksizyonel biyopsi şeklinde alınmıştı. Yirmisekiz olgu (%19,4) kemik, 25 olgu (%17,4) yumuşak doku, 47 olgu (%32,6) beyin, 30 olgu (%20,8) karaciğer, 5 olgu (%3,5) sürrenal bez, 2 olgu (%1,4) perikard, 1 olgu (%0,7) meme, 1 olgu (%0,7) böbrek metastazına ait dokulardan analiz yapıldı. Metastatik doku örneğinin 5'inin (%3,5) ise nereden örneklendiği bilinmemekteydi.

### **4.3. Dokulardaki tümör hücre oranları**

Çalışılan FFPG doku örneklerinden 37'sinin H&E boyalı lamaları analiz için kullanıldığından tümör hücre oranları değerlendirilemedi. 1327 vakanın 2'sinde tümör hücre oranı %5'in altındaydı ve bu iki preparattaki tümör hücre sayısı 30 ve 56'ydı. Diğer örneklerde tümör hücre oranları %5-

95 arasında değişmekteydi. Ortalama tümör hücre oranı  $46\pm 24,5$ , ortanca değer 40'tı.

Tümör hücre oranı eşik değeri %20 olarak analiz yapıldı. Yüzde %20 ve üzerinde tümör hücre oranına sahip 1163 (1163/1327, %87,6), %20'nin altında 164 (164/1327, %12,4) örnek mevcuttu.

#### **4.4. Tanıların analizi**

Hastaların büyük çoğunluğunun tanısı (985 hasta, %65,7) ADK olup ADK'lerin 35'i (%2,3) invaziv müsinöz adenokarsinom, 11'i (%0,7) taşlı yüzük hücre morfolojisinde ADK'dir. Geri kalan hastaların 194'ü (%12,9) SHK, 15'i (%1) adenoskuamöz karsinom, 11'i (%0,7) BHK, 1'i (%0,1) kombine BHNEK+ADK+SHK, 8'i (%0,6) BHNEK, 1'i (%0,1) kombine BHNEK+SHK, 11'i (%0,8) sarkomatoid karsinom, 1'i (%0,1) kombine BHNEK+ADK, 2'si (%0,1), kombine KHK+ADK, 231'i (%15,4) KHDAK, daha ileriye spesifiye edilemeyen ve 41'i (%2,7) sadece malign epitelyal tümör olarak sınıflandırıldı.

#### **4.5. Alt tip analizi**

##### **4.5.1. Adenokarsinomlardaki alt tiplerin analizi**

ADK tanılı tümörlerin 30'u tümör hücre azlığı ya da sitoloji örneklerinden hazırlanan hücre blokları şeklinde olduğundan, 21'inin lamalarına ulaşamadığından ve 49'unun plazma olmasından dolayı alt tip tayini yapılamadı. Kalan 839 ADK olgusunun, 18'i (%2,1) lepidik, 556'sı

(%66,3) asiner, 55'i (%6,6) papiller, 36'sı (%4,3) mikropapiller, 161'i (%19,2) solid ve 13'ü (%1,5) kribriform alt tipindeydi.

#### 4.5.2. Skuamöz hücreli karsinomdaki alt tip analizi

SHK tanılı tümörlerin 1'i tümör hücre azlığı, 2'si lamalarına ulaşamadığından ve 9'unun plazmadan çalışılması nedeniyle alt tip tayini yapılamamış olup, 182 SHK olgusu değerlendirilebilindi. Bu olguların 82'si keratinize (%45,1), 94'ü keratinize olmayan (%51,6) ve 6'sı bazaloid (%3,3) alt tipteydi.

**Tablo 2: Çalışmamızdaki hastaların verileri**

Hasta Özellikleri	Hastalar (N=1500)
Yaş (yıl, ortalama)	15-101(63,48±10,62)
Cinsiyet	
Erkek	1129 (%75,3)
Kadın	371 (%24,7)
Numune tipleri	
FFPG	1364 (%90,9)
Plazma	136 (%9,1)
FFPG örneklerin alındığı yerler	
Akciğer	957 (%70,2)
Plevra	74 (%5,4)
Lenf nodu	188 (%13,8)
Metastaz	144 (%10,5)
Bilinmiyor	1 (%0,1)
Akciğer tümörlerden örnek alınma şekilleri	
Transtorasik biyopsi	488 (51)
Bronkoskopik biyopsi	223 (%23,3)
Rezeksiyon materyali	185 (%19,3)
Sitoloji	61 (%6,4)
Akciğer sitolojilerinin alınma şekilleri	
Endobronşial İİAS	19 (%2)
Transtorasik İİAS	16 (%%1,7)
BL	5 (%0,5)
BAL	2 (%0,2)
Bilinmiyor	19 (%2)
Plevradaki tümörlerin alınma şekilleri	
Biyopsi	32 (%43,2)
Transtorasik İİAS	42 (%56,8)
Lenf nodu metastazı yerleri	
4 numaralı LN	56 (%29,8)
5 numaralı LN	1 (%0,5)
7 numaralı LN	26 (%13,8)
10 numaralı LN	5 (%2,7)
11 numaralı LN	18 (%9,6)
12 numaralı LN	1 (%0,5)
Servikal LN	27 (%14,4)
Supraklavükler LN	17 (%9)
Aksiller LN	7 (%3,7)
İnguinal LN	1 (%0,5)
Paratrakeal	4 (%2,2)

Bilinmiyor	25 (%13,3)
<b>Metastaz yerleri</b>	
Kemik	28 (%19,4)
Yumuşak doku	25 (%17,4)
Beyin	47 (%%32,6)
Karaciğer	30 (%20,8)
Sürrenal bez	5 (%3,5)
Meme	1 (%0,7)
Perikard	2 (%1,4)
Böbrek	1 (%0,7)
Bilinmiyor	5 (%3,5)
<b>Histolojik tanı</b>	
ADK	985 (%65,7)
SHK	194 (%12,9)
Adenoskamöz	15 (%1)
BHK	11 (%0,7)
BHNEK	8 (%0,6)
Kombine BHNEK+ADK	1 (%0,1)
Kombine BHNEK+SHK	1 (%0,1)
Kombine BHNEK+SHK+ADK	1 (%0,1)
Sarkomatoid karsinom	11 (0,7)
Kombine KHK+ADK	1 (%0,1)
KHDK, daha ileriye spesifiye edilemeyen	231 (%15,4)
Malign epitelyal tümör	41 (%2,7)
<b>ADK histolojik alt tip</b>	
Lepidik	18 (%2,1)
Asiner	556 (%66,3)
Papiller	55(%6,6)
Mikropapiller	36 (%4,3)
Solid	161 (%19,2)
Kribriform	13 (%1,5)
<b>Gen değişikliği</b>	
Var	816 (%54,4)
Yok	684 (% %45,6)

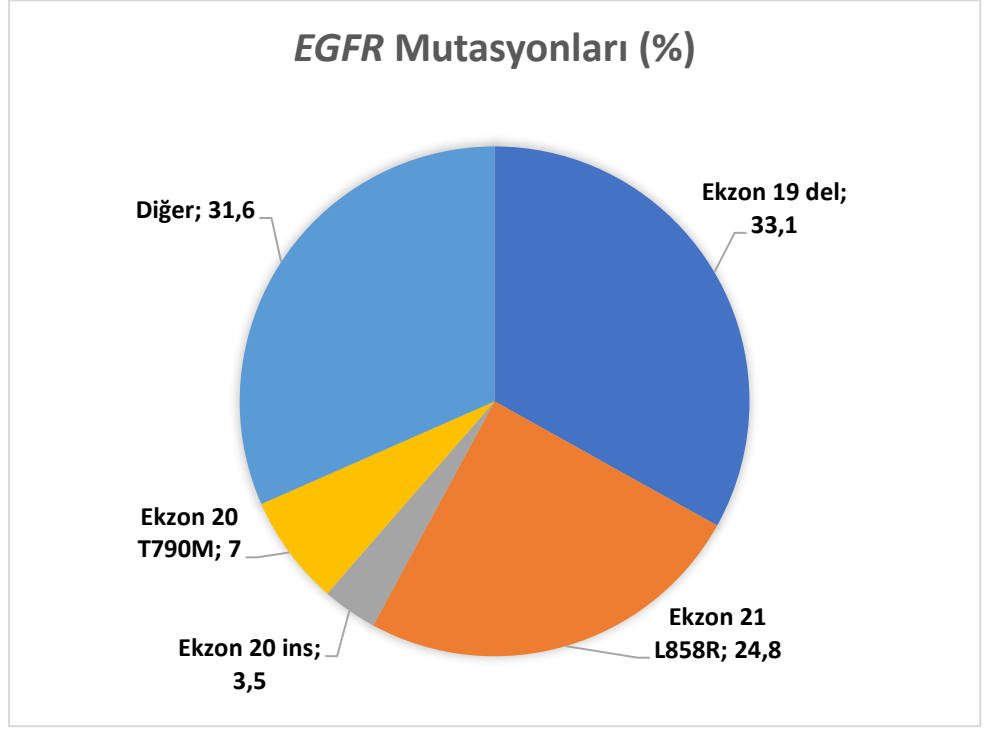
#### 4.6. Gen değişikliklerinin analizi

Çalışmamızda genlerin nokta mutasyonları, geniş delesyon ve insersiyonları ve gen kopya sayısı değişiklikleri incelendi. Genel olarak gen değişikliklerinin görülme sıklığı %54,4 (816 hasta) olarak saptandı. Birden fazla gen sapmasına sahip hasta sayısı 165'ti (%11). FFPG örneklerinin %55,5'inde (757/1364), plazma örneklerinin %43,3'ünde (59/136) gen değişikliği bulundu.

En az bir *EGFR* gen değişikliği görülen olgu sayısı 312'ydi (%20,8). *EGFR* gen değişikliği kadınların %36,7'sinde (136/371) erkeklerin ise %15,5'inde (176/1129) saptandı ( $p < 0,001$ ). *EGFR* amplifikasyon oranları ise kadınlarda %14,6 (33/226) erkeklerde %11,3'tü (77/680) ( $p = 0,336$ ).

*EGFR* mutasyonu varlığı açısından 1500 hasta incelendi. İki yüz kırk bir (%16,1) hastada mutasyon saptandı. Bazı hastalarda birden fazla *EGFR* mutasyonu görüldüğü için toplam mutasyon sayısı 311 olarak saptandı. *EGFR* mutasyonlarının %57,9'unu ekzon 19 delesyonu (103/311, %33,1) (E746\_A750del (c.2235\_2249delGGAATTAAGAGAAGC), E746\_A750del (c.2236\_2250delGAATTAAGAGAAGCA), L747\_E749del, L747\_P753delins, L747\_T751del, E746\_T751delinsA, P753\_K754del, L747\_A750del, N756\_I759del, L747\_S752del, S752\_I759del, T751\_E758del, E746\_T751del, A750fs\*11, L747fs\*16, P753fs\*9) ve L858R mutasyonları (77/311%24,8) oluşturmaktaydı. Ekzon 19 çerçeve içi delins (p.E746\_E749delinsQ, E746\_T751delinsL,

E746\_L747delinsA, E746V, E746\_S752delinsV ,7/311) %2,3, ekzon 19 yanlış anlamlı SNV'ler (A750P, I744M, L747S, A750P, T751P, T751I, A750E, P753Q, K754E, I759N, 19/311) %6,1, ekzon 3'te 3 adet ekzon 6'da 1 adet yanlış anlamlı SNV'ler (R108K, E114K, G221V, 4/311), %1,3, ekzon 7'de yanlış anlamlı SNV'ler (A289D, A289V, 2/311) %0,6, ekzon 15'te yanlış anlamlı SNV'ler (P596L, P596R, S645C, 3/311) %1, ekzon 18'de yanlış anlamlı SNV'ler (G719S, G719A, E709A, Y727C, G719C, S720T, L707F, I706T, E709K 16/311) %5,1, Ekzon 20'deki bir yanlış anlamlı SNV olan T790M mutasyonu %7 (22/311), ekzon 20'deki diğer yanlış anlamlı SNV'ler (S768I, P772S, H773Y, G779C, Q787R, T783I, V786L, C797S, V769L, G779R, R776H, R776C, V774M, H773L, R776L, P772L 26/311) %8,4, Ekzon 20 çerçeve içi insersiyonlar (A767\_V769dup, P772\_H773insNPNP, S768\_D770dupSVD, V769\_D770insGGV, N771delinsKPH, N771\_H773dup, H773\_V774dup) %3,5 (11/311), ekzon 20 delesyonu (F795\_L798del, 1/311) %0,3, ekzon 20 delins (N771delinsGF ve G779F, 2/311) %0,6, L858R haricindeki ekzon 21 yanlış anlamlı SNV'ler (L861Q, R832C, K846R, V834L, L833V, E865K, H835L, E829K, A871T, D837N, E868K, G863D, L861R, E829Q, 18/311), %5,8, ekzon 25 R999H yanlış anlamlı SNV %0,3'tü (1/311) (Grafik 2, Tablo 3, Tablo 4, Tablo 5).



**Grafik 2: KHDAK'larında EGFR mutasyonlarının görülme sıklığı**

**Tablo 3: Tek saptanan EGFR mutasyonlarının sıklığı**

Sıra	Ekzon	Genomdaki yer değişikliği	Proteindeki değişiklik	Mutasyon tipi	%	Sıklık
1	Ekzon 3	c.323G>A	p.R108K	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
2	Ekzon 3	c.340G>A	p.E114K	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
3	Ekzon 6	c.662G>T	p.G221V	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
4	Ekzon 7	c.866C>T	p.A289V	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
5	Ekzon 15	c.1787C>T	p.P596L	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
6	Ekzon 15	c.1787C>G	p.P596R	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
7	Ekzon 17	c.1934C>G	p.S645C	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
8	Ekzon 18	c.2156G>C	p.G719A	Yanlış anlamlı SNV	0,8	2
9	Ekzon 18	c.2126A>C	p.E709A	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
10	Ekzon 18	c.2161G>T	p.G721C	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
11	Ekzon 18	c.2121G>T	p.L707F	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
12	Ekzon 18	c.2180A>G	p.Y727C	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
13	Ekzon 19	c.2235_2249delGG AATTAAGAGAA GC	p.E746_A750 del	Çerçeve içi del	16,2	39
14	Ekzon 19	c.2236_2250delGA ATTAAGAGAAG CA	p.E746_A750 del	Çerçeve içi del	6,6	16
15	Ekzon 19	c.2248G>C	p.A750P	Yanlış anlamlı SNV	0,8	2
16	Ekzon 19	c.2240_2257delTA AGAGAAGCAAC ATCTC	p.L747_P753 delinsS	Çerçeve içi del	1,2	3
17	Ekzon 19	c.2240_2254delTA AGAGAAGCAAC AT	p.L747_T751 del	Çerçeve içi del	2,1	5
18	Ekzon 19	c.2232C>G	p.I744M	Yanlış anlamlı SNV	0,8	2
19	Ekzon 19	c.2237_2251delAA TTAAGAGAAGC AA	p.E746_T751 delinsA	Çerçeve içi del	0,8	2
20	Ekzon 19	c.2240T>C	p.L747S	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
21	Ekzon 19	c.2236_2253delGA ATTAAGAGAAG CAACAinsCTT	p.E746_T751 delinsL	Çerçeve içi delins	0,4	1
22	Ekzon 19	c.2237_2238delAAi nsTC	p.E746V	Çerçeve içi delins	0,4	1
23	Ekzon 19	c.2248_2263delGC AACATCTCGGA AAG	p.A750fs*11	Çerçeve kayması del	0,8	2

24	Ekzon 19	c.2237_2255delAA TTAAGAGAAGC AACATCinsT	p.E746_S752 delinsV	Çerçeve içi delins	1,2	3
25	Ekzon 19	c.2252_2275delCA TCTCCGAAAGCC ACAAGGAAA	p.T751_E758 del	Çerçeve içi del	0,8	2
26	Ekzon 19	c.2276T>A	p.I759N	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
27	Ekzon 19	c.2235_2252delGG AATTAAGAGAA GCAAC	p.E746_T751 del	Çerçeve içi del	0,4	1
28	Ekzon 20	c.2300_2308dupCC AGCGTGG	p.A767_V769 dup	Çerçeve içi ins	0,8	2
29	Ekzon 20	c.2303_2311dupGC GTGGACA	p.S768_D770 dupSVD	Çerçeve içi ins	0,4	1
30	Ekzon 20	c.2317C>T	p.H773Y	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
31	Ekzon 20	c.2311_2312delAAi nsGGGTT	p.N771delins GF	Çerçeve içi delins	0,4	1
32	Ekzon 20	c.2308_2309insGG GGCGTGG	p.V769_D770 insGGV	Çerçeve içi ins	0,8	2
33	Ekzon 20	c.2360A>G	p.Q787R	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
34	Ekzon 20	c.2348C>T	p.T783I	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
35	Ekzon 20	c.2356G>T	p.V786L	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
36	Ekzon 20	c.2385_2396delCG GCTGCCTCCT	p.F795_L798 del	Çerçeve içi del	0,4	1
37	Ekzon 20	c.2305G>C	p.V769L	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
38	Ekzon 20	c.2327G>A	p.R776H	Yanlış anlamlı SNV	0,8	2
39	Ekzon 20	c.2312_2313insAC CCCA	p.N771delins KPH	Çerçeve içi ins	0,4	1
40	Ekzon 20	c.2335_2336delGGi nsTT	p.G779F	Delins	0,4	1
41	Ekzon 20	c.2311_2319dupAA CCCCAC	p.N771_H773 dup	Çerçeve içi ins	0,4	1
42	Ekzon 20	c.2327G>T	p.R776L	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
43	Ekzon 20	c.2315C>T	p.P772L	yanlış anlamlı SNV	0,4	1
44	Ekzon 21	c.2573T>G	p.L858R	Yanlış anlamlı SNV	23,6	57
45	Ekzon 21	c.2582T>A	p.L861Q	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
46	Ekzon 21	c.2611G>A	p.A871T	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
47	Ekzon 21	c.2509G>A	p.D837N	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
48	Ekzon 21	c.2588G>A	p.G863D	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
49	Ekzon 21	c.2582T>G	p.L861R	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
50	Ekzon 21	c.2485G>C	p.E829Q	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
51	Ekzon 25	c.2996G>A	p.R999H	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1

**Tablo 4: İki EGFR mutasyon birlikteliği**

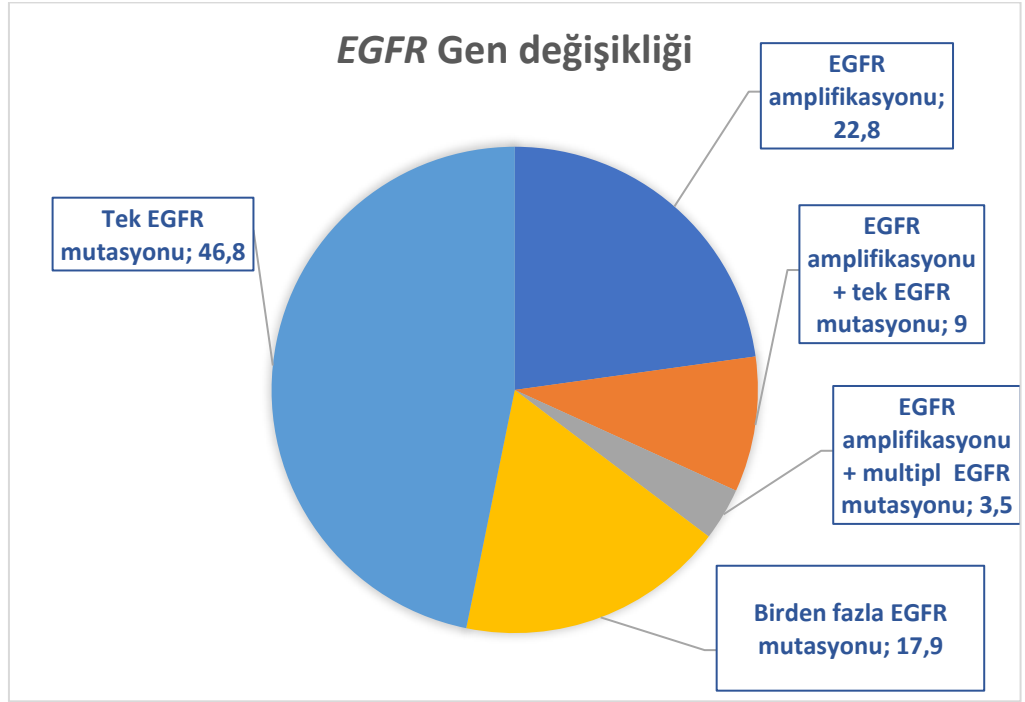
Sıra	1.	2.	%	Sıklık
1	Ekzon 3 c.323G>A p.R108K, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	0,8	2
2	Ekzon 7 c.866C>T p.A289V, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
3	Ekzon 18 c.2156G>C p.G719A, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 18 c.2117T>C p.I706T, Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
4	Ekzon 18 c.2155G>A p.G719S Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 18 c.2126A>C p.E709A, Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
5	Ekzon 18 c.2158T>A p.S720T, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 19 c.2240T>C p.L747S, Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
6	Ekzon 18 c.2155G>T p.G719C Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 20 c.2303 G>T p.S768I, Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
7	Ekzon 18 c.2156G>C p.G719A, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2582T>A p.L861Q, Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
8	Ekzon 18 c.2126A>C p.E709A, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2582T>A p.L861Q, Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
9	Ekzon 18 c.2155G>A p.G719S Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2497T>G p.L833V, Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
10	Ekzon 18 c.2125G>A, p.E709K, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
11	Ekzon 19 c.2249C>A p.A750E Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 19 c.2237_2241delAATTAinsCC p.E746_L747delinsA Çerçeve içi delins	0,4	1
12	Ekzon 19 c.2257_2262delCCGAAA p.P753_K754del Çerçeve içi del	Ekzon 19 c.2265_2277delCAACAAGGAA ATCinsT p.N756_I759del Çerçeve içi delins	0,4	1
13	Ekzon 19 c.2239_2250delTTAAGAGAAG CA p.L747_A750del Çerçeve içi del	Ekzon 19 c.2251A>C p.T751P Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
14	Ekzon 19 c.2248G>C p.A750P Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 19 c.2236_2245delGAATTAAGAGi nsC p.E746_E749delinsQ, Çerçeve içi delins	0,4	1
15	Ekzon 19 c.2239_2247delTTAAGAGAA p.L747_E749del Çerçeve içi del	Ekzon 19 c.2248G>C p.A750P Yanlış anlamlı SNV	2,1	5
16	Ekzon 19 c.2239_2247delTTAAGAGAA p.L747_E749del Çerçeve içi del	Ekzon 19 c.2247_2248delAGinsGC p.A750P Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
17	Ekzon 19 c.2235_2249delGGAATTAAGA GAAG p.E746_A750del, çerçeve içi del	Ekzon 19 c.2252C>T p.T751I, Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
18	Ekzon 19 c.2252_2275delCATCTCCGAA AGCCAACAAGGAAA p.T751_E758del, Çerçeve içi del	Ekzon 19 c.2276T>A p.I759N Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
19	Ekzon 19 c.2239_2248delTTAAGAGAAG p.L747fs*16 Çerçeve kayması del	Ekzon 19 c.2256_2257delTC p.P753fs*9 Çerçeve kayması del	0,4	1
20	Ekzon 19 c.2240_2254delTAAGAGAAGC	Ekzon 20 c.2326C>T p.R776C Yanlış anlamlı SNV	0,4	1

	AACAT p.L747_T751del Çerçeve içi del			
21	Ekzon 19 c.2235_2249delGGAATTAAGA GAAGC p.E746_A750del, çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	1,7	4
22	Ekzon 19 c.2235_2249delGGAATTAAGA GAAGC p.E746_A750del, çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2303 G>T p.S768I, Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
23	Ekzon 19 c.2236_2250delGAATTAAGAG AAGCA p.E746_A750del Çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	1,7	4
24	Ekzon 19 c.2240_2257delTAAGAGAAGC AACATCTC p.L747_P753delinsS Çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
25	Ekzon 19 c.2240_2254delTAAGAGAAGC AACAT p.L747_T751del Çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	0,8	2
26	Ekzon 19 c.2253_2276delATCTCCGAAA GCCAACAAGGAAAT p.S752_1759del Çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
27	Ekzon 19 c.2240_2257delTAAGAGAAGC AACATCTC p.L747_P753delinsS	Ekzon 20 c.2303 G>T p.S768I, Yanlış anlamlı SNV Çerçeve içi del	0,4	1
28	Ekzon 19 c.2235_2249delGGAATTAAGA GAAGC p.E746_A750del, çerçeve içi del	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	1,7	4
29	Ekzon 20 c.2303 G>T p.S768I, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 20 c.2320G>A p.V774M Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
30	Ekzon 20 c.2316_2317insAACCCCAACC CC p.P772_H773insNPNP, Çerçeve içi ins	Ekzon 20 c.2317C>T p.H773Y, Yanlış anlamlı SNV	1,7	3
31	Ekzon 20 c.2335G>T p.G779C Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 20 c.2335G>C p.G779R Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
32	Ekzon 20 c.2320G>A p.V774M Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 20 c.2318A>T p.H773L Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
33	Ekzon 20 c.2327G>A p.R776H Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2485G>A p.E829K, Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
34	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	3,7	9
35	Ekzon 20 c.2303 G>T p.S768I, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
36	Ekzon 20 c.2314C>T p.P772S, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2537A>G p.K846R, Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
37	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2497T>G p.L833V, Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
38	Ekzon 21 c.2593G>A p.E865K Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2602G>A p.E868K Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
39	Ekzon 21 c.2497T>G p.L833V Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2504A>T p.H835L Yanlış anlamlı SNV	0,4	1

**Tablo 5: Üç *EGFR* mutasyon birlikteliği**

Sıra	1.	2.	3.	%	Sıklık
1	Ekzon 19 c.2239_2247delTT AAGAGAA p.L747_E749del Çerçeve içi del	Ekzon 21 c.2494C>T p.R832C Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 19 c.2260A>G p.K754E Yanlış anlamlı SNV	0, 4	1
2	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 19 c.2239_2256delTTAAGAG AAGCAACATCT p.L747_S752del Çerçeve içi del	Ekzon 19 c.2258C>A p.P753Q Yanlış anlamlı SNV	0, 4	1
3	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2500G>T p.V834L Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 20 c.2390G>C p.C797S Yanlış anlamlı SNV	0, 4	1

Tek *EGFR* mutasyonu olan 146 hasta, birden fazla *EGFR* mutasyonu olan 56 hasta, sadece *EGFR* amplifikasyonu olan 71 hasta, hem *EGFR* amplifikasyonu hem de sadece bir *EGFR* mutasyonu olan 28 hasta, hem *EGFR* amplifikasyonu hem de birden fazla *EGFR* mutasyonu olan 11 hasta saptandı (Grafik 3).



**Grafik 3: Hastalardaki *EGFR* gen değişikliklerinin yüzdeleri**

*EGFR* amplifikasyonu olan hastaların %35,5'ine (39/110) *EGFR* mutasyonu (28 tek, 11 birden fazla mutasyon), *EGFR* mutasyonu olan hastaların %27,5'ine (39/142) *EGFR* amplifikasyonu eşlik ediyordu. *EGFR* amplifikasyonuna eşlik eden *EGFR* mutasyonu Tablo 6'da gösterildi.

**Tablo 6: KHDAK'lerde EGFR amplifikasyonu ile birliktelik gösteren****EGFR mutasyonları ve sıklığı**

Sıra	1. EGFR mutasyonu	2. EGFR mutasyonu	%	Sıklık
1	Ekzon 7 c.866C>A p.A289D Yanlış anlamlı SNV		0,9	1
2	Ekzon 17 c.1934C>G p.S645C Yanlış anlamlı SNV		0,9	1
3	Ekzon 19 c.2235_2249delGGAATTAAGAGAAGC p.E746_A750del, çerçeve içi del		10	11
4	Ekzon 19 c.2237_2251delAATTAAGAGAAGCAA p.E746_T751delinsA Çerçeve içi del		0,9	1
5	Ekzon 19 c.2236_2253delGAATTAAGAGAAGCA ACAinsCTT p.E746_T751delinsL Çerçeve içi delins		0,9	1
6	Ekzon 19 c.2237_2238delAAinsTC p.E746V Çerçeve içi delins		0,9	1
7	Ekzon 19 c.2237_2255delAATTAAGAGAAGCAAC ATCinsT p.E746_S752delinsV Çerçeve içi delins		0,9	1
8	Ekzon 19 c.2252_2275delCATCTCCGAAAGCCAA CAAGGAAA p.T751_E758del Çerçeve içi del		0,9	1
9	Ekzon 20 c.2308_2309insGGGGCGTGG p.V769_D770insGGV Çerçeve içi ins		0,9	1
10	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV		7,3	8
11	Ekzon 21 c.2582T>G p.L861R Yanlış anlamlı SNV		0,9	1
12	Ekzon 3 c.323G>A p.R108K, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	0,9	1
13	Ekzon 19 c.2252_2275delCATCTCCGAAAGCCAA CAAGGAAA p.T751_E758del, Çerçeve içi del	Ekzon 19 c.2276T>A p.I759N Yanlış anlamlı SNV	0,9	1
14	Ekzon 19 c.2240_2254delTAAGAGAAGCAACAT p.L747_T751del Çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2326C>T p.R776C Yanlış anlamlı SNV	0,9	1
15	Ekzon 19 c.2240_2257delTAAGAGAAGCAACATC TC p.L747_P753delinsS Çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	0,9	1
16	Ekzon 19 c.2240_2254delTAAGAGAAGCAACAT p.L747_T751del Çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	1,8	2
17	Ekzon 19 c.2240_2257delTAAGAGAAGCAACATC TC p.L747_P753delinsS Çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	0,9	1
18	Ekzon 20 c.2316_2317insAACCCCAACCCC p.P772_H773insNPNP, Çerçeve içi ins	Ekzon 20 c.2317C>T p.H773Y, Yanlış anlamlı SNV	0,9	1
19	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	1,8	2
20	Ekzon 21 c.2497T>G p.L833V Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2504A>T p.H835L Yanlış anlamlı SNV	0,9	1

*EGFR* amplifikasyonu olmayanlarda *EGFR* mutasyonu bulunma oranı ise %12,9 (103/796) olarak saptandı. *EGFR* mutasyonu barındırmayan ancak *EGFR* amplifikasyonu olan 71 olgu (71/764, %9,3) mevcuttu. Bu sonuçlara göre *EGFR* mutasyonlarının *EGFR* amplifikasyonları ile olan ilişkisine bakıldığında *EGFR* amplifikasyonu olmayan hastalarda *EGFR* mutasyonu görülmesi, *EGFR* mutasyonu olmayan hastalarda *EGFR* amplifikasyonu görülmesi olasılığından daha sık olup, istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,001$ ) (Tablo 7).

**Tablo 7: EGFR mutasyonu ile EGFR amplifikasyon durumlarının karşılaştırılması**

		EGFR mutasyonu		Total	
		VAR	YOK		
EGFR amplifikasyonu	VAR	Sayı EGFR amplifikasyonu	39	71	110
		EGFR mutasyonu	%35,5	%64,5	%100
		EGFR mutasyonu	%27,5	%9,3	%12,1
	YOK	Sayı EGFR amplifikasyonu	103	693	796
		EGFR mutasyonu	%12,9	%87,1	%100
		EGFR mutasyonu	%72,5	%90,7	%87,9
Total		Sayı EGFR amplifikasyonu	142	764	906
		EGFR mutasyonu	%15,7	%84,3	%100
		EGFR mutasyonu	%100	%100	%100

EGFR amplifikasyonlarına eşlik eden en sık EGFR mutasyonları ekzon 19 delesyonu (13/39, %33,3) ve L858R mutasyonuydu (10/39, %25,6). Ekzon 19 delesyonlarından ise en sık c.2235\_2249delGGAATTAAGAGAAGC p.E746\_A750del görüldü. EGFR amplifikasyonu olan 110 hastanın 75'inde ise (%68,2) diğer ek mutasyonlar izlendi.

Dokuzyüz altı hasta EGFR amplifikasyon varlığı açısından incelendi ve 110 hastada (%12,1) amplifikasyon saptandı. Bunların %13,6'sı (80/590) ADK, %11,2'si (13/116) SHK, %9,4'ü (13/139) KHDAK, daha ileriye

spesifiye edilemeyen ve %4,9'u (3/61) diğer tanılardan oluşmaktaydı. Primer tümörlerde *EGFR* amplifikasyon görölme oranı %12,6 (74/589), metastatik dokularda ise %8,5'ti (8/94).

Çalışmamızdaki en yaygın mutasyonlar *KRAS* geninde (338/1500, %22,5) izlendi. Erkeklerin 280'inde (%24,8), kadınların 58'inde (%15,6) *KRAS* mutasyonu mevcuttu. En sık *KRAS* mutasyonu ekzon 2'deki bir yanlış anlamlı SNV olan G12C'ydi (118/338, %34,9). İkinci sıklıkta ise yine ekzon 2'de oluşan G12D mutasyonu görüldü (54/338, %16) (Tablo 8).

**Tablo 8: KRAS mutasyonlarının sıklığı**

Sıra	Ekzon	Genomdaki yer değişikliği	Proteindeki değişiklik	Mutasyon tipi	%	Sıklık
1	Ekzon 2	c.34G>T	p.G12C	Yanlış anlamlı SNV	33,4	118
2	Ekzon 2	c.35G>A	p.G12D	Yanlış anlamlı SNV	15,3	54
3	Ekzon 2	c.35G>T	p.G12V	Yanlış anlamlı SNV	21	74
4	Ekzon 2	c.35G>C	p.G12A	Yanlış anlamlı SNV	5,9	21
5	Ekzon 2	c.38G>A	p.G13D	Yanlış anlamlı SNV	4,2	15
6	Ekzon 2	c.37G>T	p.G13C	Yanlış anlamlı SNV	3,7	13
7	Ekzon 2	c.34G>A	p.G12S	Yanlış anlamlı SNV	3,1	11
8	Ekzon 2	c.34_35delGGinsTT	p.G12F	Delins	1,1	4
9	Ekzon 2	c.33_34delTGinsCT	p.G12C	Delins	0,8	3
10	Ekzon 2	c.34G>C	p.G12R	Yanlış anlamlı SNV	0,6	2
11	Ekzon 2	c.38_39delGCinsTG	p.G13V	Delins	0,6	2
12	Ekzon 2	c.64C>A	p.Q22K	Yanlış anlamlı SNV	0,3	1
13	Ekzon 2	c.40G>A	p.V14I	Yanlış anlamlı SNV	0,3	1
14	Ekzon 2	c.36T>G	p.G12G	Yanlış anlamlı SNV	0,3	1
15	Ekzon 2	c.38_39delGCinsTT	p.G13V	Delins	0,6	2
16	Ekzon 2	c.39C>G	p.G13G	Sinonim SNV	0,3	1
17	Ekzon 2	c.53C>T	p.A18V	Yanlış anlamlı SNV	0,3	1
18	Ekzon 2	c.104C>T	p.T35I	Yanlış anlamlı SNV	0,3	1
19	Ekzon 3	c.182A>T	p.Q61L	Yanlış anlamlı SNV	1,7	6
20	Ekzon 3	c.183A>C	p.Q61H	Yanlış anlamlı SNV	1,7	6
21	Ekzon 3	c.183A>T	p.Q61H	Yanlış anlamlı SNV	0,8	3
22	Ekzon 3	c.180_181delTCinsAA	p.Q61K	Delins	0,3	1
23	Ekzon 3	c.175G>A	p.A59T	Yanlış anlamlı SNV	0,3	1
24	Ekzon 4	c.436G>A	p.A146T	Yanlış anlamlı SNV	1,1	4
25	Ekzon 4	c.351A>T	p.K117N	Yanlış anlamlı SNV	0,3	1
26	Ekzon 4	c.436G>T	p.A146S	Yanlış anlamlı SNV	0,3	1
27		KRAS amplifikasyonu		CNV	1,4	5

*KRAS* mutasyonu bulunan 338 hastanın 116'sında (%34,3) ek gen değişiklikleri saptandı. Bunların 39'u (%11,5) *EGFR*, 26'sı (%7,7) *PIK3CA*, 14'ü (%4,1) *MET*, 9'u (%2,7) *ERBB2*, 7'si (%2,1) *STK 11*, 7'si (%2,1) *BRAF*, 6'sı (%1,8) *FGFR1* amplifikasyonu, 3'ü (%0,8) *KIT*, 1'i (%0,3) *ERBB4*, 1'i (%0,3) *CTTNB1*, 1'i (%0,3) *SMAD4*, 1'i (%0,3) *ALK* ve 1'i (%0,3) *NRAS* gen değişikliği içermekteydi.

*KRAS* mutasyonu olan hastaların 263'ü (%77,8) ADK, 45'i (%13,3) KHDAK, daha ileriye spesifiye edilemeyen, 20'si (%5,9) diğer tanımlar ve 10'u (%3) SHK'den oluşmaktaydı.

KHDAK'lerde, *ERBB2* amplifikasyonu %3,9 (35/906), *ERBB2* mutasyonu ise %1,2 (18/1500) oranında saptandı. Erkeklerin 37'sinde (%3,3), kadınların 16'sında (%4,3) *ERBB2* gen değişikliği mevcuttu. Saptanan *ERBB2* mutasyonları, ekzon 8'deki S310F, ekzon 17'deki I654V, V659A ve R678Q, ekzon 19'daki D769H, ekzon 20'deki V777L, ekzon 21'deki V842I, ekzon 27'deki A1216D yanlış anlamlı SNV'ler ve ekzon 20'deki Y772\_A775dup, A775\_G776insAVMA, Y772\_A775dup, G778\_P780dup, G776delinsVC çerçeve içi insersiyonlarıydı. Ekzon 20 insersiyonları (7/18, %38,9) en sık görülen *ERBB2* mutasyonlarıydı. *ERBB2* gen değişikliği görülen hastaların 31'i (%58,5) ADK, 14'ü (%26,4) KHDAK, daha ileriye spesifiye edilemeyen, 5'i (%9,4) SHK ve 3'ü (%5,7) diğer tanımlardan oluşmaktaydı.

*MET* gen değişikliği %6,8 oranında (62/906) saptandı. En sık görülen gen değişikliği *MET* amplifikasyonuydu (56/62, %90,3). Hastaların 55'inde sadece *MET* amplifikasyonu, 6'sında sadece *MET* mutasyonu (ekzon 14 Y1021S, Y1021F, *MET* ekzon 14 atlama mutasyonları R988C, P996S ve intron 14 c.3082+3A>G SNV) ve 1'inde *MET* amplifikasyonu ve *MET* mutasyonu (ekzon 14 D1028H) birlikte izlendi.

*MET* gen değişikliğine sahip hastaların 44'ü (%71) ADK, 12'si (%19,4) KHDAK, daha ileriye spesifiye edilemeyen, 5'i (%8,1) SHK, 1'i (%1,6) diğer KHDAK tanılarına sahipti. *MET* gen değişikliği erkeklerde (54/680, %7,9) kadınlardan (8/226, %3,5) daha sık görüldü ( $p=0,023$ ).

*PDGFRA* mutasyonu, 3 hastada (%0,2) saptandı. Hastaların hepsi ADK tanılı olup ikisi erkek biri kadındı. Bir hastada eş zamanlı *BRAF* V600E ve *PIK3CA* E545K, E542K yanlış anlamlı SNV'ler izlendi.

*PIK3CA* mutasyonu, 64'ü erkek (%5,6), 22'si kadın (%5,9) olmak üzere 86 hastada (%5,7) gözlemlendi. En sık görülen mutasyon tipleri ekzon 10'daki E545K (%30,2) ve E542K (%19,8) ile ekzon 21'deki H1047R (%12,7) yanlış anlamlı SNV'lerdi. Hastaların 45'i (%52,3) ADK, 21'i (%24,4) SHK, 13'ü (%15,1) KHDAK, daha ileriye spesifiye edilemeyen ve 7'si (%8,1) diğer tanılardan oluşmaktaydı.

*BRAF* gen değişikliği 37'si (%3,3) erkek 11'i (%3,6) kadın toplam 48 hastada (%3,2) saptandı. En sık görülen *BRAF* mutasyonu %31,3 oranında bulunan V600E yanlış anlamlı SNV'ydi. Olguların 37'si (%77,1)

ADK, 4'ü (%8,3) KHDAK, daha ileriye spesifiye edilemeyen, 4'ü (%8,3) SHK ve 3'ü (%6,3) diğer tanılardan oluşmaktaydı.

*FGFR1* gen değişikliği %5,7 (52/906) oranında görüldü. *FGFR1* gen amplifikasyonu, 906 hastanın 51'inde (%5,6), ekzon 9'daki F384L yanlış anlamlı SNV ise 1'inde (%0,1) saptandı. Gen değişikliği bulunan hastaların 49'u (%7,2) erkek, 5'i (%2,2) kadındı. Yirmi altı (%50) ADK, 13'ü (%25) KHDAK, daha ileriye spesifiye edilemeyen, 10'u (%19,2) SHK ve 3'ü (%5,8) diğer tanılardan oluşmaktaydı.

*STK11* mutasyonu, %4,7'si (2/43) kadın, %7,6'sı (9/118) erkek toplam 11 hastada (%6,8) görüldü. İzlenen 11 mutasyonun, 4'ü (%36,3) yanlış anlamlı SNV (D194N, W308L, G196V, H174R), 3'ü (%27,3) durdurucu kodon SNV (Y60\*, K84\*, Q170\*), 3'ü (%27,3) kırılma bölgesi SNV (c.465-1G>T, c.862+1G>T) ve 1'i (%9,1) çerçeve kayması delesyonuydu (G196fs\*91). *STK11* mutasyonu görülen 11 hastanın 4'ünde (4/161, %2,5) ek gen değişikliği görülmedi ve hepsinin tanısı ADK'ydi. Hastaların 9'u (%81,8) ADK ve 2'si (%18,2) KHDAK, daha ileriye spesifiye edilemeyen tanıydı.

*ALK* mutasyonu, 2'si (%0,2) erkek 4'ü (%10,8) kadın toplam 6 hastada (%0,4) izlendi. Mutasyonların hepsi ekzon 23 ve ekzon 22'deki yanlış anlamlı SNV'lerdi (L1198F, L1196M, L1152P, G1202R ve D1203N). Vakaların 4'ü (%66,6) ADK, 1'i (%16,7) malign epitelyal tümör, 1'i (%16,7) KHDAK, daha ileriye spesifiye edilemeyen tanıydı. *ALK*

mutasyonu saptanan hastaların birinde (L1196M) 2015 yılında ALK yeniden düzenlemesi mevcuttu. Diğer hastarda ALK yeniden düzenlemesi göstermemektedir.

*KIT* gen değişikliği, 9 (%0,8) erkek, 3 (%0,8) kadın toplam 12 hastada (%0,8) görüldü. Gen değişikliklerinin 1'i *KIT* amplifikasyonu (1/161, %0,6), 6'sı (6/1500, %0,4) sinonim SNV (I798I), 4'ü (%0,3) yanlış anlamlı SNV (S628N, D816G ve S451P) 1'i (%0,1) çerçeve içi delesyonuydu (W557\_K558del). Olguların 6'sı (%50) ADK, 3'ü (%25) SHK, 3'ü (%25) diğer tanılardan oluşmaktaydı.

*NRAS* mutasyonu 2'si (%0,5) kadın 13'ü (%1,2) erkek olan toplam 15 hastada (%1) görüldü. Mutasyonlar, yanlış anlamlı SNV'ler (A66T, Y64D, G12V, Q61K, Q61R, G12C, Q61L, G12D) şeklindeydi. Bunların 10'u (%66,7) ADK, 1'i (%6,7) SHK ve 4'ü (%26,6) diğer tanılara sahipti.

*ERBB3* mutasyonu 2 hastada (%0,3) izlendi. Hastaların ikisi de erkekti. Ekzon 3 ve ekzon 8'de sırasıyla V104L ve E321Q yanlış anlamlı SNV saptandı. Olguların 1'i ADK, 1'i kombine BHNEK+SHK tanılıydı.

*MAP2K1* mutasyonu (1'i K57N ve diğeri E203K yanlış anlamlı SNV, %0,2) iki hasta da erkek ADK hastasında izlendi.

*FBXW7* mutasyonu KHDAK, daha ileriye spesifiye edilemeyen tanılı 1 erkek hastada (%0,6) izlendi. Mutasyon, ekzon 10'daki R505G yanlış anlamlı SNV'ydi.

*SMAD4* mutasyonu görülen 3'ü ADK (%75) ve 1'i (%25) SHK tanımlı 4 olgu (4/161, %2,5) mevcuttu. İlk olguda *SMAD4*'ün S357P, *KRAS* G12V ve *PIK3CA* C472Y yanlış anlamlı SNV'leri, 2. olguda *SMAD4*'ün Q461\* durdurucu kodon SNV'si ve *MET* 'in intron 14 c.3082+3A>G SNV'si, 3. olguda *SMAD4*'ün R361C yanlış anlamlı SNV'si, 4. olguda *SMAD4*'ün F505fs\*2 çerçeve kayması delesyonu izlendi.

*PTEN* mutasyon sıklığı %0,4 (3/745) olup hastaların 2'si (2/183, %1,1) kadın, 1'i (1/562, %0,2) erkekti. *PTEN* mutasyonuna sahip olguların 2'si (%66,7) ADK, 1'i (%33,3) KHDAK, daha ileriye spesifiye edilemeyen tanıydı. *PTEN* mutasyonlarına bir olguda *BRAF* V600E, bir olguda da *NRAS* G12D yanlış anlamlı SNV eşlik etmekteydi.

*FGFR3* mutasyonu (ekzon 9 F384L yanlış anlamlı SNV) ADK tanımlı 60 yaşında bir erkek hastada (1/161, %0,62) görüldü. Bu hastanın diğer mutasyonu, *BRAF* V600E yanlış anlamlı SNV'ydı.

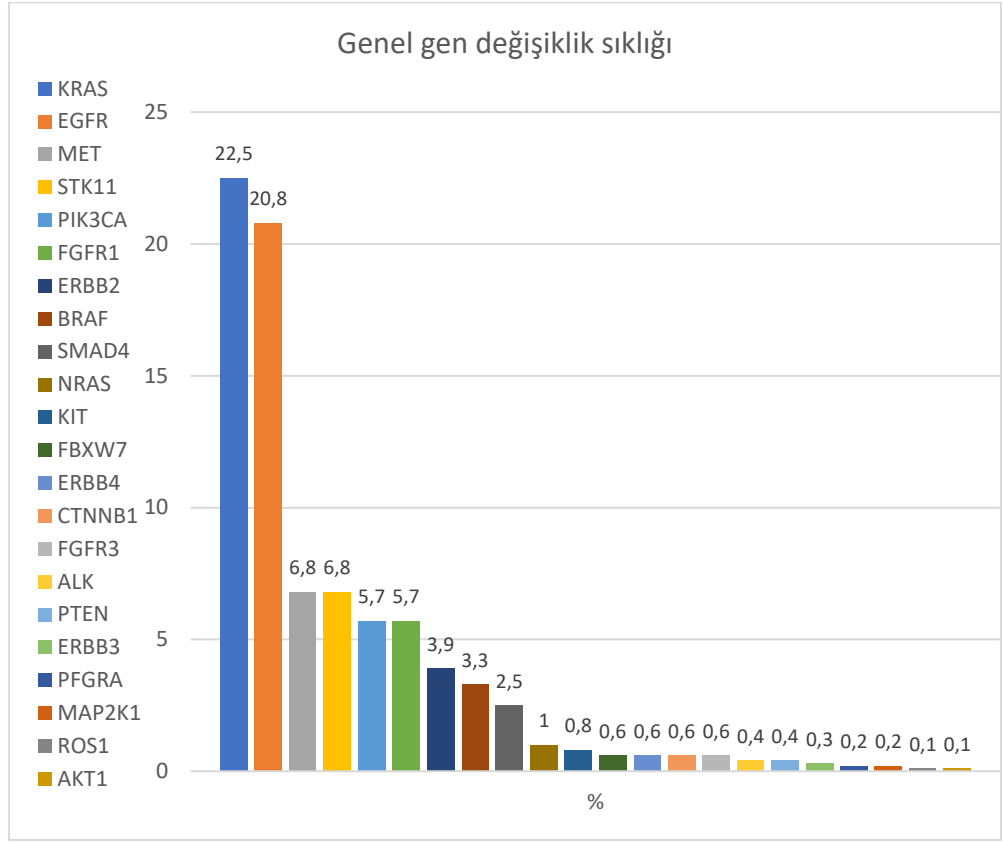
*ROS1* gen mutasyonu araştırılan 745 hastanın birinde (1/745, %0,13) *ROS1* mutasyonu (ekzon 38 I2009\_D2033del çerçeve içi delesyonu) görüldü. Bu hasta ADK tanımlı erkek hastadaydı. Aynı hastada *BRAF* L597P yanlış anlamlı SNV de mevcuttu. Saptanan nokta mutasyonu, *ROS1* yeniden düzenlemesi göstermemektedir.

*AKT1* mutasyonu (ekzon 5'de E17K yanlış anlamlı SNV) ADK tanımlı 49 yaşında bir kadın olguda (1/906, %0,11) izlendi. Aynı hastada *EGFR* ekzon 19 E746\_A750del çerçeve içi delesyonu da saptandı.

*ERBB4* mutasyonu (ekzon 3, R103L yanlış anlamlı SNV) 66 yaşında ADK tanılı bir kadın hastada (1/161, %0,62) *KRAS* G13V delins mutasyonu ile birlikte görüldü.

*CTNNB1* mutasyonu (ekzon 3 S45C yanlış anlamlı SNV) KHDAK, daha ileriye spesifiye edilemeyen tanılı 62 yaşında bir kadın hastada (1/161, %0,62) izlendi. Hastanın eş zamanlı *KRAS* G12D ve *PIK3CA* H1047R yanlış anlamlı SNV mutasyonları da mevcuttu.

*ESR1* 1500, *DDR2* 906, *FLT3*, *FGFR2*, *GNAQ*, *GNA11*, *HRAS*, *MAP2K2* ve *NOTCH1* 161, *RICTOR* 745 ve *RAF1* 755 hastanın dokularında incelendi ve patojen ya da olasılıkla patojen sınıfında bulunan gen değişiklikleri görülmedi.



**Grafik 4: KHDAK'lerde genel gen değişiklerinin görölme sıklığı**

#### 4.7. Tanılara göre gen değişikliklerinin analizi

4.7.1. Adenokarsinom tanı grubunda saptanan gen değişikliklerinin analizi

ADK tanılı 985 hastanın 704'ü (%71,5) erkek, 281'i (28,5) kadındı. Genel gen değişikliği oranı %60,4'tü (595/985). ADK'lerin 247'sinde (%25,1) *EGFR* gen değişikliği izlendi. Hastaların 80'inde (%13,6, 80/590) *EGFR* amplifikasyonu izlendi. *EGFR* mutasyon oranı ise %20,2 (199/985) olarak saptandı. Hastaların 70'inde (%28,3) 2 adet, 10'unda (%4,1) 3 adet gen değişikliği mevcuttu. *EGFR* mutasyonlarının 985 ADK'li olgularda görülme oranları Tablo 9, 10 ve 11'de gösterilmiştir.

*EGFR* amplifikasyonu olan 80 hastanın 24'üne tek, 8'ine ise 2 adet *EGFR* mutasyonu eşlik ediyordu. *EGFR* amplifikasyonuna eşlik eden *EGFR* mutasyonu Tablo 12'de gösterildi.

**Tablo 9: ADK'lerde tek EGFR mutasyon sıklığı**

Sıra	Ekzon	Genomdaki yer değişikliği	Proteindeki değişiklik	Mutasyon tipi	% ADK	Sıklık
1	Ekzon 6	c.662G>T	p.G221V	Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
2	Ekzon 7	c.866C>A	p.A289D	Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
3	Ekzon 15	c.1787C>T	p.P596L	Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
4	Ekzon 18	c.2155G>A	p.G719S	Yanlış anlamlı SNV	1	2
5	Ekzon 18	c.2180A>G	p.Y727C	Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
6	Ekzon 18	c.2161G>T	p.G721C	Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
7	Ekzon 19	c.2235_2249delGGAATTAAGAGAAGC	p.E746_A750del	Çerçeve içi del	16,6	33
8	Ekzon 19	c.2236_2250delGAATTAA GAGAAGCA	p.E746_A750del	Çerçeve içi del	7,5	15
9	Ekzon 19	c.2239_2247delTTAAGAGAA	p.L747_E749del	Çerçeve içi del	0,5	1
10	Ekzon 19	c.2248G>C	p.A750P	Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
11	Ekzon 19	c.2240_2257delTAAGAGAAGCAACATCTC	p.L747_P753delinsS	Çerçeve içi del	1,5	3
12	Ekzon 19	c.2240_2254delTAAGAGAAGCAACAT	p.L747_T751del	Çerçeve içi del	2	4
13	Ekzon 19	c.2237_2251delAATTAAGAGAAGCAA	p.E746_T751delinsA	Çerçeve içi del	0,5	1
14	Ekzon 19	c.2236_2253delGAATTAA GAGAAGCAACAinsCTT	p.E746_T751delinsL	Çerçeve içi delins	0,5	1
15	Ekzon 19	c.2237_2238delAAinsTC	p.E746V	Çerçeve içi delins	0,5	1
16	Ekzon 19	c.2248_2263delGCAACATCTCGGAAAG	p.A750fs*11	Çerçeve kayması del	0,5	1
17	Ekzon 19	c.2252_2275delCATCTCCGAAAGCCAACAAGGAAA	p.T751_E758del	Çerçeve içi del	1	2
18	Ekzon 19	c.2276T>A	p.I759N	Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
19	Ekzon 20	c.2300_2308dupCCAGCGTGG	p.A767_V769dup	Çerçeve içi ins	0,5	1
20	Ekzon 20	c.2303_2311dupGCGTGGA CA	p.S768_D770dupSVD	Çerçeve içi ins	0,5	1
21	Ekzon 20	c.2317C>T	p.H773Y	Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
22	Ekzon 20	c.2311_2312delAAinsGGGT	p.N771delinsGF	Çerçeve içi delins	0,5	1
23	Ekzon 20	c.2308_2309insGGGGCGTGG	p.V769_D770insGGV	Çerçeve içi ins	1	2
24	Ekzon 20	c.2348C>T	p.T783I	Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
25	Ekzon 20	c.2305G>C	p.V769L	Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
26	Ekzon 20	c.2335_2336delGGinsTT	p.G779F	Delins	0,5	1
27	Ekzon 20	c.2311_2319dupAACCCCAAC	p.N771_H773dup	Çerçeve içi ins	0,5	1
28	Ekzon 20	c.2312_2313insACCCCA	p.N771delinsKPH	Çerçeve içi ins	0,5	1
29	Ekzon 21	c.2611G>A	p.A871T	Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
30	Ekzon 21	c.2588G>A	p.G863D	Yanlış anlamlı SNV	0,5	1

31	Ekzon 21	c.2582T>G	p.L861R	Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
32	Ekzon 21	c.2485G>C	p.E829Q	Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
33	Ekzon 21	c.2573T>G	p.L858R	Yanlış anlamlı SNV	26,1	52
34	Ekzon 21	c.2582T>A	p.L861Q	Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
35	Ekzon 25	c.2996G>A	p.R999H	Yanlış anlamlı SNV	0,5	1

**Tablo 10: ADK'lerde iki EGFR mutasyon sıklığı**

Sıra	1.	2.	%	Sıklık
1	Ekzon 3 c.323G>A p.R108K, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
2	Ekzon 18 c.2155G>A p.G719S Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 18 c.2126A>C p.E709A, Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
3	Ekzon 18 c.2117T>C p.L706T, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 18 c.2156G>C p.G719A, Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
4	Ekzon 18 c.2155G>T p.G719C Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 20 c.2303 G>T p.S768I, Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
5	Ekzon 18 c.2156G>C p.G719A, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2582T>A p.L861Q, Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
6	Ekzon 18 c.2125G>A, p.E709K, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
7	Ekzon 18 c.2155G>A p.G719S Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2497T>G p.L833V, Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
8	Ekzon 19 c.2239_2247delTTAAGAGAA p.L747_E749del Çerçeve içi del	Ekzon 19 c.2248G>C p.A750P Yanlış anlamlı SNV	1,5	3
9	Ekzon 19 c.2252_2275delCATCTCCGAAAGCC AACAAGGAAA p.T751_E758del, Çerçeve içi del	Ekzon 19 c.2276T>A p.I759N Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
10	Ekzon 19 c.2239_2248delTTAAGAGAAG p.L747fs*16 Çerçeve kayması del	Ekzon 19 c.2256_2257delTC p.P753fs*9 Çerçeve kayması del	0,5	1
11	Ekzon 19 c.2249C>A p.A750E Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 19 c.2237_2241delAATTAinsCC p.E746_L747delinsA Çerçeve içi delins	0,5	1
12	Ekzon 19 c.2257_2262delCCGAAA p.P753_K754del Çerçeve içi del	Ekzon 19 c.2265_2277delCAACAAGGAAAT CinsT p.N756_I759del Çerçeve içi delins	0,5	1
13	Ekzon 19 c.2239_2250delTTAAGAGAAGCA p.L747_A750del Çerçeve içi del	Ekzon 19 c.2251A>C p.T751P Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
14	Ekzon 19 c.2235_2249delGGAATTAAGAGAAG C p.E746_A750del, çerçeve içi del	Ekzon 19 c.2252C>T p.T751I, Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
15	Ekzon 19 c.2239_2247delTTAAGAGAA p.L747_E749del Çerçeve içi del	Ekzon 19 c.2247_2248delAGinsGC p.A750P Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
16	Ekzon 19 c.2248G>C p.A750P Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 19 c.2236_2245delGAATTAAGAGinsC p.E746_E749delinsQ, Çerçeve içi delins	0,5	1
17	Ekzon 19 c.2240_2254delTAAGAGAAGCAACA T p.L747_T751del Çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2326C>T p.R776C Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
18	Ekzon 19 c.2235_2249delGGAATTAAGAGAAG C p.E746_A750del, çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	2	4
19	Ekzon 19 c.2235_2249delGGAATTAAGAGAAG C p.E746_A750del, çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2303 G>T p.S768I, Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
20	Ekzon 19 c.2236_2250delGAATTAAGAGAAGC A p.E746_A750del Çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	1,5	3
21	Ekzon 19 c.2240_2257delTAAGAGAAGCAACA TCTC p.L747_P753delinsS Çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	0,5	1

22	Ekzon 19 c.2240_2254delTAAGAGAAGCAACA T p.L747 T751del Çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	0,8	2
23	Ekzon 19 c.2253_2276delATCTCCGAAAGCCA ACAAGGAAAT p.S752_I759del Çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
24	Ekzon 19 c.2240_2257delTAAGAGAAGCAACA TCTC p.L747_P753delinsS	Ekzon 20 c.2303 G>T p.S768I, Yanlış anlamlı SNV Çerçeve içi del	0,5	1
25	Ekzon 19 c.2235_2249delGGAATTAAGAGAAG C p.E746_A750del, çerçeve içi del	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	1	2
26	Ekzon 20 c.2316_2317insAACCCCAACCCC p.P772_H773insNPNP, Çerçeve içi ins	Ekzon 20 c.2317C>T p.H773Y, Yanlış anlamlı SNV	1,5	3
27	Ekzon 20 c.2303 G>T p.S768I, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 20 c.2320G>A p.V774M Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
28	Ekzon 20 c.2335G>T p.G779C Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 20 c.2335G>C p.G779R Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
29	Ekzon 20 c.2320G>A p.V774M Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 20 c.2318A>T p.H773L Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
30	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	3,5	7
31	Ekzon 20 c.2303 G>T p.S768I, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
32	Ekzon 20 c.2314C>T p.P772S, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2537A>G p.K846R, Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
33	Ekzon 20 c.2327G>A p.R776H Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2485G>A p.E829K, Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
34	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2497T>G p.L833V, Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
35	Ekzon 21 c.2593G>A p.E865K Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2602G>A p.E868K Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
36	Ekzon 21 c.2497T>G p.L833V Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2504A>T p.H835L Yanlış anlamlı SNV	0,5	1

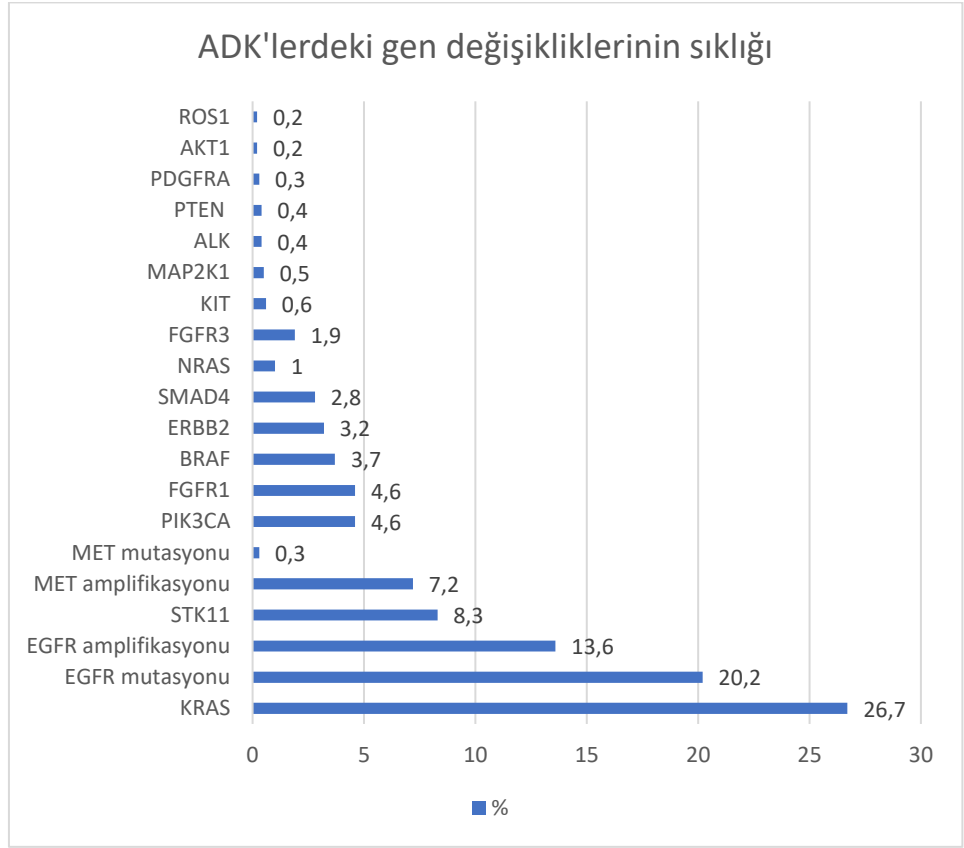
**Tablo 11: ADK’lerde üç EGFR mutasyon sıklıklığı**

Sıra	1.	2.	3.	%	Sıklık
1	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2500G>T p.V834L Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 20 c.2390G>C p.C797S Yanlış anlamlı SNV	0,5	1
2	Ekzon 19 c.2239_2247delTTAAGA GAA p.L747_E749del Çerçeve içi del	Ekzon 21 c.2494C>T p.R832C Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 19 c.2260A>G p.K754E Yanlış anlamlı SNV	0,5	1

**Tablo 12: ADK'lerde EGFR amplifikasyonu ile birliktelik gösteren****EGFR mutasyonları ve sıklığı**

Sıra	1.EGFR mutasyonu	2. EGFR mutasyonu	%	Sıklık
1	Ekzon 7 c.866C>A p.A289D Yanlış anlamlı SNV		1,3	1
2	Ekzon 19 c.2235_2249delGGAATTAAGAGAAGC p.E746_A750del, çerçeve içi del		12,5	10
3	Ekzon 19 c.2237_2238delAAinsTC p.E746V Çerçeve içi delins		1,3	1
4	Ekzon 19 c.2236_2253delGAATTAAGAGAAGCAACAinsCTT p.E746_T751delinsL Çerçeve içi delins		1,3	1
5	Ekzon 19 c.2237_2255delAATTAAGAGAAGCAACATCinsT p.E746_S752delinsV Çerçeve içi delins		1,3	1
6	Ekzon 19 c.2252_2275delCATCTCCGAAAGCCAA CAAGGAAA p.T751_E758del Çerçeve içi del		1,3	1
7	Ekzon 20 c.2308_2309insGGGCGTGG p.V769_D770insGGV Çerçeve içi ins		1,3	1
8	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV		8,7	7
9	Ekzon 21 c.2582T>G p.L861R Yanlış anlamlı SNV		1,3	1
10	Ekzon 3 c.323G>A p.R108K, Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2573T>G p.L858R, Yanlış anlamlı SNV	1,3	1
11	Ekzon 19 c.2252_2275delCATCTCCGAAAGCCAA CAAGGAAA p.T751_E758del, Çerçeve içi del	Ekzon 19 c.2276T>A p.I759N Yanlış anlamlı SNV	1,3	1
12	Ekzon 19 c.2240_2254delTAAGAGAAGCAACAT p.L747_T751del Çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	2,5	2
13	Ekzon 19 c.2240_2254delTAAGAGAAGCAACAT p.L747_T751del Çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2326C>T p.R776C Yanlış anlamlı SNV	1,3	1
14	Ekzon 19 c.2240_2257delTAAGAGAAGCAACATC TC p.L747_P753delinsS Çerçeve içi del	Ekzon 20 c.2369C>T p.T790M, Yanlış anlamlı SNV	1,3	1
15	Ekzon 20 c.2316_2317insAACCCCAACCCC p.P772_H773insNPNP, Çerçeve içi ins	Ekzon 20 c.2317C>T p.H773Y, Yanlış anlamlı SNV	1,3	1
16	Ekzon 21 c.2497T>G p.L833V Yanlış anlamlı SNV	Ekzon 21 c.2504A>T p.H835L Yanlış anlamlı SNV	1,3	1

ADK'lerin %26,7'sinde *KRAS*, %8,3'ünde *STK11*, %7,5'inde *MET*, %4,6'sında *PIK3CA*, %4,6'sında *FGFR1*, %3,7'sinde *BRAF*, %3,2'sinde *ERBB2*, [12 olgu *ERBB2* mutasyonu (%1,2), 19 olgu *ERBB2* amplifikasyonu (%1,9)], %2,8'inde *SMAD4*, %1'inde *NRAS*, %1,9'unda *FGFR3*, %0,6'sında *KIT*, %0,5'inde *MAP2K1*, %0,4'ünde *ALK*, %0,4'ünde *PTEN*, %0,3'ünde *PDGFRA*, %0,2'sinde *AKT1* ve %0,2'sinde *ROS1* gen değişikliği izlendi (Grafik 5). ADK'lerde *KRAS* mutasyon sıklığı Tablo 13'te gösterilmiştir.

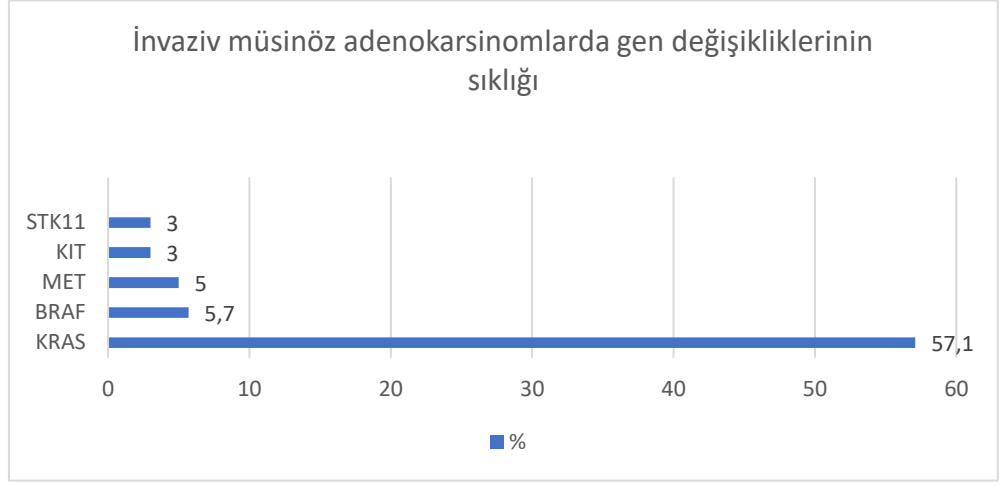


**Grafik 5: ADK'lerdeki gen değişiklik sıklığı**

**Tablo 13: ADK'lerde KRAS mutasyonlarının sıklığı**

Sıra	Ekzon	Genomdaki yer değişikliği	Proteindeki değişiklik	Mutasyon tipi	%	Sıklık
1	Ekzon 2	c.34G>T	p.G12C	Yanlış anlamlı SNV	35,9	94
2	Ekzon 2	c.35G>A	p.G12D	Yanlış anlamlı SNV	15,6	41
3	Ekzon 2	c.35G>T	p.G12V	Yanlış anlamlı SNV	22,1	58
4	Ekzon 2	c.35G>C	p.G12A	Yanlış anlamlı SNV	6,9	18
5	Ekzon 2	c.38G>A	p.G13D	Yanlış anlamlı SNV	4,2	10
6	Ekzon 2	c.37G>T	p.G13C	Yanlış anlamlı SNV	3,8	11
7	Ekzon 2	c.34G>A	p.G12S	Yanlış anlamlı SNV	3,4	9
8	Ekzon 2	c.34_35delGGinsTT	p.G12F	Delins	1,2	3
9	Ekzon 2	c.34G>C	p.G12R	Yanlış anlamlı SNV	0,8	2
10	Ekzon 2	c.38_39delGCinsTT	p.G13V	Delins	0,8	2
11	Ekzon 2	c.33_34delTGinsCT	p.G12C	Delins	0,4	1
12	Ekzon 2	c.64C>A	p.Q22K	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
13	Ekzon 2	c.38_39delGCinsTG	p.G13V	Delins	0,4	1
14	Ekzon 2	c.40G>A	p.V14I	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
15	Ekzon 2	c.39C>G	p.G13G	Sinonim SNV	0,4	1
16	Ekzon 3	c.183A>C	p.Q61H	Yanlış anlamlı SNV	1,9	5
17	Ekzon 3	c.182A>T	p.Q61L	Yanlış anlamlı SNV	1,2	3
18	Ekzon 3	c.183A>T	p.Q61H	Yanlış anlamlı SNV	0,8	2
19	Ekzon 3	c.175G>A	p.A59T	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1
20	Ekzon 4	c.436G>A	p.A146T	Yanlış anlamlı SNV	1,5	4
21	Ekzon 4	c.436G>T	p.A146S	Yanlış anlamlı SNV	0,4	1

İnvaziv müsinöz adenokarsinom tanısı alan 35 olgu mevcuttu. Bu 35 hastanın tamamında *KRAS* ve *BRAF* mutasyonları araştırıldı ve 20'sinde (%57,1) *KRAS* mutasyonları [yanlış anlamlı SNV'ler (7 adet G12D, 6 adet G12V, 2 adet G12C, 2 adet Q61H, 1 adet G12R ve 1 adet G12S), 2 adet delins (1 adet G12C ve 1 adet G13V)] ve 2'sinde (%5,7) *BRAF* yanlış anlamlı SNV (F468S, D594G) izlendi. İnvaziv müsinöz adenokarsinomlu olguların 20'sinde ise *MET* gen değişikliğine bakıldı ve bu grupta sadece 1 adet (%5) *MET* amplifikasyonu izlendi (Grafik 6).



**Grafik 6: İnvaziv müsinöz adenokarsinomlardaki gen değişiklik sıklığı**

İnvaziv müsinöz adenokarsinomlardaki *KRAS* gen değişikliği görülme oranı, ADK ve SHK'teki *KRAS* gen değişikliği görülme oranına göre daha yüksektir ( $p < 0,001$ ). İnvaziv müsinöz adenokarsinom haricindeki bütün tanı gruplarında belirgin erkek cinsiyet baskınlığı görülürken, invaziv müsinöz adenokarsinomda erkek ile kadın arasındaki fark çok azdır (Tablo 14).

**Tablo 14: Cinsiyete göre tanı grupları**

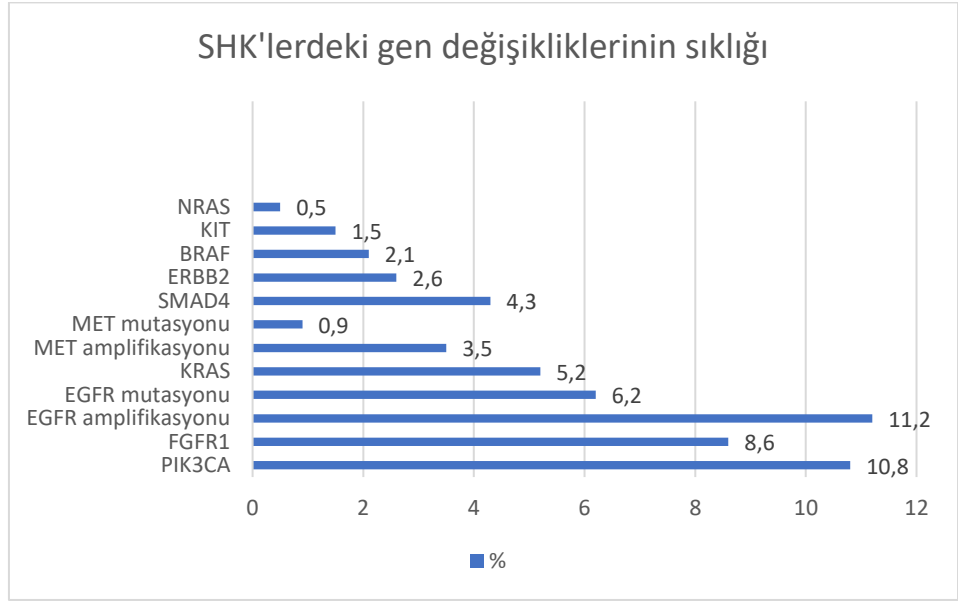
Tanı	Erkek		Kadın	
	Sayı	%	Sayı	%
<b>KHDAK, daha ileriye spesifiye edilemeyen</b>	191	(82,7)	40	(17,3)
<b>ADK</b>	704	(71,5)	281	(28,5)
- İnvaziv müsinöz adenokarsinom	21	(60)	14	(40)
- Taşlı yüzük morfolojili ADK	9	(81,8)	2	(18,2)
<b>SHK</b>	168	(86,6)	26	(13,4)
<b>Adenoskuamöz karsinom</b>	12	(80,0)	3	(20,0)
<b>Malign epitelyal tümör</b>	23	(56,1)	18	(43,9)
<b>BHK</b>	11	(100,0)	0	(,0)
<b>Kombine BHNEK+SHK+ADK</b>	1	(100,0)	0	(,0)
<b>BHNEK</b>	8	(100,0)	0	(,0)
<b>Kombine BHNEK+SHK</b>	1	(100,0)	0	(,0)
<b>Sarkomatoid karsinom</b>	9	(81,8)	2	(18,2)
<b>Kombine BHNEK+ADK</b>	0	(,0)	1	(100,0)
<b>Kombine KHK+ADK</b>	1	(100,0)	0	(,0)
<b>TOPLAM</b>	1129	(75,3)	371	(24,7)

İkisi (%18,2) kadın 9'u (%81,8) erkek toplam 11 adet taşlı yüzük morfolojili adenokarsinom hastasının 7'sinde (%63,6) gen değişikliği görüldü. Bunların 4'ü çoklu gen değişikliği şeklindeydi. En sık *KRAS* mutasyonu (4/11, %36,4) izlendi. Birinci olguda *KRAS* G12V, 2. olguda *EGFR* ekzon 19 delins ve yanlış anlamlı SNV (A750E), 3. olguda *EGFR* ekzon 19 delesyonu, 4. olguda *KRAS* ekzon 2 delins, *ERBB2* amplifikasyonu ve *PIK3CA* H1047Y yanlış anlamlı SNV, 5. olguda *EGFR* ve *FGFR1* amplifikasyonu, 6. olguda *KRAS* G12C, *MET* amplifikasyonu ve D1028H yanlış anlamlı SNV, 7. olguda *KRAS* G12D mutasyonu izlendi.

#### 4.7.2. Skuamöz hücreli karsinom tanı grubunda saptanan gen değişikliklerinin analizi

SHK tanılı 194 hastanın 168'i (%86,6) erkek, 26'sı (%13,4) kadındı. SHK tanılı hastaların 66'sında (%34,2) gen değişikliği izlendi. En sık görülen değişiklik *PIK3CA* ve *FGFR1* genlerindeydi.

SHK'lerin %6,2'sinde (12/194) *EGFR* mutasyonu, %11,2'sinde (13/116) *EGFR* amplifikasyonu, %10,8'inde *PIK3CA*, %8,6'sında *FGFR1*, %5,2'sinde *KRAS*, %4,3'ünde *MET*, %4,3'ünde *SMAD4*, %2,6'sında *ERBB2*, %2,1'inde *BRAF*, %1,5'inde *KIT* ve %0,5'inde *NRAS* gen değişikliği izlendi (Grafik 7).



**Grafik 7: SHK'lerdeki gen değişiklik sıklıklığı**

4.7.3 Adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinom tanısı dışındaki akciğer kanserlerinde gen değişikliklerinin analizi

Adenoskuamöz karsinom tanılı hastaların 3'ü (%20) kadın 12'si (%80) erkekti. Yalnızca 4'ünde (%26,6) mutasyon izlendi. Hastaların 3'ünde *KRAS* (3/15, %20), 1'inde *EGFR* (1/15 %6,7) mutasyonu ve 1'inde (1/11, %9,1) *FGFR1* amplifikasyonu görüldü.

Sarkomatoid karsinom tanılı 11 olgunun 2'si (%18,2) kadın, 9'u (%81,8) erkek olup, 10'unda (%91) gen değişikliği saptandı. Bunların 6'sı (6/11, %54,5) *KRAS* gen değişikliği, 1'i (1/8, %12,5) *FGFR1* amplifikasyonu, 1'i (1/8, %12,5) *MET* mutasyonu, 1'i (1/11, %9,1) *EGFR* yanlış anlamlı SNV, 1'i (1/8, %12,5) *EGFR amplifikasyonu*, 1'i (1/8, %12,5) *ERBB2* amplifikasyonu, 2'si (2/11, %18,2) *PIK3CA* mutasyonu [çerçeve içi

delesyonu (P449\_L455del) ve yanlış anlamlı SNV (D769H)] ve 1'i (1/11%9,1) *KIT* I798I sinonim SNV'ydi.

Tümü erkek olan BHK tanılı 11 hastanın 6'sında (%54,5) gen değişikliği izlenmiş olup, bunların 2'si (2/9, %22,2) *EGFR* amplifikasyonu, 1'i (1/9, %11,1) *ERBB2* amplifikasyonu, 2'si (2/11, %18,2) *PIK3CA* E545K ve E542K yanlış anlamlı SNV ve 1'i (1/11, %9,1) *BRAF* G469A yanlış anlamlı SNV'ydi.

BHNEK tanısı alan hastaların tümü erkek olup 8 olgu mevcuttu. Beşinde (%62,5) gen değişikliği izlendi. Bunların 1'i (1/8, %12,5) *KRAS* G12D, 1'i (1/8, %12,5) *BRAF* G469V, 1'i (1/8, %12,5) *NRAS* Q61L, 1'i (1/8, %12,5) *PIK3CA* E707K yanlış anlamlı SNV ve 1'i (1/3, %33,3) *FGFR1* amplifikasyonuydu.

Kombine BHNEK+ADK+SHK komponentleri birlikte bulunan bir olgu vardı ve bu olgu *KRAS* G12F delins mutasyonu içermekteydi. Kombine BHNEK+SHK olan tek olguda *PIK3CA* P124L ve *ERBB3* p.E321Q yanlış anlamlı SNV'ler izlendi. Kombine KHK+ADK'nin ve kombine BHNEK+ADK'nin görüldüğü 1'er olgu vardı ve bu olgularda mutasyon izlenmedi.

#### 4.8. Adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinomlardaki gen değişikliklerinin karşılaştırılması

ADK'lerde *FBXW7* ve *CTNNB1*, SHK'lerde ise *ALK*, *PDGFRA*, *MAP2K1*, *AKT1*, *PTEN*, *STK11*, *ERBB3*, *ROS1*, *FBXW7*, *CTNNB1* ve *FGFR3* genlerinde değişiklik gözlenmedi.

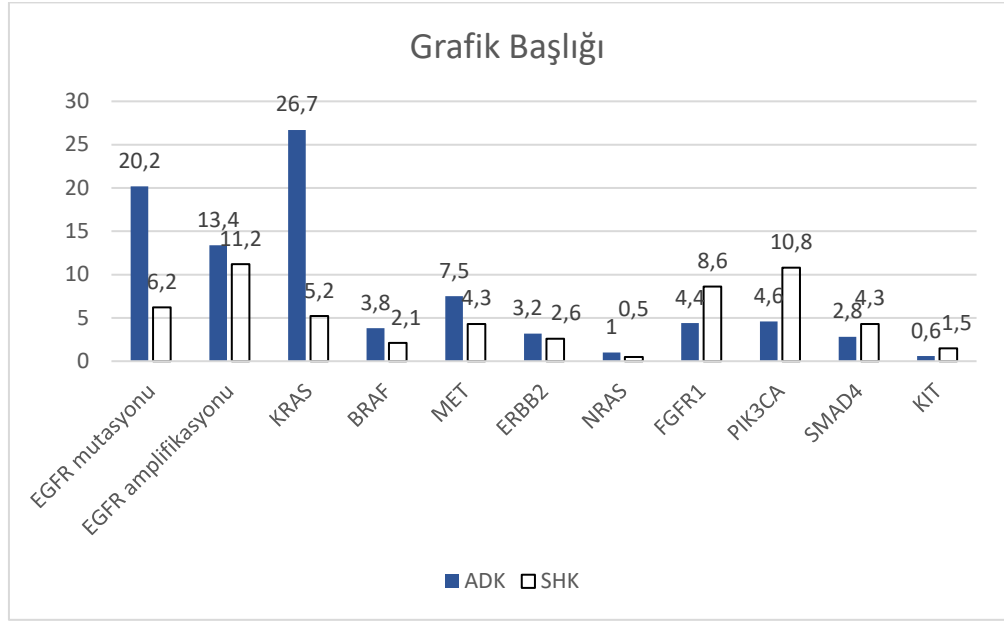
ADK ve SHK'lerdeki gen değişikliklerin saptanma sıklıklarına baktığımızda birtakım farklılıklar bulunduğu göze çarptı. Bu farklılıkların en çarpıcı olanı ADK'nin SHK'ye oranla daha sık *EGFR* mutasyonu bulundurmasıydı. Bu oranlar sırasıyla %20,2, %6,2 olup istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,001$ ).

ADK'de saptanan *EGFR* gen amplifikasyonu oranı %13,6, SHK'de saptanan ise %11,2'ti. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,617$ ).

*FGFR1*, *PIK3CA*, *SMAD4* ve *KIT* gen değişikliklerinin SHK'lerde ADK'lere göre daha sık görüldüğü saptandı. Bu genlerdeki değişikliklerin ADK ve SHK'lerdeki görülme oranları karşılaştırıldığında sadece *PIK3CA* mutasyonlarının SHK'de ADK'den sık görülmesi istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,001$ ).

*KRAS*, *BRAF*, *MET*, *ERBB2* ve *NRAS* gen değişiklikleri ADK'de SHK'ye göre daha sık gözlemlendi. Bu genlerdeki değişikliklerin ADK ve SHK'lerdeki görülme oranları karşılaştırıldığında sadece *KRAS*

mutasyonunun ADK'de SHK'ye göre daha sık görülmesi istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0,001$ ) (Grafik 8).



**Grafik 8: ADK ve SHK’lerde görülen gen değişikliklerinin karşılaştırılması**

#### 4.9. Cinsiyete göre gen değişikliği görülme sıklığı

Kadınlarda genel gen değişikliği görülme oranı %59,6 (221/371) iken, bu oran erkeklerde %52,7 (595/1129) olarak bulundu ( $p=0,021$ ). Gen değişikliklerinin kadın ve erkek cinsiyetine göre oranları ve  $p$  değerleri Tablo 15'te özetlenmiştir.

KHDAK'lerde *EGFR* gen değişikliğinin kadınlarda erkeklere, *FGFR1*, *MET* ve *KRAS* gen değişiklerinin ise erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülmesi istatistiksel olarak anlamlıydı (sırasıyla,  $p<0,001$ ,  $p=0,014$ ,  $p=0,034$ ,  $p<0,001$ ).

*EGFR* amplifikasyonu erkeklerde %11,3 (77/680), kadınlarda %13,7 (31/226) oranında izlendi. Kadınlarda erkeklerden fazla oranda amplifikasyon izlenmesine karşın aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ( $p=0,336$ ). Aynı şekilde ADK'li (kadında %15,6, erkekte %12,6) ve SHK'li hastalarda (kadında %15,4, erkekte %10,7) *EGFR* amplifikasyonunun kadınlarda erkeklere göre daha sık görülmesine karşın aradaki farkın anlamlı olmadığı görüldü (sırasıyla  $p=0,411$  ve  $p=0,639$ ).

*ERBB2* gen değişikliğinin kadınlarda erkeklerden sık görüldüğü gözlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptandı ( $p=0,349$ ). *ERBB2* gen değişikliği sadece ADK tanılı olgularda incelendiğinde kadınlarda %4,3, erkeklerde %2,7 oranında görülmüş olup bu grupta da anlamlı fark görülmedi ( $p=0,287$ ).

*BRAF*, *NRAS* ve *STK11* gen değişikliği, erkeklerde kadınlardan (p=0,641, p=0,467, p=0,729), *PIK3CA*, kadınlarda erkeklerden sık görüldü (p=0,953). Ancak bu bulguların hiçbirisi istatistiksel olarak anlamlı değildi. *KIT* gen değişikliği ise erkek ve kadınlarda eşit oranda (%0,8) görüldü.

**Tablo 15: Gen değişikliklerinin cinsiyete göre sıklığı**

	Erkek	Kadın	p değeri
Genel gen değişikliği	%52,7	%59,6	0,021
<i>EGFR</i> gen değişikliği	%15,5	%36,7	<0,001
<i>EGFR</i> mutasyonu	%10,3	%33,7	<0,001
<i>EGFR</i> amplifikasyonu	%11,3	%13,7	0,336
<i>PIK3CA</i>	%5,6	%5,9	0,953
<i>ERBB2</i>	%3,3	%4,3	0,349
<i>KRAS</i>	%24,8	%15,6	<0,001
<i>FGFR1</i>	%7,2	%2,2	0,014
<i>MET</i>	%7,9	%3,5	0,034
<i>BRAF</i>	%3,3	%3,6	0,641
<i>NRAS</i>	%1,2	%0,5	0,467
<i>STK11</i>	%7,6	%4,7	0,729

#### 4.10. Yaş'a göre gen değişikliği görülme sıklığı

Hastalar, 50 yaşından küçük ve büyük olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Gen değişikliği görülme oranı, 50 ve daha küçük yaşta olan hasta grubunda %51,6 (82/159), 50 yaşından büyük hastalarda ise %54,7'di (734/1341) (p=0,449).

Gen değişiklikleri ile yaş arasındaki ilişki ayrı ayrı değerlendirildiğinde, *EGFR* gen değişiklikleri, 50 yaş altı grupta %22,6 oranında görülürken, 50 yaş üstü grupta %20,6 oranında izlendi. Ancak genç yaştaki hastalarda *EGFR* gen değişikliğinin sık görülmesi istatistiksel

olarak anlamlı değildi ( $p=0,54$ ). *KRAS* ve *PIK3CA* gen değışikliği 50 yaşından büyük olanlarda daha sık görüldü (sırasıyla  $p=0,332$ ,  $p=0,560$ ). *KIT* gen değışikliği ise 50 yaşında küçük olanlarda daha sıktı. Yaş grupları 60 yaş altı ve üstü olarak hesaplandığında *ERBB2* gen değışikliği görölme oranı genç hastalarda daha yüksekti ( $p=0,584$ ). *BRAF* genç ve yaşlı hastalarda benzer oranlarda (%3,2) görüldü. Ancak bunların hiçbirini istatistiksel olarak anlamlı değildi.

#### **4.11. Adenokarsinomların alt tiplerine göre gen değışikliği görölme sıklıklığı**

*EGFR* gen değışikliği, mikropapiller paternin %38,9'unda, lepidik paternin %33,3'ünde, kribriiform paternin %30,8'inde, asiner paternin %27,2'sinde, papiller paternin %25,5'inde ve solid paternin %21,1'inde saptandı. Alt tiplerde *EGFR* gen değışikliği görölme oranları karşılaştırıldığında mikropapiller paternin solid paterne oranla daha sık *EGFR* gen değışikliği barındırması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,042$ ).

*EGFR* mutasyonlarını ve *EGFR* amplifikasyonlarını ayrı ayrı incelediğimizde, ADK'lerde toplam 74 olguda (%14,7) *EGFR* amplifikasyonu izlendi. Bunların hiçbirinde lepidik patern görülmedi. Kırkyedi olguda (47/338, %13,9) asiner patern, 14 olguda (14/95, %14,7) solid patern, 7 olguda (7/19, %36,8) mikropapiller patern, 4 olguda (%12,5) papiller patern, 2 olguda (2/11, %18,2) kribriiform patern izlendi. Alt

tiplerde *EGFR* amplifikasyonu görülme oranları karşılaştırıldığında, mikropapiller paternin, asiner ve solid paterne göre daha yüksek oranda *EGFR* amplifikasyonuna sahip olması istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla  $p=0,014$ ,  $p=0,046$ ).

*EGFR* mutasyonu olan hastaların 5'inde (5/18, %27,8) lepidik, 125'inde (125/556, %22,5) asiner, 12'sinde (12/55, %21,8) papiller, 10'unda (10/36, %27,8) mikropapiller, 24'ünde (24/137, %14,9) solid, 2'sinde (2/13, %15,4) kribriform patern izlendi. Mikropapiller paternin asiner, solid, kribriform ve papiller paterne oranla daha sık *EGFR* mutasyonu içerdiği görüldü fakat bu fark anlamlı bulunmadı.

*KRAS* mutasyonu, kribriform paternin %30,8'inde, asiner paternin %28,1'inde, papiller paternin %27,3'ünde, solid paternin %23,6'sında, lepidik paternin %22,2'sinde ve mikropapiller paternin %11,1'inde görüldü. Paternlerin birbirine üstünlüklerine bakıldığında, sadece asiner paternde mikropapiller paterne göre *KRAS* mutasyonu görülme oranının daha yüksek olması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,043$ ).

ADK'lerin kribriform ve lepidik paternindeki biyopsilerinin hiçbirinde *ERBB2* gen değişikliği saptanmadı. Asiner paternin %2,2'sinde, papiller paternin %10,9'unda, mikropapiller paternin %8,3'ünde, solid paternin %3,7'sinde *ERBB2* gen değişikliği görüldü. Papiller paternin asiner paterne baskın olması istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,032$ ).

*BRAF* mutasyonu, mikropapiller ve lepidik paternlerde %5,6, asiner paternde %4,1, papiller paternde ise %3,6 oranında görüldü ve bu paternler ile *BRAF* mutasyonu görülme sıklığı arasında anlamlı fark saptanmadı.

*MET* gen değişikliği, mikropapiller paternde %21,1, solid paternde %15,8, asiner ve papiller paternde %5,9 oranında görüldü. Lepidik paternde hiç *MET* mutasyonu görülmedi. Mikropapiller paternde *MET* gen değişikliğinin asiner, papiller ve solid paternden daha sık görüldü (sırasıyla  $p=0,031$ ,  $p=0,179$   $p=0,519$ ). Alt tiplerde görülen diğer gen değişikliklerinin görülme sıklıkları arasında anlamlı fark saptanmadı. Alt tiplerin gen değişikliklerine göre oranları Tablo 16'da özetlenmiştir.

**Tablo 16: Alt tiplerdeki gen değişikliklerinin sıklığı**

	Lepidik n (%)	Asiner n (%)	Papiller n (%)	Mikropapiller n (%)	Solid n (%)	Kribriform n (%)
<i>EGFR</i> genel	6 (33,3)	151 (27,2)	14 (25,5)	14 (%38,9)	34 (21,1)	4 (30,8)
<i>EGFR</i> mut	5 (27,8)	125 (22,5)	12 (21,8)	10 (27,8)	24 (14,9)	2 (15,4)
<i>EGFR</i> amp	0 (0)	47 (13,9)	4 (12,5)	7 (36,8)	14 (14,7)	2 (18,2)
<i>KRAS</i>	4 (22,2)	156 (28,1)	15 (27,3)	4 (11,1)	38 (23,6)	4 (%26,3)
<i>ERBB2</i>	0 (0)	12 (2,2)	6 (10,9)	3 (8,3)	6 (3,7)	0 (0)
<i>MET</i>	0 (0)	20 (5,9)	2 (6,3)	4 (21,1)	15 (15,8)	0 (0)
<i>BRAF</i>	1 (5,6)	23 (4,1)	53 (3,6)	34 (5,6)	6 (3,7)	0 (0)
FGFR1	0 (0)	15 (4,4)	2 (6,3)	0 (0)	6 (6,3)	0 (0)
STK11	1 (%33,3)	7 (10,5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
PIK3CA	1 (5,6)	27 (4,9)	4 (7,3)	1 (2,8)	8 (5)	0 (0)

#### 4.12. Tümör hücre oranlarının gen değişikliği karşılaştırılması

Yüzde %20 ve üzerinde tümör hücre oranına sahip 1163 örnekte (%87,6) gen değişikliği görülme oranı %56,5 iken, %20'den düşük tümör hücre oranına 164 örnekte bu oran %50'dir ( $p=0,138$ ). *EGFR* gen değişikliği için bu oranlar %21 ile %16,5, *EGFR* mutasyonu için %15,6 ile %13,4 ve *EGFR* amplifikasyonu için %13,3 ile %6,9'dur (sırasıyla  $p=0,179$ ,  $p=0,474$ ,  $p=0,172$ ) (Tablo10).

Bin yüz altmış üç materyal %20 ve üzerinde, 164 materyal ise %20'inin altında tümör hücre oranına sahipti. Yüzde 20 ve üzerinde tümör hücre oranına sahip olan materyallerde gen değişikliği görülme oranı %56,5 (657), %20'inin altında olanlarda %50'dir (169). Bu bağlamda tümör hücre oranları ile gen değişikliği görülme sıklığı arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,117$ ). Aynı eşik değer kullanılarak *EGFR* mutasyon görülme yüzdelerine baktığımızda, %30'un altında tümör hücre oranına sahip 164 biyopsiden 22'sinde (%13,4) *EGFR* mutasyonu saptandı. Yüzde 20 ve üzerinde tümör hücre oranına sahip olan 1164 biyopsiden 181'inde (%15,6) *EGFR* mutasyonu izlendi ( $p=474$ ). *EGFR* amplifikasyonunda ise bu oranlar sırasıyla %6,9 ve %13,3'tür ( $p=172$ ). Yüzde 5'ten az tümör hücresi içeren iki biyopside de gen değişikliği saptanmadı. Örnekler eşik değer düşürülerek incelendiğinde, yüzde 5 ve 5'ten az oranda tümör hücresi içeren 60 örnekten 29'unda (%48,3), %5'ten fazla tümör hücresi içeren 1267 örnekten 710'unda (%56) mutasyon saptandı. Aradaki farkın arttığı ancak yine de anlamlı olmadığı görüldü ( $p=0,240$ ) (Tablo 17).

Yüz ve daha az sayıda tümör hücresi (20-100 adet) içeren 19 dokunun 12'sinde (%63,2) gen değışiklikleri saptandı. Gen değışikliği saptanan olguların en düşük hücre sayısına sahip olanı 30 hücre içermekteydi.

**Tablo 17: Tümör hücre oranları ile saptanan gen değişikliğinin karşılaştırılması**

			Tümör hücre oranı		Total
			≥20	<20	
Mutasyon	Var	Sayı	657	82	739
		%	%56,5	%50	%55,7
	Yok	Sayı	506	82	588
		%	%43,5	%50	%44,3
EGFR gen değişikliği	Var	Sayı	244	27	271
		%	%21	%16,5	%20,4
	Yok	Sayı	919	137	1056
		%	%79	%83,5	%79,6
EGFR mutasyonu	Var	Sayı	181	22	203
		%	%15,6	%13,4	%15,3
	Yok	Sayı	982	142	1124
		%	%84,4	%86,6	%84,7
Total		Sayı	1163	164	1327
		%	%87,6	%12,4	%100
EGFR amplifikasyonu	Var	Sayı	97	5	102
		%	%13,3	%6,9	%12,8
	Yok	Sayı	630	67	697
		%	%86,7	%93,1	%87,2
Total		Sayı	727	72	799
		%	%91	%9	%100

#### 4.13. Mutasyonların birlikte görülme sıklığı

*EGFR* gen değişikliği ile birlikte görülen mutant genler incelendiğinde en sık saptananlar sırasıyla, *KRAS* [39/165, %23,6 (39 olgunun 13'ünde sadece *EGFR* amplifikasyonu, 26'sında *EGFR* mutasyonu)], *PIK3CA* (17/165, %10,3), *MET* (17/165, %10,3), *ERBB2* (16/165, %9,7), *FGFR1* (10/165, %6,1) ve *BRAF*'ı (8/165, %4,8).

Bunun dışında birlikteliği sık olan diğer genler incelendiğinde ikinci sıklıkta *KRAS* ile *PIK3CA* birlikteliği (26/165, %15,8) görüldü. *KRAS* ile *MET* birlikteliği %8,5 (14/165), *KRAS* ile *STK11* birlikteliği %4,2 (7/165) ve *KRAS* ile *BRAF* birlikteliği %4,2'ydi (7/165).

*EGFR* gen değişikliği olan 312 hastanın 39'unda (%12,5) birlikte *KRAS* gen değişikliği izlendi. *EGFR* mutasyonu olmayan hastalarda ise *KRAS* mutasyon oranı %25,2 (299/1188) olarak saptandı. Aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $p<0,001$ ) göz önünde bulundurulduğunda, bir olguda *EGFR* ya da *KRAS* gen değişikliklerinden birinin varlığının diğerinin saptanma olasılığını azalttığı görüldü (Tablo 18).

**Tablo 18: EGFR gen değişikliği ile KRAS mutasyon durumlarının karşılaştırılması**

			KRAS mutasyonu		Total
			Var	Yok	
EGFR gen değişikliği	Var	Sayı	39	273	312
		EGFR	% 12,5	% 87,5	% 100
		KRAS	% 11,5	% 23,5	% 20,8
	Yok	Sayı	299	889	1188
		EGFR	% 25,2	% 74,8	% 100
		KRAS	% 88,5	% 76,5	% 79,2
Total	Sayı	338	1162	1500	
	EGFR	% 22,5	% 77,5	% 100	
	KRAS	% 100	% 100	% 100	

*PIK3CA* mutasyonu olan 86 hastanın 51'inde (%59) ek gen sapmaları mevcuttu. En sık birlikteliğin *KRAS* genindeki değişikler olduğu görüldü. *PIK3CA* mutasyonu olan hastalarda *KRAS* gen değişikliği birlikteliği %30,2 (26/86) oranında görülürken, *PIK3CA* mutasyonu olmayan hastalarda *KRAS* mutasyon oranı %22,1'dir (312/1414) (Tablo 19). Bu sonuca dayanarak bir hastada *PIK3CA* mutasyon mevcudiyetinin *KRAS* mutasyonu görülme olasılığını arttırdığı düşünöldü. Ancak bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,104).

**Tablo 19: *PIK3CA* mutasyonu ile *KRAS* mutasyon durumlarının karşılaştırılması**

			<i>PIK3CA</i> mutasyonu		Total
			Var	Yok	
<i>KRAS</i> mutasyonu	Var	Sayı	26	312	338
		<i>KRAS</i>	%7,7	%92,3	%100
		<i>PIK3CA</i>	%30,2	%22,1	%22,5
	Yok	Sayı	60	1102	1162
		<i>KRAS</i>	%5,2	%94,8	%100
		<i>PIK3CA</i>	%69,8	%77,9	%77,5
Total	Sayı	86	1414	1500	
	<i>KRAS</i>	%5,7	%94,3	%100	
	<i>PIK3CA</i>	%100	%100	%100	

*KRAS* mutasyonu olan hastalara *STK11* mutasyonunun eşlik etme oranı %17 (7/42) iken, *KRAS* mutasyonu olmayan hastalarda *STK11* mutasyonu oranı %3,4'tü (4/119). *STK11* mutasyonu olan 11 hastanın 7'sine de *KRAS* mutasyonu eşlik ediyordu. *KRAS-STK11* mutasyon birlikteliği, *STK11* mutasyonunun tek başına görülmesinden daha sıkı ( $p=0,008$ ) (Tablo 20). *STK11* mutasyonu G719A yanlış anlamlı SNV içeren sadece 1 adet *EGFR* mutasyonu ile birliktelik gösterdi.

**Tablo 20: *STK11* mutasyonu ile *KRAS* mutasyon durumlarının karşılaştırılması**

			<i>KRAS</i> mutasyonu		Total
			Var	Yok	
<i>STK11</i> mutasyonu	Var	Sayı	7	4	11
		<i>STK11</i>	%63,6	%36,4	%100
		<i>KRAS</i>	%16,7	%3,4	%6,8
	Yok	Sayı	35	115	150
		<i>STK11</i>	%23,3	%76,7	%100
		<i>KRAS</i>	%83,3	%96,6	%93,2
Total	Sayı	42	119	161	
	<i>STK11</i>	%26,1	%73,9	%100	
	<i>KRAS</i>	%100	%100	%100	

## 5. TARTIŞMA

Günümüzde metastatik KHDAK tedavisinde ilk aşamada hedefe yönelik ajanlar kullanılır (162). Bu yüzden çalışmamızda esas olarak KHDAK'nin hedefe yönelik tedavisinde yol gösterici olmayı amaçladık.

### 5.1. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde görülen gen değişikliklerinin sıklığının yorumlanması

KHDAK'lerde hedefe yönelik tedavilerin belirlenmesi için moleküler testlerin yapılması mutlaktır. Önceden bu testler birkaç gene yönelik iken, son yıllarda YND teknolojisinin kullanımının da katkısıyla çok sayıda gen değişikliği tespit edilmiş ve bunlara yönelik tedaviler gelişmiştir.

Akciğer kanserlerinde en az bir gen değişikliği saptanması ile ilgili literatürdeki çalışmalarda farklı oranlar olduğu bilinmektedir. Fernandes ve ark.'larının ADK'lerde yaptığı YND çalışmasında bir hastada en az bir gen değişikliği görülme oranı %47,9, Barlesi, F. ve ark.'larının çalışmasında ise %50 (163, 164) iken, çalışmamızda bu oran %54,4 olarak saptandı. Bu iki çalışmada genel gen değişikliğine dahil edilen gen yeniden düzenlemelerinin, bizim çalışmamızdaki panellerde bulunmamasına karşın genel gen değişiklik oranımızdaki hafif yükselik çalışmamızda gen kopya sayı artışlarının da bulunmasıdır.

EGFR mutasyon sıklığı değişik toplumlarda farklılık göstermekte olup literatürde %11-22 arasında değişmektedir. Bizim çalışmamızda *EGFR*

mutasyonu görülme oranı tüm tanı gruplarında %16,1 olup literatürle büyük oranda uyumludur. Ariel Lopez-Chavez ve ark'larının çalışmasında ise daha yüksek oran bildirilmiş olup bunun nedeni çalışmamızda ADK dışındaki %34,5 oranında bulunan KHDAK'lerin *EGFR* mutasyon görülme sıklığının oldukça düşük (%8,1, 42/517) saptanmasıdır (94, 164).

2014 yılındaki TCGA verilerine göre ADK'lerde %62 oranında sürücü gen mutasyonu saptanmış olup bizim çalışmamızda bu oran %60,5'ti. Çalışmamızda TCGA verilerinden farklı olarak çalışma grubunda FISH yöntemi ile bakılan *ALK* ve *ROS1* gen yeniden düzenlemeleri oranları dahil edilmedi. TCGA verilerinde ADK'lerdeki *EGFR* mutasyon sıklığı %11 olarak bildirilmiş olup, %20,2 olarak bulunan çalışmamızdan düşüktür (5). Aynı zamanda Ruiz-Patiño ve ark.'larının çalışmasında da ADK'lerde *EGFR* mutasyonu (%19,7) bizim çalışmamızdan daha düşük oranda iken, özellikle Doğu Asya'daki hastalarda *EGFR* mutasyon oranlarının %50'lere ulaştığını bildiren çalışmalar da mevcuttur. (165-167).

*EGFR* mutasyonu görülen hastaların %32'sinde ekzon 21 L858R mutasyonu, %42,7'sinde ekzon 19 delesyonu, %9,1'inde T790M, %4,6'sında ekzon 20 insersiyonları izlenmiştir. *EGFR* mutasyonlarındaki sıklık sıralaması literatürdeki birçok yayınlara benzer olup, sıklık oranlarına bakıldığında ekzon 19 delesyonu ve L858R mutasyonları tüm *EGFR* mutasyonlarının %90'ının temsil ederken bizde bu oran daha azdır (32, 39, 168-170). Bu durumun nedeninin çalışmamızda YND yönteminin farklı *EGFR* mutasyonlarını tespit etmesi olabileceği düşünüldü. Böylece göreceli

olarak ekzon 19 delesyonu ve L858R mutasyonlarının oranları düşük saptandı.

*EGFR* amplifikasyon oranları literatürdeki birçok çalışmada %4-46 arasında değişmektedir. Çalışmamızda *EGFR* amplifikasyon oranı genel popülasyonda %12,1, ADK'lerde %13,6, SHK'lerde %11,2 olup literatürdeki veriler ile uyumluydu (37).

Takano ve ark. yaptıkları çalışmada, *EGFR* amplifikasyonu ile *EGFR* mutasyonlarının birlikte görüldüğü hastalarda tedaviye cevabın daha iyi olduğu ve tedaviden sonraki progresyonsuz sağkalımların daha uzun olduğunu bildirmişlerdir (171). Çalışmamızda *EGFR* mutasyonlarının *EGFR* amplifikasyonları ile olan ilişkisi incelendiğinde, literatürle benzer olarak *EGFR* amplifikasyonu olanlarda *EGFR* mutasyonu bulunma oranı, bulunmama oranına göre daha yüksektir (172). Ayrıca Ruiz-Patino ve ark. çalışmalarında *EGFR* amplifikasyonu görülen hastaların 1/3'ünde *EGFR* mutasyonlarının da eşlik ettiği bildirilmiştir (166). Çalışmamızda *EGFR* amplifikasyonuna en sık eşlik eden *EGFR* mutasyonları Sholl LM ve ark.'larının çalışmasına benzer olarak ekzon 19 delesyonu (%33,3) ve L858R mutasyonudur (%25,6) (173).

Kato ve ark.'ların çalışmasında da bizim çalışmamızda olduğu gibi *EGFR* amplifikasyonu olan hastalarda ek mutasyon saptanma oranı *EGFR* amplifikasyonu olmayan hastalara göre daha fazladır (174).

Ruiz-Patino ve ark.'larının çalışmasında *EGFR* amplifikasyonu metastatik dokuda %58, primer tümörde ise %25 oranında görülmüş olmasına karşın, bizde primer tümörde *EGFR* amplifikasyon görülme oranı (%12,7) metastatik dokularda *EGFR* amplifikasyonu görülme oranından daha (%8,5) fazladır (166).

*KRAS* mutasyonu Barlesi ve ark.'larının çalışmasında %29, Lopez-Chavez ve ark.'larının çalışmasında %24,9, Amerikan Kanser Araştırmaları Derneği (AACR) verilerine göre %29,7, Scheffler ve ark.'larının çalışmasında %26,8 oranında görülmüş olup, Brando ve ark.'larının literatür taramasında da KHDAK'lerdeki *KRAS* mutasyon sıklığının %15 ile %30 arasında değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir. Ek olarak *KRAS* mutasyonunun %8 oranında saptandığı Shigematsu, H. ve ark.'larının 2015 yılında yaptıkları bir çalışma da mevcuttur. Bizim çalışmamızda da genel *KRAS* mutasyon sıklığı literatürde belirtilen oranlar ile benzer aralıktadır (40, 90, 94, 164, 170). Scheffler, M ve ark.'larının çalışmasında en sık *KRAS* mutasyonları G12C, diğer G12X, G13X ve Q61X'lerdir. Bizim çalışmamızda da en sık *KRAS* mutasyonu %34,9 oranla G12C olup, %16 oranında ikinci sıklıkta G12D mutasyonu görüldü. Literatür ile uyumlu olarak çalışmamızda da *KRAS* mutasyonlarının %98,2'si ekzon 2 ve 3'teki nokta mutasyonlarıdır (90, 94, 164, 169). Arbour ve ark. çalışmalarında yine literatüre ve bizim çalışmamıza benzer şekilde en sık *KRAS* mutasyonunun %44 oranla G12C olduğunu ve bunu G12D, G12V, G12A, G13D, Q61H, G13C ve G12S yanlış anlamlı SNV'lerin takip ettiğini belirtmişlerdir (92).

Scheffler, M ve ark.'larının çalışmasında *ERBB2* mutasyon ve amplifikasyonlarının her birinin %2,8 oranında görüldüğü bildirilmiştir. Tomizawa ve ark.'larının çalışmasında ise *ERBB2* mutasyonunu %2,6 oranında görülmüş olup, bizim çalışmamızda *ERBB2* mutasyonu %1,2, *ERBB2* amplifikasyonu ise %2,3'tür. Bu veriler ışığında, diğer çalışmalara kıyasla saptadığımız *ERBB2* gen değişikliği oranlarının daha düşük olduğu görülmüştür (90, 175, 176). Araştırmamızda, yapılan birçok çalışmada da saptandığı gibi ekzon 20 insersiyonları *ERBB2*'de görülen en sık mutasyonlar olduğu görülmüştür (54, 55, 177, 178).

Çalışmamızda *BRAF* mutasyonunun görülme oranı (%3,2) literatürdeki diğer çalışmalara benzerdir (179). Literatürdeki birçok çalışmada bizde olduğu gibi en sık görülen mutasyon *BRAF* mutasyonu V600E'dir (100, 101, 180, 181). Alvarez ve ark.'larının çalışmasında *BRAF* mutasyonları çalışmamız ile benzer olarak en sık ADK tanılı olgularda (%77,1) görülmüştür (100).

Tsoulos ve ark.'larının yayınladığı çalışmada *MET* mutasyonu %1,8, *MET* amplifikasyonu ise %0,8 oranında saptanmış olup, çalışmamızda *MET* mutasyonu %0,8, *MET* amplifikasyonu %6,2 oranında izlenmiştir (182). Fernandes ve ark. ise çalışmalarında *MET* mutasyonu oranını %2,4 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda *MET* mutasyon sıklığı benzer çalışmalardan daha düşük oranda görülürken *MET* amplifikasyonu daha yüksektir (3, 163, 183, 184).

*PDGFRA* mutasyonu bizim çalışmamızda %0,2 oranında izlenirken AACR verilerine göre %3,9, COSMIC veritabanına göre %3-4 oranlarında görülmektedir (185, 186).

Scheffler ve ark'larının çalışmasında *PIK3CA* mutasyonu %3,2, Zhao,J ve ark'larının çalışmasında %9 ve AACR verilerine göre %7,5 oranında görülürken çalışmamızda bu oran %5,7'dir. Çalışmamızdaki bu oranın literatürdeki bazı çalışmalardan düşük olması, *PIK3CA* mutasyonlarının SHK'lerde diğer KHDAK'lerden daha sık görülmesi ve çalışmamızda SHK dışındaki tanıların fazla bulunması olarak açıklanabilir. Literatürdeki çalışmalarda en sık görülen *PIK3CA* mutasyonları E545K, E542K ve H1047R yanlış anlamlı SNV'ler olup bizim çalışmamızda da sık görülen *PIK3CA* mutasyonları benzerdir. (106, 186, 187).

AACR verilerine göre KHDAK'lerde *FGFR1* amplifikasyon oranı %1,1 iken, bizde *FGFR1* amplifikasyon oranı %5,6'ydı (186). *FGFR1* amplifikasyon oranındaki bu değişkenlik çalışmaya dahil edilen olguların SHK ve ADK tanı oranlarına göre ciddi farklılıklar gösterebileceğinden SHK ve ADK oranlarının literatürdeki oranlarla karşılaştırması "Tanılardaki gen değişiklikleri görülme sıklığının karşılaştırması" başlıklı bölümde incelenecektir.

Fachinetti ve ark.'larının çalışmasında *STK11* mutasyonu görülme sıklığı %8'dir. Çalışmamızda genel *STK11* mutasyonu %6,8, ADK tanı olgularda ise %8,3 oranında izlenmiştir. Ancak diğer çalışmalara

bakıldığında bu oranın %15-20 arasında olduğu görülmüştür (108, 188). Çalışmamızda SHK tanısı alan olguların hiçbirinde *STK11* mutasyonu izlenmemiştir. *STK11* mutasyonu bulunan hastaların %81,8'inin tanısı ADK'dir. Literatürdeki çalışmalarda da *STK11* mutasyonunun SHK'lerde nadiren görüldüğü ve en sık ADK tanılı olgularda izlendiği bilinmektedir (108, 176).

*ALK* mutasyonları, *ALK* yeniden düzenlemesi bulunan hastalarda kullanılan *ALK* inhibitörlerine (krizotinib vb.) karşı gelişen direnç ile ilişkili ana mekanizmalardan biridir. Literatürdeki çalışmalarda vurgulanan direnç ilişkili *ALK* mutasyonlardan 5'i (L1196M, L1152P, L1198F, G1202R, D1203N) bizim çalışmamızda da gözlenmiştir (189, 190).

*KIT* amplifikasyonu, Ramos A. H. ve ark'larının çalışmasında akciğer ADK'lerinin %3-7'sinde, SHK'lerinin ise %8-10'unda görülürken, AACR verilerine göre ise genel olarak KHDAK'de *KIT* amplifikasyonu %0,26 oranında olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda *KIT* amplifikasyonu görülme oranı %0,6 olup AACR ile daha yakın değerlerde olduğu görülmüştür. AACR'nin araştırmasında KHDAK'lerinde *KIT* mutasyon oranı %2,47, Tao ve ark'larının çalışmasında ise SHK'lerde *KIT* mutasyon oranı %0,6 olarak belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda KHDAK'lerinde *KIT* mutasyonu görülme oranı %0,7, SHK tanılı olgularda ise %1,5'tir. SHK'lerde *KIT* mutasyonunun daha yüksek oranda görülmesi beklenirken Tao ve ark'larının çalışmasındaki SHK'nin *KIT* mutasyon oranı literatürdeki diğer çalışmalardan ve bizim çalışmamızdan daha düşük

oranda olduğu görülmüştür (71, 186). Bununla birlikte Ariel Lopez-Chavez ve ark'ları KHDAK'lerde yaptıkları çalışmada hiç *KIT* mutasyonu izlememiş olduklarını raporlamıştır (94).

Akciğer kanserlerinde saptanan *NRAS* mutasyon sıklığı, Kanserdeki Somatik Mutasyon Kataloğu (COSMIC) veri tabanından ve 6 farklı kurumdan alınan verilere göre %0,1 ile %2,3 arasında değişmekte olup ortalaması %0,7'dir. Bizim çalışmamızda da bu değer diğer çalışmalara benzer oranda (%1) saptandı. Bahse konu çalışmalarda vakaların çoğu bizde olduğu gibi ADK morfolojisindedir. Çalışmamızda saptanan Y64D ve A66T mutasyonları, bu çalışmalarda hiç görülmemişken saptadığımız diğer SNV'ler (Q61K, G12V, Q61R, G12C) aynıdır. En sık görülen SNV bizim çalışmamızda da olduğu gibi Q61L'dir (98).

AACR'ye göre, *ERBB3* mutasyonu KHDAK'lerin %2,2'sinde, Jaiswal, B.S. ve ark'larının çalışmasına göre ise %1'inde görülürken bizde daha düşük bir oranda (%0,3' ünde) *ERBB3* mutasyonu saptanmıştır (186, 191).

TCGA'ya göre *FBXW7* mutasyonu SHK'lerde %6,2 ve ADK'lerde %1,2 oranında görülürken bizde sadece KHDAK, daha ileriye spesifiye edilemeyen tanılı 1 vakada (%0,6) izlenmiştir. COSMIC'nin verileri de TCGA'nın verilerine benzer olup çalışmamızdaki değerler bu oranların çok altındadır (118).

TCGA ve Uluslararası Kanser Genom Birliği'ndeki (ICGC) verilere göre *MAP2K1* mutasyonu, akciğer ADK'lerinin %2'sinde, SHK'lerin ise %1'inde görölmekte olup bizim alışmamızda *MAP2K1* mutasyon oranı %0,4'tür (103).

*SMAD4* mutasyonu, Tsoulos, N. ve ark.'larının yaptığı çalışmada %2, TGCA'nın verilerine göre ise %4-6 oranlarında görölmektedir. Çalışmamızda *SMAD4* mutasyon görölme oranı %2,4 olarak saptanmış olup Tsoulos ve ark.'larının çalışması ile benzer oranlardadır (151, 182).

Tümörün metastaz yeteneği kazanmasına neden olan epitelyal mezankimal dönüşüm (EMT) basamaklarından biri, hücreler arası bağlantı kaybına yol açan *CDH1* ve *CTNNB1* genlerindeki mutasyonlardır. Evan L. Busch ve ark.'larının 2017 yılında yaptığı çalışmada akciğer kanserlerinde %2, Gogl ve ark.'larının çalışmasında %1,5 oranında *CTNNB1* mutasyonları izlenirken, bizde *CTNNB1* mutasyonu %0,6 (1/161) oranında görölmüştür. Bu iki çalışmada da *CTNNB1*'deki mutasyonların kadınlarda daha sık olduğu belirtilirken bizim mutasyon saptadığımız tek hastanın da kadın olması dikkat çekmiştir (192, 193).

*FGFR3* mutasyonu, AACR verilerine göre KHDAK'lerde %1,77 oranında görölür. Bizim alışmamızda saptadığımız oran (%1,2) bu değere yakındır (186). Ancak literatürde bu oranın daha yüksek olduğunu raporlayan çalışmalar da mevcuttur (69).

*AKT1* mutasyonu, COSMIC ve AACR verilene göre KHDAK'lerde %0,7 oranında görülmüştür. Bizde *AKT1* mutasyon oranı daha düşüktür. Ayrıca veri tabanlarında en sık görülen *AKT1* mutasyonu E17K olup bizde de aynı mutasyonun izlendiği göze çarpmıştır (104, 185, 186).

*ERBB4* mutasyonu çalışmamızda %0,6 oranında görülürken, AACR verilerine göre %4,8, COSMIC verilerine göre %7,5, Kurppa, K.J. ve ark'larının çalışmasında ise %4,8'dir. (59, 185, 186).

*PTEN* mutasyonu COSMIC verilerine göre %3,4, AACR'ye göre %3,6 oranında saptanmıştır. Bizim *PTEN* mutasyon oranımız bu değerlere göre oldukça düşük olup %0,4'tür (185, 186).

## 5.2. Tümör hücre oranlarının gen değişikliği saptamadaki etkisi

CAP-IASLC-AMP moleküler test rehberinde örneklerdeki tümör hücre oranlarının en az %20 olmasını önerirken (153), çalışmamızda %20 ve üzerinde tümör hücre oranına sahip olan örneklerde görülen gen değişikliği oranı (%56,5), %20'nin altında tümör hücre oranına sahip örneklerdeki gen değişikliği oranından (%50) daha fazladır ( $p=0,117$ ). *EGFR* gen değişiklikleri, *EGFR* mutasyonu ve *EGFR* amplifikasyonları da %20 ve daha fazla tümör hücre oranına sahip örneklerde daha yüksektir (sırasıyla  $p=0,179$ ,  $p=0,474$ ,  $p=0,172$ ).

Shiau ve ark.'ları (194) *EGFR* testinde tümör hücre oranlarına göre mutasyon saptama olasılıklarını araştırdıkları çalışmada, %30 ve üzeri tümör hücre oranına sahip olan biyopsilerde daha yüksek başarı oranı saptadıklarını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ulaşabildiğimiz 1327 olgunun preparatları incelendiğinde, %30'un altında tümör hücre oranına sahip biyopsilerde *EGFR* mutasyonu saptama oranı %16,6 (53/319) iken, %30 ve üzerinde tümör hücre oranına sahip olan biyopsilerde *EGFR* mutasyonu saptama oranı %14,4'tür (145/1008). Genel gen değişikliği saptama oranlarımız ise bu iki grupta sırasıyla %53 ve %56,5'tir. Tümör hücre oranlarının gen değişikliklerini saptamadaki önemini belirlemek amacıyla ek olarak yaptığımız çalışmada, eşik değer %30'dan %5'e düşürülerek tekrar değerlendirme yapılmış, %5 ve %5'den az tümör hücre oranı içeren dokularda gen değişikliği oranı %48,3 iken, %5'ten fazla olanlarda %56 olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak bizim çalışmamızda

tümör hücre oranı ile gen değişikliği saptama oranları arasında anlamlı bir ilişki görülmemiştir (sırasıyla  $p=0,263$ ,  $p=0,240$ ).

Bir çalışmada ise “Real time” PCR’da efektif gen değişikliği saptanması için gerekli minimum tümör hücre oranının %20 ve üzeri olduğu bildirilmiş olup, PCR’ın YND’ye göre daha yüksek duyarlılığa sahip olması sebebiyle YND’deki eşik değerin daha yüksek olması gerektiği vurgulanmıştır (195). Ancak çalışmamızda, düşük tümör hücre oranlarına sahip dokularda gen değişikliği saptama oranının genel gen değişikliği saptama oranı ile yakın olması ve 100’den daha az tümör hücresine sahip dokularda dahi mutasyon saptama oranının yüksek (%63,2) olması, hastadan ideal oranda tümör hücresi içeren örnek alınmadığı özel durumlarda elimizde bulunan az tümör hücresi ihtiva eden dokulardan YND çalışılmasının hasta bazında hedef tedavilerde bir umut sağlayacağı aşıkardır.

### 5.3. Cinsiyet ve gen değişkenliği arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

Literatürdeki birçok çalışmada KHDAK tanılı kadınlarda erkeklerden daha fazla oranda mutasyon saptandığını bildirilmiştir. (40, 164, 196). Bizim araştırmamızda da kadınlarda genel gen değişikliği görölme oranı %59,6 olup erkeklerdeki gen değişiklik görölme oranından (%52,7) daha fazladır ( $p=0,021$ ).

Papadopoulou ve ark.'larının yaptığı çalışmada *EGFR* mutasyonlarında cinsiyet farklılığı görölmezken, literatürdeki birçok çalışmada bizim çalışmamızda da olduğu gibi *EGFR* gen değişikliklerinin kadınlarda erkeklerden daha sık görölmesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (38, 39, 164, 167, 197).

Literatürde *KRAS* mutasyonlarının erkeklerde ve kadınlarda görölme sıklıkları açısından değişik sonuçlar gözlenmiştir (198). Liu ve ark.'larının çalışmasında bizim çalışmamızla benzer olarak *KRAS* mutasyonlarının erkeklerde kadınlardan daha sık saptandığı bildirilmiş ( $p<0,05$ ), Barlesi ve ark.'larının çalışmasında da erkeklerde %35 kadınlarda %27 oranında *KRAS* mutasyonu görölmiş olup erkek baskınlığı saptanmıştır (164, 167). Ek olarak Scheffler ve ark.'larının çalışmasında da erkeklerde (%51,5) kadınlara oranla (%48,5) daha sık *KRAS* mutasyonu saptandığı raporlanmıştır (90). Ancak Shigematsu ve ark.'larının çalışmasında *KRAS* mutasyonları kadınlarda %10, erkeklerde ise %7 oranında görölmiştir (40).

Çalışmamızda *KIT* ve *NRAS* mutasyonları, erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülmüş ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Liu ve ark.'larının çalışmasında ise *KIT* ve *NRAS* gen değişikliklerinin erkeklerde kadınlara göre daha sık saptanmasının anlamlı bulunduğu belirtilmiştir (167).

Çalışmamızda *HER2* gen değişikliği kadınlarda erkeklerden daha sık görülmüş olup bu durum literatürdeki verilerle uyumludur (49, 178, 199). *PIK3CA* ise bizim çalışmamızda kadınlarda erkeklerden az farkla daha sıktır (sırasıyla %5,9, %5,7). Ancak Liu ve ark.'larının çalışmasında *PIK3CA* mutasyonlarının erkeklerde daha sık görülmesi anlamlı bulunmuştur (167). Bir başka çalışmada da *PIK3CA*'nın erkeklerde kadınlardan daha sık görüldüğü aktarılmıştır (106).

*MET* mutasyon ve amplifikasyonu, literatürle uyumlu olarak erkeklerde daha sık saptanmıştır. (200-203) . *BRAF* gen değişikliğinin kadınlarda erkeklerden daha sık görüldüğünü bildiren çalışmalar da mevcuttur. Çalışmamızda literatürle benzer olarak *BRAF* V600E mutasyonu kadınlarda erkeklerden daha sık görülmüştür (180, 181).

#### 5.4. Yaş ve gen değişkenliği arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

Çalışmamızda 50 yaş altı ve üzeri hasta grubu ve 60 yaş ve altı ile 60 yaş üstü olan gruptaki hastalarda benzer oranlarda gen değişikliği görülmüştür. Yang, B ve ark.'larının çalışmasında da yaş grupları arasında fark bulunmamıştır (204). Buna karşılık Suidan ve ark.'larının çalışmasında ortanca yaşı 44,5 olan hasta grubunda ortanca yaşı 68 olan hasta grubuna oranla daha sık *EGFR* mutasyonu izlenmiş olup bu oranlar sırasıyla %23 ve %18'dir (205). Çalışmamızda da *EGFR* gen değişikliği, 50 yaş ve altında olan hastalarda 50 yaş üstünde olan hastalara göre biraz daha yüksek oranda saptanmıştır.

Kuang ve ark.'larının çalışmasına benzer şekilde çalışmamızda da *KRAS*'ta gen değişikliği görölme oranı yaşlı hastalarda daha yüksek bulunmuştur (206). *BRAF* gen değişikliği çalışmamızda genç ve yaşlı hastalarda benzer oranda görölmesine karşın Kuang ve ark.'larının çalışmasında gençlerde daha yüksek oranda görülmüştür. Ancak istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir (206).

*ERBB2* gen değişikliği görölme oranı, birçok çalışmada genç hastalarda, yaşlı hastalardan daha sık izlenirken bizde de istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamakla birlikte benzerdir (177, 178, 206).

*PIK3CA* mutasyonunun çalışmamızda da olduğu gibi yaşlılarda gençlerden daha sık görölme durumu Jing, C. ve ark.'larının çalışmasında da gözlenmiştir (207).

## 5.5. KHDAK'leri ile gen değişkenliği arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

### 5.5.1. Adenokarsinomlar ile gen değişkenliği arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

TCGA'nın KHDAK'lerindeki verileri incelendiğinde, ADK tanılı hastalarda *KRAS* mutasyon oranı %33 olup bizim sonuçlarımızdan daha yüksektir. *EGFR* mutasyonu ise %13 oranında olup bizim çalışmamızdaki *EGFR* mutasyon oranından daha düşüktür. Yine TCGA verilerine göre ADK'lerde, *STK11* %17, *BRAF* %10, *MET* %7 ve *PIK3CA* mutasyonları %7 oranlarında görülmüş olup çalışmamızda bu mutasyonların daha az oranda saptanmıştır (5).

YND yöntemi ile yapılan çalışmalarda mutasyon oranları farklılıklar göstermektedir. Jordan ve ark.'larının çalışmasında 860 akciğer ADK'li olgu YND yöntemiyle incelenmiş ve çalışmamızda olduğu gibi *KRAS* ve *EGFR* mutasyonları en sık görülen mutasyonlar olarak saptanmıştır. *NRAS* mutasyonu %1,2 olarak görülmüş ve çalışmamız ile yakın oranlarda olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada *HRAS* bir olguda ve *RAF1* iki olguda görülürken çalışmamızda *HRAS* ve *RAF1* mutasyonu olan olgu saptanmamıştır. Aynı çalışmada *MAP2K1* mutasyonu %0,7, bizde ise %0,5 oranında izlenirken, *PIK3CA* mutasyonunun TCGA verilerinde oranı %3,7 olup, bizim çalışmamızda %4,6'dır (208).

Fernandes M.G. ve ark'larının 2019 yılında, YND yöntemini de kullanarak yaptıkları çalışmalarında ADK'lerde, *EGFR*, *KRAS*, *ERBB2* ve *STK11* mutasyonları (sırasıyla %19,7, %19,7, %0,9 ve 0,9) çalışmamızda görülen oranlardan daha düşük olarak tespit edilmiştir. *BRAF* mutasyonu ise %4,3 oranında saptanmış olup araştırmamızdaki veriden daha yüksek oranda gözlenmiştir (163). La Fleur ve ark.'larının çalışmasında ADK'de *ERBB2* %3, *STK11* %21 ve *KRAS* mutasyonları %44 oranında saptanmış olup bizim çalışmamızdan daha yüksek değerlerde olduğu dikkati çekmiştir. Bu çalışmada ayrıca *EGFR* %19, *PIK3CA* %1'den az, *MET* %1 ve *BRAF* mutasyonları %2 olarak raporlanmış olup bu oranların da bizim verilerimizden daha düşük olduğu göze çarpmıştır (176).

ADK'lerde *EGFR* mutasyonlarının sıklığı etnik kökene göre %3'ten %50'lere varan düzeyde ciddi oranda farklılıklar gösterebilir (40). *KRAS* mutasyonları da *EGFR*'de olduğu gibi %8 ile %44 arasında değişen oranlarda karşımıza çıkabilmektedir (40, 176).

#### 5.5.1.1. İnvaziv müsinöz adenokarsinomların moleküler profili

Çalışmamızda invaziv müsinöz adenokarsinomların %66'sında gen değişikliği izlenmiş olup en sık %57,6 oranıyla *KRAS* mutasyonları saptanmıştır. Literatürdeki çalışmalarda *KRAS* mutasyon oranı %15 ile %71 arasında değişkenlik göstermektedir (209-211).

Bir çalışmada invaziv müsinöz karsinomlarda *EGFR* mutasyonunun nadir görüldüğü bildirilmiştir (178). Araştırmamızda hiç *EGFR* mutasyonu saptanmamıştır.

Righi ve ark.'larının çalışmasında invaziv müsinöz karsinomlarda bizim çalışmamız ile benzer oranlarda *MET* ve *BRAF* mutasyonları gözlenirken ek olarak bizim tespit etmediğimiz *EGFR*, *FGFR3*, *PDGFRA*, *FLT3*, *CTNNB1*, *FBXW7*, *PIK3CA*, *PTEN*, *STK11* ve *HRAS* genlerine ait mutasyonlar da izlenmiştir (211).

5.5.1.2. Taşlı yüzük hücreli morfolojili adenokarsinomların moleküler profil

Boland ve ark.'larının yaptığı çalışmada (212) 49 taşlı yüzük hücreli komponent içeren adenokarsinom vakasının genomik profiline bakıldığında %29 *KRAS*, %18 *EGFR*, %6 *BRAF* ve %2 *PIK3CA* mutasyonu gözlenmiş olup bu sonuçların araştırmamıza dahil olan taşlı yüzük hücreli karsinomlardaki bulgularımız ile benzerlik gösterdiği dikkat çekmiştir.

5.5.1.3. Adenokarsinomların alt tiplerindeki gen değişikliklerinin karşılaştırılması

Bugüne kadar yapılan birçok çalışmada ADK alt tiplerine göre gen sapmalarındaki sıklığın değişkenlik gösterdiği raporlanmıştır. Bizim araştırmamızda da bazı adenokarsinom alt tiplerinin bazı mutasyonlara yatkınlık oluşturduğu gözlenmiştir. Aşağıda bu yatkınlıkların literatürdeki diğer çalışmalarla olan benzerlik ve farklılıkları tartışılacaktır.

Çalışmamızda *EGFR* mutasyonları, en sık lepidik ve mikropapiller paternde görülmüş olup aradaki bu fark diğer paternlerle karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. Literatürde bu konuyla ilgili pek çok farklı sonuç mevcuttur. Birçok çalışmada *EGFR* mutasyonunun lepidik patern baskın ADK ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. (167, 213). Rektman ve ark'larının çalışmasında lepidik patern baskınlığından sonra papiller paternde de *EGFR* mutasyonu sık olarak izlenmiştir. Bizim çalışmamızda olduğu gibi en az sıklıkta görülen alt tipin ise solid patern olduğu bildirilmiştir (214). Çinli hastalarda yapılan bir çalışmada mikropapiller ve lepidik paternin araştırmamıza benzer olarak diğer paternlere göre daha baskın olduğu gözlenmiştir (215). Russel ve ark'ları *EGFR* mutasyonunu asiner ve mikropapiller paternde daha baskın olarak izlediklerini raporlamışlardır (216). Ayrıca bizim çalışmamızda olduğu gibi ADK'nin mikropapiller alt tipinde *EGFR* mutasyonu görülme sıklığının yüksek olduğunu bildiren başka çalışmalar da mevcuttur. (217, 218).

*EGFR* amplifikasyonları ile ADK alt tipleri arasındaki ilişki incelendiğinde, bir çalışmada *EGFR* amplifikasyonları, solid paternde diğer paternlere göre daha sık gözlenirken, bizim çalışmamızda mikropapiller patern solid paterne göre daha sık *EGFR* amplifikasyonu içermektedir (173).

*KRAS* mutasyonu, birçok çalışmada en sık solid paternde görülürken, bizim çalışmamızda kribriform ve asiner paternde baskındır. Asiner paternin mikropapiller paterne baskın olması bu alanda yapılmış

farklı çalışmalarla benzerdir (214, 216, 219). Ancak De Oliveira Duarte Achcar ve ark.'ları çalışmalarında, mikropapiller patternin, *KRAS* mutasyonlarını diğer paternlerden daha sık barındırdığı bildirilmiştir (218).

Literatürdeki çalışmaların bir kısmında çalışmamız ile benzer olarak *ERBB2* mutasyonu olan hastaların hemen hepsinde papiller patternin baskın olduğu ve lepidik patternin hiç saptanmadığı görülmüştür (199, 220). Arcila Maria ve ark.'larının çalışmasında ise HER2 mutasyonu sıklıkla papiller, mikropapiller, asiner ve solid alt tiplerin mikst olarak görüldüğü olgularda izlenirken, diğer çalışmalardan farklı olarak, lepidik patern baskın 4 olgunun 2'sinde HER2 mutasyonu izlenmiştir (54). Suzuki, M. ve ark.'larının çalışmasında da HER2 amplifikasyon ve mutasyonlarında papiller patern en sık görülen alt tip olup lepidik patternin baskın olduğu bazı olgularda da HER2 mutasyonu gözlenmiştir (221).

*BRAF* mutasyonu bizim çalışmamızda en sık mikropapiller ve lepidik paternlerde izlenirken literatürde de mikropapiller tipte baskın olduğu görülmüştür (100, 218).

5.5.2. Skuamöz hücreli karsinomlar ile gen değişiklikleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

SHK'lerde TCGA verilerine göre *PIK3CA* mutasyonları %16 oranında, bizim çalışmamızda ise %10,8 oranında görülmekte olup *PIK3CA*, SHK'lerde en sık mutasyon izlenen genidir. Yine TCGA verilerine göre

*EGFR* mutasyonu %9, *ERBB2* %4 ve *BRAF* mutasyonu %4 oranında izlenmiş olup bizim verilerimizden daha yüksek oranlarda görülmüştür.

SHK'lerde *FGFR1* amplifikasyon oranı literatürdeki çalışmaların bir kısmında %15-20 olarak görülürken, Weiss ve ark.'larının yaptığı çalışmada bu oran %9,7 saptanmıştır (64, 65). TCGA verilerinde *FGFR1* amplifikasyonu %7 ve *KRAS* mutasyonu %3 oranında görülürken (151), bizim çalışmamızda bu iki gene ilişkin gen değişiklikleri daha sık gözlenmiştir.

TCGA verilerinde SHK'lerde %3 oranında görülen *HRAS* mutasyonu ve %2 oranında görülen *STK11* mutasyonu çalışmamızdaki SHK'lerde izlenmemiştir (151).

*DDR2* mutasyonları genellikle SHK'lerde görülürken, çalışmamızda 23 SHK hastasının hiçbirinde *DDR2* mutasyonu gözlenmemiştir (61, 222). Başka çalışmada SHK'lerde *FGFR2* ve *FGFR3*'teki somatik mutasyon oranları yaklaşık %2,7 iken, bizim araştırmamızda yine 23 SHK olgusunda iki genin mutasyonları da saptanmamıştır (68).

5.5.3. Adenokarsinomlar ve skuamöz hücreli karsinomlardaki gen değişikliklerinin karşılaştırılması

Çalışmamızda ADK'lerde *EGFR* ve *KRAS* mutasyonlarına SHK'ye göre daha sık rastlanması literatürdeki birçok çalışmalar ile benzerlik göstermektedir (40, 151, 223). Başka çalışmalarda da ADK'lerde *EGFR*,

*STK11*, *BRAF*, *KRAS* ve *ERBB2* mutasyonlarının SHK'ye göre daha baskın olduğu görülmüştür (49, 108, 176, 186, 207).

Literatürdeki çalışmalar ile benzer olarak çalışmamızda da *PIK3CA* mutasyon sıklığı SHK'lerde, ADK ve diğer tanı tiplerine göre daha siktir (106, 187).

*KIT* mutasyonu, çalışmamızda SHK'lerde %1,5, ADK'lerde %0,6 oranında görülmüş olup SHK'lerde ADK'lerden daha sık görülmesi Ramos ve ark.'larının çalışması ile benzerdir (71).

Chandrani ve ark.'larının çalışmasında *FGFR3* mutasyonunun ADK'lerde %5,5, SHK'lerde ise %2,7 oranında görüldüğü bildirilmiştir. Araştırmamızda *FGFR3* mutasyonu ADK'lerde daha düşük oranda görülürken, SHK'lerde izlenmemiştir (69).

Bizim çalışmamızda *FGFR1* amplifikasyonu SHK'lerin %8,6'sında ADK'lerin ise %4,6'sında saptanmıştır. SHK'de ADK'den daha sık *FGFR1* amplifikasyonu görülmesi literatürdeki diğer çalışmalarla da paralellik göstermektedir (64, 65, 68, 224).

#### 5.5.4. Büyük hücreli nöroendokrin karsinomların moleküler profili

BHNEK, KHK ile moleküler profil olarak benzer ve farklı özellikler taşır. Genel olarak genomik profil KHK'ye benzerken, KHDAK (özellikle ADK) ile de benzer karakteristik değişiklikler barındırır. Rekhtman, N. ve ark.'larının yaptığı çalışmada KHDAK ile moleküler benzerlik gösteren BHNEK'lerde özellikle *STK11* ve *KRAS* gen değişikliklerinin sık görülmesi

mutasyonlar olduğu belirtilmiştir. Bizim araştırmamızda *KRAS* mutasyonu 8 BHNEK olgusunun 1'inde (%12,5) bulunmuştur. Çalışmamızda *BRAF*, *NRAS* ve *PIK3CA* mutasyonları bulunan BHNEK'lerin de KHDAK ile benzer moleküler profil gösteren BHNEK grubuna ait olduğu düşünülmüştür. KHK ya da SHK ile benzerlik gösteren BHNEK'lerde *FGFR1* amplifikasyonu ile daha sık karşılaştığı bildirilmiş olup (225) araştırmamızda da bir olguda *FGFR1* amplifikasyonu mevcuttur.

#### 5.5.5. Akciğerin sarkomatoid karsinomlarının moleküler profili

2015 yılında Fallet ve ark.'larının 114 sarkomatoid karsinom olgusuyla yaptıkları çalışmada *KRAS*'ta %27,2, *EGFR*'de %22,2, *STK11*'de %7,4 oranında gen değişikliği görülmüş olup daha az oranlarda da *NOTCH1*, *NRAS* ve *PIK3CA* gen sapmaları tespit edilmiştir. 2016 yılında Schrock ve ark.'ları 125 sarkomatoid karsinom olgusunda *KRAS*'ta %34,4, *MET*'te %13,6, *EGFR*'de %8,8 ve *ERBB2*'de %1,6 oranında gen değişiklikleri saptadığını raporlamıştır. *KRAS* bu iki çalışmada da bizde olduğu gibi en yaygın mutasyondur. *MET* mutasyonlarının sarkomatoid karsinomlarda KHDAK'lere göre daha sık saptanması bizim bulgularımızla örtüşmektedir. Ancak bizim çalışmamızdan farklı olarak *EGFR* mutasyonunun tüm KHDAK'lerde sarkomatoid karsinomlara göre daha sık görüldüğü aktarılmıştır. Sarkomatoid karsinomlu olgularda, *PIK3CA* mutasyonları diğer genler ile birlikteliği en sık gözlenen genidir. Bizim çalışmamızda da benzer olarak *PIK3CA* mutasyonu olan 2 olgunun 1'inde *KRAS* ve *KIT* mutasyonları ile birliktelik mevcuttur (226-228).

### 5.5.6. Büyük hücreli karsinomun moleküler profili

2013 yılında yapılan Hwang DK. ve ark'larının çalışmasında BHK'lerin solid ADK ile benzer moleküler değişiklikler gösterdiği belirtilmiştir. Bunun bir nedeni bu çalışmanın 2004 DSÖ sınıflama sistemine göre tanımlanması ve bu yüzden büyük hücreli karsinom grubunda olan bir grup olgunun aslında yeni sınıflamaya göre ADK tanı grubuna ait olmasıdır (22). Harms, A. ve ark'larının çalışmasında (229) ADK ve BHK tanıları, 2015 DSÖ sınıflamasında önerilen histomorfolojik ve immünohistokimyasal çalışmalara göre yapılmıştır. On dokuz BHK tanı hastanın 8'i immünohistokimyasal olarak ADK'yi destekler nitelikte olmamasına karşın moleküler olarak saptanan *KRAS*, *STK11* ve *SMARCA4* mutasyonları nedeniyle ADK tanı grubuna alınmıştır. Bu açıdan bakıldığında Hwang ve ark.'larının yaptığı çalışmada, BHK ile solid patern ADK'nin moleküler profil benzerliği aslında BHK olarak tanımlanan olguların bir kısmının ADK tanı olması ile açıklanabilir.

### 5.6. Mutasyon birliktelikleri

Liu, J. ve ark'larının çalışmasında birden fazla genetik mutasyon görülme oranı %15,6 olarak belirtilmiş olup en sık görülen mutasyon birlikteliklerinin %15,5 oranında görülen *EGRF-PIK3CA* ve %13,2 oranında görülen *EGFR-MET* olduğu raporlanmıştır. Çalışmamızda ise genel gen değişikliklerinin birliktelik oranı %11, en sık görülen mutasyon birlikteliği ise %15,2 oranı ile *KRAS-PIK3CA*'dır. *EGFR* gen değişiklikleri

grubunda *EGFR* amplifikasyonun da dahil edildiği durumda en sık gen birlikteliği %19,4 oranı ile *EGFR-KRAS*'tır. Sadece *EGFR* mutasyonlarına baktığımızda *EGFR-KRAS* birlikteliği 24 hastada izlenmiştir. Liu, J. ve ark'larının çalışmasındaki hasta popülasyonunun Doğu Asyalı olması ve hastalarda kadın cinsiyetin hakim olması nedeniyle *EGFR* mutasyonu %46,4 gibi yüksek bir oranda görülmüş olup bu yüzden mutasyona uğrayan genlerin, sıklıkla *EGFR* ile birliktelik gösterdiği düşünülmüştür (167).

Rachiglio ve ark.'larının çalışmasında *EGFR* mutant vakalardan bir kısmı sıklık sırasına göre *KRAS*, *PIK3CA*, *ERBB2*, *MET*, *BRAF* ve *NRAS* gen değişiklikleri ile birliktelik göstermektedir (230). Bu sıklık sıralaması bizim çalışmamız ile birebir benzerdir. Çalışmamızda da olduğu gibi *EGFR* ve *KRAS* gen değişikliği birliktelikleri gözlenmesine karşın bu iki gende olan varyasyonların genellikle birbirini dışlayıcı olduğu bildirilmektedir ( $p<0,001$ ) (208).

*KRAS* mutasyonu olan hastalara *STK11* mutasyonu eşlik etme oranı %17 iken, *KRAS* mutasyonu olmayan hastalara *STK11* mutasyonu görülme oranı %3,7'dir. Çalışmamız ile benzer olarak Gilbert, J. ve ark'larının çalışmasında da *KRAS* ve *STK11* mutasyon birliktelik oranı *KRAS* mutant olmayan hastalarda *STK11* mutasyonu görülme oranından daha fazladır (231). Bir başka çalışmada da *KRAS-STK11* mutasyonu sıklıkla birliktelik göstermektedir (92). Facchinetti, F. ve ark'larının çalışmasında da benzer şekilde *STK11* mutasyonu olan hastaların yarısından fazlasına *KRAS* mutasyonunun eşlik ettiği ve bu durumun daha agresif bir klinik seyire

neden olduğu belirtilmiştir (232). La Fleur ve ark'larının çalışmasında da bizim çalışmamızda olduğu gibi *STK11* mutasyonunun en sık *KRAS* mutasyonları ile birliktelik gösterdiği vurgulanmıştır. Ayrıca aynı çalışmada *EGFR* mutasyonları ile *STK* mutasyonlarının birlikte görülmeceği vurgulanırken, araştırmamızda *STK11* mutasyonu ile 1 adet *EGFR* mutasyonunun birliktelik gösterdiği saptanmıştır (108).

Çalışmamızda *PIK3CA* %60,6 oranında diğer gen değişiklikleri ile birliktelik gösterir. Benzer durum %77,3 oranı ile Scheffler ve ark'larının çalışmasında da izlenmiştir (106). Birçok çalışmaya benzer olarak bizim çalışmamızda da *PIK3CA* mutasyonunun sıklıkla birliktelik gösterdiği genler *EGFR* ve *KRAS*'tır. Boland, JM. Ve ark'larına göre bulgularımızla benzer olarak *PIK3CA* mutasyonları en sık *EGFR* ve *KRAS* gen değişiklikleri ile birliktelik gösterir (233). Jordan EJ ve ark'larının çalışmasında da *PIK3CA*'nın en sık *KRAS* ile birliktelik gösterdiği gözlenmiştir (208).

KHDAK'de araştırılan genetik değişikliklerin birçoğu literatür ile uyumlu oranlara sahiptir. Bazı genetik değişikliklerde görülme oranlarının farklı olması birçok faktöre bağlı olabilir. Örneğin, *EGFR* mutasyon sıklığı hem sigara öyküsü hem de cinsiyete göre değişmektedir (205). Bazı çalışmalar, dengesiz değişkenleri kontrol etmek için popülasyonlar arasındaki klinik değişkenler ya da lojistik regresyonu dengelerken diğer çalışmalar bunu dikkate almamıştır. Ayrıca bazı çalışmalarda farkı klinik ortamlarda toplanan ya da farklı bir genomik teknoloji ile profillenen

hastalardan akciğer tümörleri kullanılmıştır. Bütün bu sonuçlar, farklı klinik ortamlarda toplanan popülasyonların karşılaştırılması, istatistiksel modellerde ölçülmesi, kontrolü zor olan örnek kalitesi, örneklerin dahil edilme kriterleri, bölgesel sigara içme davranışı ve sağlık hizmetlerine erişilebilirlik gibi faktörlerden etkilenebilir.

Özetle, ileri evre KHDAK'de temel moleküler testlerin yapılması, hedefe yönelik tedavilerin uygulanabilmesi için gereklidir. YND yöntemi, diğer moleküler test yöntemlerine göre daha hızlı ve güvenilir veriler elde etmemizi sağlar. Hastaların uygun tedavileri için yönlendirici olan verilerimiz literatür ile büyük oranda benzerlik göstermekte olup klinik yaklaşım için de önemli yol göstericidir.

## 6. SONUÇLAR

1- Çalışmamızda KHDAK tanısı alan 1500 olgunun YND yöntemi ile moleküler profili araştırılmıştır.

2- En sık görülen gen değişikliği *KRAS* (%22,5) ve *EGFR* genlerinde (%20,8) izlenmiştir. *EGFR* ve *KRAS* mutasyonları ADK'lerde (%20,2 ve %26,7) SHK'lere göre (%11,2 ve %5,2) daha sık görülmüştür ( $p<0,001$ ).

3- *EGFR* amplifikasyonu, *ERBB2*, *BRAF*, *MET* gen değişikliği ve *NRAS* mutasyonu ADK'lerde SHK'ye göre daha sık görüldü. Ancak bu sıklık farkları istatistiksel olarak anlamlı değildi.

4- *FGFR1*, *PIK3CA*, *SMAD4* ve *KIT* gen değişikliklerinin SHK'lerde ADK'lere göre daha sık görüldü. Ancak sadece *PIK3CA* mutasyonlarının SHK'de ADK'den sık görülmesi istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,001$ ).

5- İnvaziv müsinöz karsinomlarda *KRAS* mutasyonu görülme oranı (%57,6), ADK ve SHK'lerde *KRAS* mutasyonu görülme oranlarından (%26,7, %5,2) daha yüksektir ( $p<0,001$ ).

6- KHDAK'lerinde kadınlarda (%59,6), erkeklerden (%52,7) daha sık gen değişikliği görüldü ( $p=0,021$ ).

7- *EGFR* gen değişikliğinin kadınlarda erkeklere, *FGFR1*, *MET* ve *KRAS* gen değişikliklerinin ise erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülmesi istatistiksel olarak anlamlıydı (sırasıyla,  $p<0,001$ ,  $p=0,014$ ,  $p=0,034$ ,  $p<0,001$ ).

8- *EGFR* amplifikasyonu, *ERBB2* ve *PIK3CA* gen değişikliği kadınlarda erkeklerden daha sık görüldü (sırasıyla  $p=0,336$ ,  $p=0,349$ ,  $p=0,953$ ).

9- *BRAF*, *NRAS* ve *STK11* gen değişiklikleri erkeklerde kadınlardan daha sık gözlemlendi (sırasıyla  $p=0,641$ ,  $p=0,467$ ,  $p=0,729$ ).

10- *EGFR* gen değişiklikleri, 50 yaş altı grupta %22,6 oranında görülürken, 50 yaş üstü grupta %20,6 oranında izlendi ( $p=0,54$ ).

11- *KRAS* ve *PIK3CA* gen değişikliği 50 yaşından büyük olanlarda daha sık görüldü (sırasıyla  $p=0,332$ ,  $p=0,560$ ).

12- *ERBB2* gen değişikliği görülme oranı genç hastalarda daha yüksekti ( $p=0,584$ ).

13- *BRAF* genç ve yaşlı hastalarda benzer oranlarda (%3,2) görüldü.

14- ADK'lerde *EGFR* amplifikasyonu mikropapiller paternde asiner ve solid paterne göre daha sık görülürken (sırasıyla  $p=0,014$ ,  $p=0,046$ ) lepidik paternde *EGFR* amplifikasyonu izlenmedi.

15- Genel *EGFR* gen değişikliği en fazla mikropapiller paternde izlendi ve mikropapiller paterinin solid paterne baskınlığı istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,042$ ).

16- *KRAS* mutasyonu en sık kribriform ve asiner paternde en az mikropapiller paternde izlendi. Asiner paterinin mikropapillere paterne göre daha sık *KRAS* mutasyonu içermesi anlamlıydı ( $p=0,043$ ).

17- *ERBB2* gen değişikliği en sık papiller paternde en az asiner paternde izlendi ve aradaki fark anlamlıydı ( $p=0,032$ ).

18- *EGFR* gen değişikliği ile *KRAS* mutasyonlarının tek başlarına görölmesi, *EGFR* ile *KRAS*'taki gen değişikliği birlikteliğinden daha sıktı ( $p<0,001$ ).

19- *PIK3CA* ile *KRAS* (%15,2) mutasyonlarının birlikteliği ikinci en sık görölen birlikteliktir.

20- En sık gen değişikliği birlikteliklerinde görölen genler *KRAS* ve *EGFR*'ydi.

21- *KRAS-STK11* mutasyon birlikteliği, *STK11* mutasyonunun tek başına görölmesinden daha sıktı ( $p=0,008$ ).

## 7. KAYNAKLAR

1. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*. 2015;65(2):87-108.
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136(5):E359-86.
3. Travis WD, Brambilla E, Burke A, Marx A, Nicholson AG. WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart: International Agency for Research on Cancer; 2015.
4. Langer CJ, Besse B, Gualberto A, Brambilla E, Soria JC. The evolving role of histology in the management of advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28(36):5311-20.
5. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature*. 2014;511(7511):543-50.
6. Couraud S, Zalcman G, Milleron B, Morin F, Souquet P-J. Lung cancer in never smokers—a review. *European journal of cancer*. 2012;48(9):1299-311.
7. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JHM, Beasley MB, et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. *J Thorac Oncol*. 2015;10(9):1243-60.
8. Mukhopadhyay S, Katzenstein AL. Subclassification of non-small cell lung carcinomas lacking morphologic differentiation on biopsy specimens: Utility of an immunohistochemical panel containing TTF-1, napsin A, p63, and CK5/6. *Am J Surg Pathol*. 2011;35(1):15-25.
9. Zheng M. Classification and Pathology of Lung Cancer. *Surg Oncol Clin N Am*. 2016;25(3):447-68.
10. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, Geisinger K, Yatabe Y, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society: international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma: executive summary. *Proc Am Thorac Soc*. 2011;8(5):381-5.
11. Yanagawa N, Shiono S, Abiko M, Ogata SY, Sato T, Tamura G. New IASLC/ATS/ERS classification and invasive tumor size are predictive of disease recurrence in stage I lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2013;8(5):612-8.
12. Hoshi R, Tsuzuku M, Horai T, Ishikawa Y, Satoh Y. Micropapillary clusters in early-stage lung adenocarcinomas: a distinct cytologic sign of significantly poor prognosis. *Cancer*. 2004;102(2):81-6.
13. Miyoshi T, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Shirakusa T, Tsuchiya E, 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(1):101-9.
14. Tsutsumida H, Nomoto M, Goto M, Kitajima S, Kubota I, Hirotsu Y, et al. A micropapillary pattern is predictive of a poor prognosis in lung adenocarcinoma, and reduced surfactant apoprotein A expression in the micropapillary pattern is an excellent indicator of a poor prognosis. *Mod Pathol*. 2007;20(6):638-47.

15. Kadota K, Yeh YC, Sima CS, Rusch VW, Moreira AL, Adusumilli PS, et al. The cribriform pattern identifies a subset of acinar predominant tumors with poor prognosis in patients with stage I lung adenocarcinoma: a conceptual proposal to classify cribriform predominant tumors as a distinct histologic subtype. *Mod Pathol*. 2014;27(5):690-700.
16. Warth A, Muley T, Kossakowski C, Stenzinger A, Schirmacher P, Dienemann H, et al. Prognostic impact and clinicopathological correlations of the cribriform pattern in pulmonary adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2015;10(4):638-44.
17. Guo M, Tomoshige K, Meister M, Muley T, Fukazawa T, Tsuchiya T, et al. Gene signature driving invasive mucinous adenocarcinoma of the lung. *EMBO Mol Med*. 2017;9(4):462-81.
18. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature*. 2011;474(7353):609-15.
19. Tsao MS, Fraser RS. Primary pulmonary adenocarcinoma with enteric differentiation. *Cancer*. 1991;68(8):1754-7.
20. Lewis DR, Check DP, Caporaso NE, Travis WD, Devesa SS. US lung cancer trends by histologic type. *Cancer*. 2014;120(18):2883-92.
21. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, Geisinger K, Yatabe Y, et al. Diagnosis of lung adenocarcinoma in resected specimens: implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137(5):685-705.
22. Hwang DH, Szeto DP, Perry AS, Bruce JL, Sholl LM. Pulmonary large cell carcinoma lacking squamous differentiation is clinicopathologically indistinguishable from solid-subtype adenocarcinoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138(5):626-35.
23. Maeda H, Matsumura A, Kawabata T, Suito T, Kawashima O, Watanabe T, et al. Adenosquamous carcinoma of the lung: surgical results as compared with squamous cell and adenocarcinoma cases. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2012;41(2):357-61.
24. Martin LW, Correa AM, Ordonez NG, Roth JA, Swisher SG, Vaporciyan AA, et al. Sarcomatoid carcinoma of the lung: a predictor of poor prognosis. *The Annals of thoracic surgery*. 2007;84(3):973-80.
25. Litzky LA. Pulmonary Neuroendocrine Tumors. *Surg Pathol Clin*. 2010;3(1):27-59.
26. Rekhtman N. Neuroendocrine tumors of the lung: an update. *Arch Pathol Lab Med*. 2010;134(11):1628-38.
27. Cheng L, Zhang DY, Eble JN. *Molecular genetic pathology*: Springer; 2008.
28. Vasef MA, Auerbach A. *Diagnostic Pathology: Molecular Oncology E-Book*: Elsevier Health Sciences; 2016.
29. Weinstein IB, Joe AK. Mechanisms of disease: oncogene addiction—a rationale for molecular targeting in cancer therapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2006;3(8):448.
30. Chial H. Proto-oncogenes to oncogenes to cancer. *Nature education*. 2008;1(1):33.

31. Chial H. Tumor suppressor (TS) genes and the two-hit hypothesis. *Nature Education*. 2008;1(1):177.
32. Kumarakulasinghe NB, van Zanwijk N, Soo RA. Molecular targeted therapy in the treatment of advanced stage non-small cell lung cancer (NSCLC). *Respirology*. 2015;20(3):370-8.
33. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Aparicio SA, Behjati S, Biankin AV, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature*. 2013;500(7463):415-21.
34. Paez JG, Janne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*. 2004;304(5676):1497-500.
35. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*. 2004;350(21):2129-39.
36. Pao W, Miller V, Zakowski M, Doherty J, Politi K, Sarkaria I, et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from "never smokers" and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(36):13306-11.
37. Yatabe Y. EGFR mutations and the terminal respiratory unit. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2010;29(1):23-36.
38. Mitsudomi T, Yatabe Y. Epidermal growth factor receptor in relation to tumor development: EGFR gene and cancer. *Febs j*. 2010;277(2):301-8.
39. Kosaka T, Yatabe Y, Endoh H, Kuwano H, Takahashi T, Mitsudomi T. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene in lung cancer: biological and clinical implications. *Cancer Res*. 2004;64(24):8919-23.
40. Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, Nomura M, Suzuki M, Wistuba, II, et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97(5):339-46.
41. Oberndorfer F, Mullauer L. Molecular pathology of lung cancer: current status and perspectives. *Curr Opin Oncol*. 2018;30(2):69-76.
42. Planchard D, Popat S, Kerr K, Novello S, Smit E, Faivre-Finn C, et al. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2018;29(Supplement\_4):iv192-iv237.
43. Burgess AW, Cho H-S, Eigenbrot C, Ferguson KM, Garrett TP, Leahy DJ, et al. An open-and-shut case? Recent insights into the activation of EGF/ErbB receptors. *Molecular cell*. 2003;12(3):541-52.
44. Tanaka T, Matsuoka M, Sutani A, Gemma A, Maemondo M, Inoue A, et al. Frequency of and variables associated with the EGFR mutation and its subtypes. *Int J Cancer*. 2010;126(3):651-5.
45. Pao W, Miller VA, Politi KA, Riely GJ, Somwar R, Zakowski MF, et al. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. *PLoS Med*. 2005;2(3):e73.

46. Sequist LV, Waltman BA, Dias-Santagata D, Digumarthy S, Turke AB, Fidias P, et al. Genotypic and histological evolution of lung cancers acquiring resistance to EGFR inhibitors. *Sci Transl Med*. 2011;3(75):75ra26.
47. Yu HA, Arcila ME, Rekhtman N, Sima CS, Zakowski MF, Pao W, et al. Analysis of tumor specimens at the time of acquired resistance to EGFR-TKI therapy in 155 patients with EGFR-mutant lung cancers. *Clin Cancer Res*. 2013;19(8):2240-7.
48. Yatabe Y, Takahashi T, Mitsudomi T. Epidermal growth factor receptor gene amplification is acquired in association with tumor progression of EGFR-mutated lung cancer. *Cancer Res*. 2008;68(7):2106-11.
49. Shigematsu H, Takahashi T, Nomura M, Majmudar K, Suzuki M, Lee H, et al. Somatic mutations of the HER2 kinase domain in lung adenocarcinomas. *Cancer Res*. 2005;65(5):1642-6.
50. Pallis AG, Syrigos KN. Lung cancer in never smokers: disease characteristics and risk factors. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2013;88(3):494-503.
51. Mar N, Vredenburgh JJ, Wasser JS. Targeting HER2 in the treatment of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2015;87(3):220-5.
52. Peters S, Zimmermann S. Targeted therapy in NSCLC driven by HER2 insertions. *Translational lung cancer research*. 2014;3(2):84.
53. Kuyama S, Hotta K, Tabata M, Segawa Y, Fujiwara Y, Takigawa N, et al. Impact of HER2 gene and protein status on the treatment outcome of cisplatin-based chemoradiotherapy for locally advanced non-small cell lung cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 2008;3(5):477-82.
54. Arcila ME, Chaft JE, Nafa K, Roy-Chowdhuri S, Lau C, Zaidinski M, et al. Prevalence, clinicopathologic associations, and molecular spectrum of ERBB2 (HER2) tyrosine kinase mutations in lung adenocarcinomas. *Clinical cancer research*. 2012;18(18):4910-8.
55. Mazieres J, Peters S, Lepage B, Cortot AB, Barlesi F, Beau-Faller M, et al. Lung cancer that harbors an HER2 mutation: epidemiologic characteristics and therapeutic perspectives. *Journal of clinical oncology*. 2013;31(16):1997-2003.
56. Britten CD. Targeting ErbB receptor signaling: a pan-ErbB approach to cancer. *Mol Cancer Ther*. 2004;3(10):1335-42.
57. Zhang N, Chang Y, Rios A, An Z. HER3/ErbB3, an emerging cancer therapeutic target. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2016;48(1):39-48.
58. Gonzales AJ, Hook KE, Althaus IW, Ellis PA, Trachet E, Delaney AM, et al. Antitumor activity and pharmacokinetic properties of PF-00299804, a second-generation irreversible pan-erbB receptor tyrosine kinase inhibitor. *Mol Cancer Ther*. 2008;7(7):1880-9.
59. Kurppa KJ, Denessiouk K, Johnson MS, Elenius K. Activating ERBB4 mutations in non-small cell lung cancer. *Oncogene*. 2016;35(10):1283-91.
60. Pellat A, Vaquero J, Fouassier L. Role of ErbB/HER family of receptor tyrosine kinases in cholangiocyte biology. *Hepatology*. 2018;67(2):762-73.
61. Zhu QG, Zhang SM, Ding XX, He B, Zhang HQ. Driver genes in non-small cell lung cancer: Characteristics, detection methods, and targeted therapies. *Oncotarget*. 2017;8(34):57680-92.

62. Terashima M, Togashi Y, Sato K, Mizuuchi H, Sakai K, Suda K, et al. Functional Analyses of Mutations in Receptor Tyrosine Kinase Genes in Non-Small Cell Lung Cancer: Double-Edged Sword of DDR2. *Clinical Cancer Research*. 2016;22(14):3663-71.
63. Touat M, Ileana E, Postel-Vinay S, Andre F, Soria JC. Targeting FGFR Signaling in Cancer. *Clin Cancer Res*. 2015;21(12):2684-94.
64. Dutt A, Ramos AH, Hammerman PS, Mermel C, Cho J, Sharifnia T, et al. Inhibitor-sensitive FGFR1 amplification in human non-small cell lung cancer. *PLoS one*. 2011;6(6):e20351.
65. Miao JL, Liu RJ, Zhou JH, Meng SH. Fibroblast Growth Factor Receptor 1 Gene Amplification in Nonsmall Cell Lung Cancer. *Chin Med J (Engl)*. 2016;129(23):2868-72.
66. Kim TM, Song A, Kim DW, Kim S, Ahn YO, Keam B, et al. Mechanisms of Acquired Resistance to AZD9291: A Mutation-Selective, Irreversible EGFR Inhibitor. *J Thorac Oncol*. 2015;10(12):1736-44.
67. Hilberg F, Tontsch-Grunt U, Baum A, Le AT, Doebele RC, Lieb S, et al. Triple Angiokinase Inhibitor Nintedanib Directly Inhibits Tumor Cell Growth and Induces Tumor Shrinkage via Blocking Oncogenic Receptor Tyrosine Kinases. *J Pharmacol Exp Ther*. 2018;364(3):494-503.
68. Hibi M, Kaneda H, Tanizaki J, Sakai K, Togashi Y, Terashima M, et al. FGFR gene alterations in lung squamous cell carcinoma are potential targets for the multikinase inhibitor nintedanib. *Cancer Sci*. 2016;107(11):1667-76.
69. Chandrani P, Prabhash K, Prasad R, Sethunath V, Ranjan M, Iyer P, et al. Drug-sensitive FGFR3 mutations in lung adenocarcinoma. *Ann Oncol*. 2017;28(3):597-603.
70. Corless CL, Barnett CM, Heinrich MC. Gastrointestinal stromal tumours: origin and molecular oncology. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(12):865-78.
71. Ramos AH, Dutt A, Mermel C, Perner S, Cho J, Lafargue CJ, et al. Amplification of chromosomal segment 4q12 in non-small cell lung cancer. *Cancer Biol Ther*. 2009;8(21):2042-50.
72. Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, Hashimoto K, Nishida T, Ishiguro S, et al. Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science*. 1998;279(5350):577-80.
73. Katayama R, Shaw AT, Khan TM, Mino-Kenudson M, Solomon BJ, Halmos B, et al. Mechanisms of acquired crizotinib resistance in ALK-rearranged lung Cancers. *Sci Transl Med*. 2012;4(120):120ra17.
74. Lim SH, Kim SY, Kim K, Jang H, Ahn S, Kim KM, et al. The implication of FLT3 amplification for FLT targeted therapeutics in solid tumors. *Oncotarget*. 2017;8(2):3237-45.
75. Ryu H, Choi HK, Kim HJ, Kim AY, Song JY, Hwang SG, et al. Antitumor Activity of a Novel Tyrosine Kinase Inhibitor AIU2001 Due to Abrogation of the DNA Damage Repair in Non-Small Cell Lung Cancer Cells. *Int J Mol Sci*. 2019;20(19).
76. Hofman P. ALK in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Pathobiology, Epidemiology, Detection from Tumor Tissue and Algorithm Diagnosis in a Daily Practice. *Cancers (Basel)*. 2017;9(8).

77. Gainor JF, Dardaei L, Yoda S, Friboulet L, Leshchiner I, Katayama R, et al. Molecular Mechanisms of Resistance to First- and Second-Generation ALK Inhibitors in ALK-Rearranged Lung Cancer. *Cancer Discov.* 2016;6(10):1118-33.
78. Go H, Kim DW, Kim D, Keam B, Kim TM, Lee SH, et al. Clinicopathologic analysis of ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer and proposal of a diagnostic algorithm. *J Thorac Oncol.* 2013;8(11):1445-50.
79. Facchinetti F, Loriot Y, Kuo MS, Mahjoubi L, Lacroix L, Planchard D, et al. Crizotinib-Resistant ROS1 Mutations Reveal a Predictive Kinase Inhibitor Sensitivity Model for ROS1- and ALK-Rearranged Lung Cancers. *Clin Cancer Res.* 2016;22(24):5983-91.
80. Frampton GM, Ali SM, Rosenzweig M, Chmielecki J, Lu X, Bauer TM, et al. Activation of MET via diverse exon 14 splicing alterations occurs in multiple tumor types and confers clinical sensitivity to MET inhibitors. *Cancer Discov.* 2015;5(8):850-9.
81. Peruzzi B, Bottaro DP. Targeting the c-Met signaling pathway in cancer. *Clin Cancer Res.* 2006;12(12):3657-60.
82. Bean J, Brennan C, Shih JY, Riely G, Viale A, Wang L, et al. MET amplification occurs with or without T790M mutations in EGFR mutant lung tumors with acquired resistance to gefitinib or erlotinib. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(52):20932-7.
83. Koeppen H, Yu W, Zha J, Pandita A, Penuel E, Rangell L, et al. Biomarker analyses from a placebo-controlled phase II study evaluating erlotinib +/- onartuzumab in advanced non-small cell lung cancer: MET expression levels are predictive of patient benefit. *Clin Cancer Res.* 2014;20(17):4488-98.
84. Yoshimura K, Inui N, Karayama M, Inoue Y, Enomoto N, Fujisawa T, et al. Successful crizotinib monotherapy in EGFR-mutant lung adenocarcinoma with acquired MET amplification after erlotinib therapy. *Respir Med Case Rep.* 2017;20:160-3.
85. Caparica R, Yen CT, Coudry R, Ou SI, Varella-Garcia M, Camidge DR, et al. Responses to Crizotinib Can Occur in High-Level MET-Amplified Non-Small Cell Lung Cancer Independent of MET Exon 14 Alterations. *J Thorac Oncol.* 2017;12(1):141-4.
86. Lothar SA, Harding GA, Musto G, Navaratnam S, Pitz MW. Antiestrogen use and survival of women with non-small cell lung cancer in Manitoba, Canada. *Horm Cancer.* 2013;4(5):270-6.
87. Hsu LH, Chu NM, Kao SH. Estrogen, Estrogen Receptor and Lung Cancer. *Int J Mol Sci.* 2017;18(8).
88. Bos JL. ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res.* 1989;49(17):4682-9.
89. Slebos RJ, Kibbelaar RE, Dalesio O, Kooistra A, Stam J, Meijer CJ, et al. K-ras oncogene activation as a prognostic marker in adenocarcinoma of the lung. *N Engl J Med.* 1990;323(9):561-5.
90. Scheffler M, Ihle MA, Hein R, Merkelbach-Bruse S, Scheel AH, Siemanowski J, et al. K-ras Mutation Subtypes in NSCLC and Associated Co-occurring Mutations in Other Oncogenic Pathways. *J Thorac Oncol.* 2019;14(4):606-16.

91. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csósz T, Fülöp A, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1–positive non–small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*. 2016;375(19):1823-33.
92. Arbour KC, Jordan E, Kim HR, Dienstag J, Helena AY, Sanchez-Vega F, et al. Effects of co-occurring genomic alterations on outcomes in patients with KRAS-Mutant non–small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research*. 2018;24(2):334-40.
93. Blumenschein Jr G, Smit E, Planchard D, Kim D-W, Cadranel J, De Pas T, et al. A randomized phase II study of the MEK1/MEK2 inhibitor trametinib (GSK1120212) compared with docetaxel in KRAS-mutant advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Annals of Oncology*. 2015;26(5):894-901.
94. Lopez-Chavez A, Thomas A, Rajan A, Raffeld M, Morrow B, Kelly R, et al. Molecular profiling and targeted therapy for advanced thoracic malignancies: a biomarker-derived, multiarm, multihistology phase II basket trial. *Journal of clinical oncology*. 2015;33(9):1000.
95. Pylayeva-Gupta Y, Grabocka E, Bar-Sagi D. RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. *Nature Reviews Cancer*. 2011;11(11):761.
96. Engelman JA, Chen L, Tan X, Crosby K, Guimaraes AR, Upadhyay R, et al. Effective use of PI3K and MEK inhibitors to treat mutant Kras G12D and PIK3CA H1047R murine lung cancers. *Nature medicine*. 2008;14(12):1351.
97. Sos ML, Fischer S, Ullrich R, Peifer M, Heuckmann JM, Koker M, et al. Identifying genotype-dependent efficacy of single and combined PI3K-and MAPK-pathway inhibition in cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009;106(43):18351-6.
98. Ohashi K, Sequist LV, Arcila ME, Lovly CM, Chen X, Rudin CM, et al. Characteristics of lung cancers harboring NRAS mutations. *Clin Cancer Res*. 2013;19(9):2584-91.
99. Kiessling MK, Curioni-Fontecedro A, Samaras P, Atrott K, Cosin-Roger J, Lang S, et al. Mutant HRAS as novel target for MEK and mTOR inhibitors. *Oncotarget*. 2015;6(39):42183-96.
100. Alvarez JGB, Otterson GA. Agents to treat BRAF-mutant lung cancer. *Drugs Context*. 2019;8:212566.
101. Dankner M, Rose AAN, Rajkumar S, Siegel PM, Watson IR. Classifying BRAF alterations in cancer: new rational therapeutic strategies for actionable mutations. *Oncogene*. 2018;37(24):3183-99.
102. Neuzillet C, Tijeras-Raballand A, de Mestier L, Cros J, Faivre S, Raymond E. MEK in cancer and cancer therapy. *Pharmacol Ther*. 2014;141(2):160-71.
103. Lian T, Li C, Wang H. Trametinib in the treatment of multiple malignancies harboring MEK1 mutations. *Cancer Treat Rev*. 2019;81:101907.
104. Hyman DM, Smyth LM, Donoghue MTA, Westin SN, Bedard PL, Dean EJ, et al. AKT Inhibition in Solid Tumors With AKT1 Mutations. *J Clin Oncol*. 2017;35(20):2251-9.
105. Malanga D, Belmonte S, Colelli F, Scarfo M, De Marco C, Oliveira DM, et al. AKT1E(1)(7)K Is Oncogenic in Mouse Lung and Cooperates with Chemical Carcinogens in Inducing Lung Cancer. *PLoS One*. 2016;11(2):e0147334.

106. Scheffler M, Bos M, Gardizi M, König K, Michels S, Fassunke J, et al. PIK3CA mutations in non-small cell lung cancer (NSCLC): genetic heterogeneity, prognostic impact and incidence of prior malignancies. *Oncotarget*. 2015;6(2):1315.
107. Song Z, Yu X, Zhang Y. Mutation and prognostic analyses of PIK3CA in patients with completely resected lung adenocarcinoma. *Cancer Med*. 2016;5(10):2694-700.
108. Pecuchet N, Laurent-Puig P, Mansuet-Lupo A, Legras A, Alifano M, Pallier K, et al. Different prognostic impact of STK11 mutations in non-squamous non-small-cell lung cancer. *Oncotarget*. 2017;8(14):23831-40.
109. Schabath MB, Welsh EA, Fulp WJ, Chen L, Teer JK, Thompson ZJ, et al. Differential association of STK11 and TP53 with KRAS mutation-associated gene expression, proliferation and immune surveillance in lung adenocarcinoma. *Oncogene*. 2016;35(24):3209-16.
110. Donnem T, Andersen S, Al-Shibli K, Al-Saad S, Busund LT, Bremnes RM. Prognostic impact of Notch ligands and receptors in nonsmall cell lung cancer: coexpression of Notch-1 and vascular endothelial growth factor-A predicts poor survival. *Cancer*. 2010;116(24):5676-85.
111. Lee SM, Jung CK, Ko YH, Choi JY, Lee KY, Kang CS. Expression of Notch 1 and 3 is related to inhibition of lymph node metastasis and progression in non-small cell lung carcinomas. *Basic and Applied Pathology*. 2008;1(2):93-7.
112. Huang J, Song H, Liu B, Yu B, Wang R, Chen L. Expression of Notch-1 and its clinical significance in different histological subtypes of human lung adenocarcinoma. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2013;32(1):84.
113. Ahmed S, Bradshaw AD, Gera S, Dewan MZ, Xu R. The TGF-beta/Smad4 Signaling Pathway in Pancreatic Carcinogenesis and Its Clinical Significance. *J Clin Med*. 2017;6(1).
114. Haeger SM, Thompson JJ, Kalra S, Cleaver TG, Merrick D, Wang XJ, et al. Smad4 loss promotes lung cancer formation but increases sensitivity to DNA topoisomerase inhibitors. *Oncogene*. 2016;35(5):577-86.
115. Zhao Y, Zheng R, Li J, Lin F, Liu L. Loss of phosphatase and tensin homolog expression correlates with clinicopathological features of non-small cell lung cancer patients and its impact on survival: A systematic review and meta-analysis. *Thorac Cancer*. 2017;8(3):203-13.
116. Xiao J, Hu CP, He BX, Chen X, Lu XX, Xie MX, et al. PTEN expression is a prognostic marker for patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of the literature. *Oncotarget*. 2016;7(36):57832-40.
117. Yeh CH, Bellon M, Nicot C. FBXW7: a critical tumor suppressor of human cancers. *Mol Cancer*. 2018;17(1):115.
118. Xiao Y, Yin C, Wang Y, Lv H, Wang W, Huang Y, et al. FBXW7 deletion contributes to lung tumor development and confers resistance to gefitinib therapy. *Mol Oncol*. 2018;12(6):883-95.
119. Yohe S, Thyagarajan B. Review of Clinical Next-Generation Sequencing. *Arch Pathol Lab Med*. 2017;141(11):1544-57.

120. Boycott K, Hartley T, Adam S, Bernier F, Chong K, Fernandez BA, et al. The clinical application of genome-wide sequencing for monogenic diseases in Canada: Position Statement of the Canadian College of Medical Geneticists. *J Med Genet.* 2015;52(7):431-7.
121. Buermans HP, den Dunnen JT. Next generation sequencing technology: Advances and applications. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1842(10):1932-41.
122. Reckamp KL, Melnikova VO, Karlovich C, Sequist LV, Camidge DR, Wakelee H, et al. A Highly Sensitive and Quantitative Test Platform for Detection of NSCLC EGFR Mutations in Urine and Plasma. *J Thorac Oncol.* 2016;11(10):1690-700.
123. Steuer CE, Ramalingam SS. Tumor Mutation Burden: Leading Immunotherapy to the Era of Precision Medicine? *J Clin Oncol.* 2018;36(7):631-2.
124. Alekseyev YO, Fazeli R, Yang S, Basran R, Maher T, Miller NS, et al. A Next-Generation Sequencing Primer-How Does It Work and What Can It Do? *Acad Pathol.* 2018;5:2374289518766521.
125. Yang Y, Muzny DM, Reid JG, Bainbridge MN, Willis A, Ward PA, et al. Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of mendelian disorders. *N Engl J Med.* 2013;369(16):1502-11.
126. Deans ZC, Costa JL, Cree I, Dequeker E, Edsjo A, Henderson S, et al. Integration of next-generation sequencing in clinical diagnostic molecular pathology laboratories for analysis of solid tumours; an expert opinion on behalf of IQN Path ASBL. *Virchows Arch.* 2017;470(1):5-20.
127. Weirick T, Militello G, Muller R, John D, Dimmeler S, Uchida S. The identification and characterization of novel transcripts from RNA-seq data. *Brief Bioinform.* 2016;17(4):678-85.
128. Hume S, Nelson TN, Speevak M, McCready E, Agatep R, Feilotter H, et al. CCMG practice guideline: laboratory guidelines for next-generation sequencing. *Journal of medical genetics.* 2019;56(12):792-800.
129. Thompson JC, Yee SS, Troxel AB, Savitch SL, Fan R, Balli D, et al. Detection of Therapeutically Targetable Driver and Resistance Mutations in Lung Cancer Patients by Next-Generation Sequencing of Cell-Free Circulating Tumor DNA. *Clin Cancer Res.* 2016;22(23):5772-82.
130. Cagle PT, Allen TC, Beasley MB, Chirieac LR, Dacic S, Borczuk AC, et al. *Precision Molecular Pathology of Lung Cancer: Springer; 2017.*
131. Ewing B, Green P. Base-calling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. *Genome Res.* 1998;8(3):186-94.
132. Ewing B, Hillier L, Wendl MC, Green P. Base-calling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment. *Genome Res.* 1998;8(3):175-85.
133. Sayitoglu M. Clinical Interpretation of Genomic Variations. *Turk J Haematol.* 2016;33(3):172-9.
134. Meric-Bernstam F, Johnson A, Holla V, Bailey AM, Brusco L, Chen K, et al. A decision support framework for genomically informed investigational cancer therapy. *J Natl Cancer Inst.* 2015;107(7).
135. Plon SE, Eccles DM, Easton D, Foulkes WD, Genuardi M, Greenblatt MS, et al. Sequence variant classification and reporting: recommendations for

- improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results. *Hum Mutat.* 2008;29(11):1282-91.
136. Li MM, Datto M, Duncavage EJ, Kulkarni S, Lindeman NI, Roy S, et al. Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. *J Mol Diagn.* 2017;19(1):4-23.
137. Kim L, Tsao MS. Tumour tissue sampling for lung cancer management in the era of personalised therapy: what is good enough for molecular testing? *Eur Respir J.* 2014;44(4):1011-22.
138. Molina JR, Yang P, Cassivi SD, Schild SE, Adjei AA. Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship. *Mayo Clin Proc.* 2008;83(5):584-94.
139. Beau-Faller M, Degeorges A, Rolland E, Mounawar M, Antoine M, Poulot V, et al. Cross-validation study for epidermal growth factor receptor and KRAS mutation detection in 74 blinded non-small cell lung carcinoma samples: a total of 5550 exons sequenced by 15 molecular French laboratories (evaluation of the EGFR mutation status for the administration of EGFR-TKIs in non-small cell lung carcinoma [ERMETIC] project--part 1). *J Thorac Oncol.* 2011;6(6):1006-15.
140. Crowley E, Di Nicolantonio F, Loupakis F, Bardelli A. Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood. *Nat Rev Clin Oncol.* 2013;10(8):472-84.
141. Vignot S, Frampton GM, Soria J-C, Yelensky R, Commo F, Brambilla C, et al. Next-generation sequencing reveals high concordance of recurrent somatic alterations between primary tumor and metastases from patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2013;31(17):2167-72.
142. Basik M, Aguilar-Mahecha A, Rousseau C, Diaz Z, Tejpar S, Spatz A, et al. Biopsies: next-generation biospecimens for tailoring therapy. *Nat Rev Clin Oncol.* 2013;10(8):437-50.
143. Aisner DL, Deshpande C, Baloch Z, Watt CD, Litzky LA, Malhotra B, et al. Evaluation of EGFR mutation status in cytology specimens: an institutional experience. *Diagn Cytopathol.* 2013;41(4):316-23.
144. Malapelle U, Bellevisine C, Zeppa P, Palombini L, Troncone G. Cytology-based gene mutation tests to predict response to anti-epidermal growth factor receptor therapy: a review. *Diagn Cytopathol.* 2011;39(9):703-10.
145. Rekhtman N, Brandt SM, Sigel CS, Friedlander MA, Riely GJ, Travis WD, et al. Suitability of thoracic cytology for new therapeutic paradigms in non-small cell lung carcinoma: high accuracy of tumor subtyping and feasibility of EGFR and KRAS molecular testing. *J Thorac Oncol.* 2011;6(3):451-8.
146. Killian JK, Walker RL, Suuriniemi M, Jones L, Scurci S, Singh P, et al. Archival fine-needle aspiration cytopathology (FNAC) samples: untapped resource for clinical molecular profiling. *J Mol Diagn.* 2010;12(6):739-45.
147. Sun PL, Jin Y, Kim H, Lee CT, Jheon S, Chung JH. High concordance of EGFR mutation status between histologic and corresponding cytologic specimens of lung adenocarcinomas. *Cancer Cytopathol.* 2013;121(6):311-9.
148. Bai H, Mao L, Wang HS, Zhao J, Yang L, An TT, et al. Epidermal growth factor receptor mutations in plasma DNA samples predict tumor response in

- Chinese patients with stages IIIB to IV non-small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2009;27(16):2653-9.
149. Williams C, Ponten F, Moberg C, Soderkvist P, Uhlen M, Ponten J, et al. A high frequency of sequence alterations is due to formalin fixation of archival specimens. *Am J Pathol*. 1999;155(5):1467-71.
150. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*. 2012;487(7407):330-7.
151. Comprehensive genomic characterization of squamous cell lung cancers. *Nature*. 2012;489(7417):519-25.
152. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, Chitale DA, Dacic S, Giaccone G, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2013;8(7):823-59.
153. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, Arcila ME, Beasley MB, Bernicker EH, et al. Updated Molecular Testing Guideline for the Selection of Lung Cancer Patients for Treatment With Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors: Guideline From the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Mol Diagn*. 2018;20(2):129-59.
154. Hicks DG, Boyce BF. The challenge and importance of standardizing pre-analytical variables in surgical pathology specimens for clinical care and translational research. *Biotech Histochem*. 2012;87(1):14-7.
155. Srinivasan M, Sedmak D, Jewell S. Effect of fixatives and tissue processing on the content and integrity of nucleic acids. *Am J Pathol*. 2002;161(6):1961-71.
156. Wong C, DiCioccio RA, Allen HJ, Werness BA, Piver MS. Mutations in BRCA1 from fixed, paraffin-embedded tissue can be artifacts of preservation. *Cancer Genet Cytogenet*. 1998;107(1):21-7.
157. Pirker R, Herth FJ, Kerr KM, Filipits M, Taron M, Gandara D, et al. Consensus for EGFR mutation testing in non-small cell lung cancer: results from a European workshop. *J Thorac Oncol*. 2010;5(10):1706-13.
158. Choi SE, Hong SW, Yoon SO. Proposal of an appropriate decalcification method of bone marrow biopsy specimens in the era of expanding genetic molecular study. *J Pathol Transl Med*. 2015;49(3):236-42.
159. Aisner DL, Marshall CB. Molecular pathology of non-small cell lung cancer: a practical guide. *American journal of clinical pathology*. 2012;138(3):332-46.
160. Gillespie JW, Best CJ, Bichsel VE, Cole KA, Greenhut SF, Hewitt SM, et al. Evaluation of non-formalin tissue fixation for molecular profiling studies. *Am J Pathol*. 2002;160(2):449-57.
161. Babic A, Loftin IR, Stanislaw S, Wang M, Miller R, Warren SM, et al. The impact of pre-analytical processing on staining quality for H&E, dual hapten, dual color in situ hybridization and fluorescent in situ hybridization assays. *Methods*. 2010;52(4):287-300.

162. Planchard D, Popat S, Kerr K, Novello S, Smit EF, Faivre-Finn C, et al. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2019;30(5):863-70.
163. Fernandes MGO, Jacob M, Martins N, Moura CS, Guimaraes S, Reis JP, et al. Targeted Gene Next-Generation Sequencing Panel in Patients with Advanced Lung Adenocarcinoma: Paving the Way for Clinical Implementation. *Cancers (Basel).* 2019;11(9).
164. Barlesi F, Mazieres J, Merlio JP, Debievre D, Mosser J, Lena H, et al. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). *Lancet.* 2016;387(10026):1415-26.
165. Chantharasamee J, Pongvarin N, Danchaivijitr P, Techawatanawanna S. Clinical outcome of treatment of metastatic non-small cell lung cancer in patients harboring uncommon EGFR mutation. *BMC cancer.* 2019;19(1):701.
166. Ruiz-Patino A, Castro CD, Ricaurte LM, Cardona AF, Rojas L, Zatarain-Barron ZL, et al. EGFR Amplification and Sensitizing Mutations Correlate with Survival in Lung Adenocarcinoma Patients Treated with Erlotinib (MutP-CLICaP). *Target Oncol.* 2018;13(5):621-9.
167. Liu J, Liu Y. Molecular diagnostic characteristics based on the next generation sequencing in lung cancer and its relationship with the expression of PD-L1. *Pathol Res Pract.* 2020;216(2):152797.
168. Wen S, Dai L, Wang L, Wang W, Wu D, Wang K, et al. Genomic Signature of Driver Genes Identified by Target Next-Generation Sequencing in Chinese Non-Small Cell Lung Cancer. *Oncologist.* 2019;24(11):e1070-e81.
169. Bircan S, Baloglu H, Kucukodaci Z, Bircan A. EGFR and KRAS mutations in Turkish non-small cell lung cancer patients: a pilot study. *Med Oncol.* 2014;31(8):87.
170. Brandao GD, Brega EF, Spatz A. The role of molecular pathology in non-small-cell lung carcinoma-now and in the future. *Curr Oncol.* 2012;19(Suppl 1):S24-32.
171. Takano T, Ohe Y, Sakamoto H, Tsuta K, Matsuno Y, Tateishi U, et al. Epidermal growth factor receptor gene mutations and increased copy numbers predict gefitinib sensitivity in patients with recurrent non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23(28):6829-37.
172. Li AR, Chitale D, Riely GJ, Pao W, Miller VA, Zakowski MF, et al. EGFR mutations in lung adenocarcinomas: clinical testing experience and relationship to EGFR gene copy number and immunohistochemical expression. *J Mol Diagn.* 2008;10(3):242-8.
173. Sholl LM, Yeap BY, Iafrate AJ, Holmes-Tisch AJ, Chou YP, Wu MT, et al. Lung adenocarcinoma with EGFR amplification has distinct clinicopathologic and molecular features in never-smokers. *Cancer Res.* 2009;69(21):8341-8.
174. Kato S, Okamura R, Mareboina M, Lee S, Goodman A, Patel SP, et al. Revisiting Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Amplification as a Target for Anti-EGFR Therapy: Analysis of Cell-Free Circulating Tumor DNA in Patients With Advanced Malignancies. *JCO Precis Oncol.* 2019;3.

175. Tomizawa K, Suda K, Onozato R, Kosaka T, Endoh H, Sekido Y, et al. Prognostic and predictive implications of HER2/ERBB2/neu gene mutations in lung cancers. *Lung Cancer*. 2011;74(1):139-44.
176. La Fleur L, Falk-Sorqvist E, Smeds P, Berglund A, Sundstrom M, Mattsson JS, et al. Mutation patterns in a population-based non-small cell lung cancer cohort and prognostic impact of concomitant mutations in KRAS and TP53 or STK11. *Lung Cancer*. 2019;130:50-8.
177. Fei X, Yang G, Xu H, Yang L, Qiu W, Wang Y. Treatment outcome and clinical characteristics of HER2 mutated advanced non-small cell lung cancer patients in China. *Thorac Cancer*. 2020.
178. Zhang Y, Sun Y, Pan Y, Li C, Shen L, Li Y, et al. Frequency of driver mutations in lung adenocarcinoma from female never-smokers varies with histologic subtypes and age at diagnosis. *Clin Cancer Res*. 2012;18(7):1947-53.
179. Dearden S, Stevens J, Wu YL, Blowers D. Mutation incidence and coincidence in non small-cell lung cancer: meta-analyses by ethnicity and histology (mutMap). *Ann Oncol*. 2013;24(9):2371-6.
180. Marchetti A, Felicioni L, Malatesta S, Grazia Sciarrotta M, Guetti L, Chella A, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer harboring BRAF mutations. *J Clin Oncol*. 2011;29(26):3574-9.
181. 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(15):2046-51.
182. Tsoulos N, Papadopoulou E, Metaxa-Mariatou V, Tsaousis G, Efstathiadou C, Tounta G, et al. Tumor molecular profiling of NSCLC patients using next generation sequencing. *Oncology reports*. 2017;38(6):3419-29.
183. Suh JH, Johnson A, Albacker L, Wang K, Chmielecki J, Frampton G, et al. Comprehensive Genomic Profiling Facilitates Implementation of the National Comprehensive Cancer Network Guidelines for Lung Cancer Biomarker Testing and Identifies Patients Who May Benefit From Enrollment in Mechanism-Driven Clinical Trials. *Oncologist*. 2016;21(6):684-91.
184. 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(19):1998-2006.
185. The Catalogue of Somatic Mutations in Cancer. [Internet]. Available from: <http://cancer.sanger.ac.uk/cancergenome/projects/cosmic/>.
186. AACR Project GENIE: Powering Precision Medicine through an International Consortium. *Cancer Discov*. 2017;7(8):818-31.
187. Zhao J, Han Y, Li J, Chai R, Bai C. Prognostic value of KRAS/TP53/PIK3CA in non-small cell lung cancer. *Oncol Lett*. 2019;17(3):3233-40.
188. Schabath MB, Welsh EA, Fulp WJ, Chen L, Teer JK, Thompson ZJ, et al. Differential association of STK11 and TP53 with KRAS mutation-associated gene expression, proliferation and immune surveillance in lung adenocarcinoma. *Oncogene*. 2016;35(24):3209-16.

189. Lai J, Wang W, Xu C, Zhang Q, Zhuang W, Huang Y, et al. JCSE01. 15 Molecular Characteristics of ALK Primary Point Mutations Non-Small-Cell Lung Cancer in Chinese Patients. *Journal of Thoracic Oncology*. 2018;13(10):S313.
190. Ignatius Ou SH, Azada M, Hsiang DJ, Herman JM, Kain TS, Siwak-Tapp C, et al. Next-generation sequencing reveals a Novel NSCLC ALK F1174V mutation and confirms ALK G1202R mutation confers high-level resistance to alectinib (CH5424802/RO5424802) in ALK-rearranged NSCLC patients who progressed on crizotinib. *J Thorac Oncol*. 2014;9(4):549-53.
191. Jaiswal BS, Kljavin NM, Stawiski EW, Chan E, Parikh C, Durinck S, et al. Oncogenic ERBB3 mutations in human cancers. *Cancer Cell*. 2013;23(5):603-17.
192. Busch EL, Hornick JL, Umeton R, Albayrak A, Lindeman NI, MacConaill LE, et al. Somatic mutations in CDH1 and CTNNB1 in primary carcinomas at 13 anatomic sites. *Oncotarget*. 2017;8(49):85680-91.
193. Gogl L, Scheffler M, Michaela I, Michels SYF, Fischer R, Serke MH, et al. Clinical and molecular characteristics of non-small cell lung cancer in patients harboring CTNNB1 mutations. *American Society of Clinical Oncology*; 2015.
194. Shiau CJ, Babwah JP, da Cunha Santos G, Sykes JR, Boerner SL, Geddie WR, et al. Sample features associated with success rates in population-based EGFR mutation testing. *J Thorac Oncol*. 2014;9(7):947-56.
195. Tuononen K, Maki-Nevala S, Sarhadi VK, Wirtanen A, Ronty M, Salmenkivi K, et al. Comparison of targeted next-generation sequencing (NGS) and real-time PCR in the detection of EGFR, KRAS, and BRAF mutations on formalin-fixed, paraffin-embedded tumor material of non-small cell lung carcinoma-superiority of NGS. *Genes Chromosomes Cancer*. 2013;52(5):503-11.
196. Dresler CM, Fratelli C, Babb J, Everley L, Evans AA, Clapper ML. Gender differences in genetic susceptibility for lung cancer. *Lung Cancer*. 2000;30(3):153-60.
197. Papadopoulou E, Tsoulos N, Tsantikidi K, Metaxa-Mariatou V, Stamou PE, Kladi-Skandali A, et al. Clinical feasibility of NGS liquid biopsy analysis in NSCLC patients. *PLoS One*. 2019;14(12):e0226853.
198. Colombino M, Paliogiannis P, Cossu A, Santeufemia DA, Sini MC, Casula M, et al. EGFR, KRAS, BRAF, ALK, and cMET genetic alterations in 1440 Sardinian patients with lung adenocarcinoma. *BMC Pulm Med*. 2019;19(1):209.
199. Li X, Zhao C, Su C, Ren S, Chen X, Zhou C. Epidemiological study of HER-2 mutations among EGFR wild-type lung adenocarcinoma patients in China. *BMC Cancer*. 2016;16(1):828.
200. Cihoric N, Savic S, Schneider S, Ackermann I, Bichsel-Naef M, Schmid R, et al. Prognostic role of FGFR1 amplification in early-stage non-small cell lung cancer. *British journal of cancer*. 2014;110(12):2914-22.
201. Russell PA, Yu Y, Young RJ, Conron M, Wainer Z, Alam N, et al. Prevalence, morphology, and natural history of FGFR1-amplified lung cancer, including squamous cell carcinoma, detected by FISH and SISH. *Modern Pathology*. 2014;27(12):1621-31.
202. Duan J, Yang X, Zhao J, Zhuo M, Wang Z, An T, et al. Correlation among genetic variations of c-MET in Chinese patients with non-small cell lung cancer. *Oncotarget*. 2018;9(2):2660-7.

203. Krishnaswamy S, Kanteti R, Duke-Cohan JS, Loganathan S, Liu W, Ma PC, et al. Ethnic differences and functional analysis of MET mutations in lung cancer. *Clinical Cancer Research*. 2009;15(18):5714-23.
204. Yang B, Li J, Li F, Zhou H, Shi W, Shi H, et al. Comprehensive analysis of age-related somatic mutation profiles in Chinese young lung adenocarcinoma patients. *Cancer Med*. 2019;8(4):1350-8.
205. Suidan AM, Roisman L, Belilovski Rozenblum A, Ilouze M, Dudnik E, Zer A, et al. Lung Cancer in Young Patients: Higher Rate of Driver Mutations and Brain Involvement, but Better Survival. *J Glob Oncol*. 2019;5:1-8.
206. Kuang X, Xiao J, Dai L-X, Zhang L-H, He B-X. Correlative analysis of gene mutation and clinical features in patients with non-small cell lung cancer. *Translational Cancer Research*. 2019;8(3):736-51.
207. Jing C, Mao X, Wang Z, Sun K, Ma R, Wu J, et al. Next-generation sequencing-based detection of EGFR, KRAS, BRAF, NRAS, PIK3CA, Her-2 and TP53 mutations in patients with non-small cell lung cancer. *Molecular medicine reports*. 2018;18(2):2191-7.
208. Jordan EJ, Kim HR, Arcila ME, Barron D, Chakravarty D, Gao J, et al. Prospective Comprehensive Molecular Characterization of Lung Adenocarcinomas for Efficient Patient Matching to Approved and Emerging Therapies. *Cancer Discov*. 2017;7(6):596-609.
209. Kadota K, Yeh Y-C, D'Angelo SP, Moreira AL, Kuk D, Sima CS, et al. Associations between mutations and histologic patterns of mucin in lung adenocarcinoma: invasive mucinous pattern and extracellular mucin are associated with KRAS mutation. *The American journal of surgical pathology*. 2014;38(8):1118.
210. Zenali MJ, Weissferdt A, Solis LM, Ali S, Tang X, Mehran RJ, et al. An update on clinicopathological, immunohistochemical, and molecular profiles of colloid carcinoma of the lung. *Human pathology*. 2015;46(6):836-42.
211. Righi L, Vatrano S, Di Nicolantonio F, Massa F, Rossi G, Cavazza A, et al. Retrospective multicenter study investigating the role of targeted next-generation sequencing of selected cancer genes in mucinous adenocarcinoma of the lung. *Journal of Thoracic Oncology*. 2016;11(4):504-15.
212. Boland JM, Wampfler JA, Jang JS, Wang X, Erickson-Johnson MR, Oliveira AM, et al. Pulmonary adenocarcinoma with signet ring cell features: a comprehensive study from 3 distinct patient cohorts. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(12):1681-8.
213. Villa C, Cagle PT, Johnson M, Patel JD, Yeldandi AV, Raj R, et al. Correlation of EGFR mutation status with predominant histologic subtype of adenocarcinoma according to the new lung adenocarcinoma classification of the International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138(10):1353-7.
214. Rekhtman N, Ang DC, Riely GJ, Ladanyi M, Moreira AL. KRAS mutations are associated with solid growth pattern and tumor-infiltrating leukocytes in lung adenocarcinoma. *Mod Pathol*. 2013;26(10):1307-19.

215. Song Z, Zhu H, Guo Z, Wu W, Sun W, Zhang Y. Correlation of EGFR mutation and predominant histologic subtype according to the new lung adenocarcinoma classification in Chinese patients. *Med Oncol.* 2013;30(3):645.
216. Russell PA, Barnett SA, Walkiewicz M, Wainer Z, Conron M, Wright GM, et al. Correlation of mutation status and survival with predominant histologic subtype according to the new IASLC/ATS/ERS lung adenocarcinoma classification in stage III (N2) patients. *J Thorac Oncol.* 2013;8(4):461-8.
217. Ninomiya H, Hiramatsu M, Inamura K, Nomura K, Okui M, Miyoshi T, et al. Correlation between morphology and EGFR mutations in lung adenocarcinomas: significance of the micropapillary pattern and the hobnail cell type. *Lung cancer.* 2009;63(2):235-40.
218. De Oliveira Duarte Achcar R, Nikiforova MN, Yousem SA. Micropapillary lung adenocarcinoma: EGFR, K-ras, and BRAF mutational profile. *Am J Clin Pathol.* 2009;131(5):694-700.
219. Raparia K, Villa C, Raj R, Cagle PT. Peripheral lung adenocarcinomas with KRAS mutations are more likely to invade visceral pleura. *Arch Pathol Lab Med.* 2015;139(2):189-93.
220. Sonobe M, Manabe T, Wada H, Tanaka F. Lung adenocarcinoma harboring mutations in the ERBB2 kinase domain. *J Mol Diagn.* 2006;8(3):351-6.
221. Suzuki M, Shiraishi K, Yoshida A, Shimada Y, Suzuki K, Asamura H, et al. HER2 gene mutations in non-small cell lung carcinomas: concurrence with Her2 gene amplification and Her2 protein expression and phosphorylation. *Lung Cancer.* 2015;87(1):14-22.
222. Gold KA, Wistuba, II, Kim ES. New strategies in squamous cell carcinoma of the lung: identification of tumor drivers to personalize therapy. *Clin Cancer Res.* 2012;18(11):3002-7.
223. Ahrendt SA, Decker PA, Alawi EA, Zhu Yr YR, Sanchez-Cespedes M, Yang SC, et al. Cigarette smoking is strongly associated with mutation of the K-ras gene in patients with primary adenocarcinoma of the lung. *Cancer.* 2001;92(6):1525-30.
224. Weiss J, Sos ML, Seidel D, Peifer M, Zander T, Heuckmann JM, et al. Frequent and focal FGFR1 amplification associates with therapeutically tractable FGFR1 dependency in squamous cell lung cancer. *Sci Transl Med.* 2010;2(62):62ra93.
225. Rekhtman N, Pietanza MC, Hellmann MD, Naidoo J, Arora A, Won H, et al. Next-Generation Sequencing of Pulmonary Large Cell Neuroendocrine Carcinoma Reveals Small Cell Carcinoma-like and Non-Small Cell Carcinoma-like Subsets. *Clin Cancer Res.* 2016;22(14):3618-29.
226. Fallet V, Saffroy R, Girard N, Mazieres J, Lantuejoul S, Vieira T, et al. High-throughput somatic mutation profiling in pulmonary sarcomatoid carcinomas using the LungCarta Panel: exploring therapeutic targets. *Ann Oncol.* 2015;26(8):1748-53.
227. Liu X, Jia Y, Stoopler MB, Shen Y, Cheng H, Chen J, et al. Next-Generation Sequencing of Pulmonary Sarcomatoid Carcinoma Reveals High Frequency of Actionable MET Gene Mutations. *J Clin Oncol.* 2016;34(8):794-802.

228. Schrock AB, Li SD, Frampton GM, Suh J, Braun E, Mehra R, et al. Pulmonary Sarcomatoid Carcinomas Commonly Harbor Either Potentially Targetable Genomic Alterations or High Tumor Mutational Burden as Observed by Comprehensive Genomic Profiling. *J Thorac Oncol.* 2017;12(6):932-42.
229. Harms A, Endris V, Winter H, Kriegsmann M, Stenzinger A, Schirmacher P, et al. Molecular dissection of large cell carcinomas of the lung with null immunophenotype. *Pathology.* 2018;50(5):530-5.
230. Rachiglio AM, Fenizia F, Piccirillo MC, Galetta D, Crino L, Vincenzi B, et al. The Presence of Concomitant Mutations Affects the Activity of EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors in EGFR-Mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Patients. *Cancers (Basel).* 2019;11(3).
231. Gibert J, Clave S, Hardy-Werbin M, Taus A, Rocha P, Longaron R, et al. Concomitant genomic alterations in KRAS mutant advanced lung adenocarcinoma. *Lung Cancer.* 2020;140:42-5.
232. Facchinetti F, Bluthgen MV, Tergemina-Clain G, Faivre L, Pignon JP, Planchard D, et al. LKB1/STK11 mutations in non-small cell lung cancer patients: Descriptive analysis and prognostic value. *Lung Cancer.* 2017;112:62-8.
233. Wang L, Hu H, Pan Y, Wang R, Li Y, Shen L, et al. PIK3CA mutations frequently coexist with EGFR/KRAS mutations in non-small cell lung cancer and suggest poor prognosis in EGFR/KRAS wildtype subgroup. *PLoS One.* 2014;9(2):e88291.

## 8. ÖZET

### KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCIĞER KARSİNOMLARINDA “YENİ KUŞAK DNA DİZİ BELİRLENİMİ (NEXT GENERATION SEQUENCING – NGS)” YÖNTEMİ İLE KANSER HÜCRELERİNDEKİ DNA DEĞİŞİKLİKLERİNİN SAPTANMASI, DÖKÜMLENMESİ VE KLİNİKOPATOLOJİK VERİLER İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Akciğer kanseri, tüm Dünya’da kansere bağlı mortalitenin önde gelen nedenidir. Akciğer kanserinde 5 yıllık sağ kalım hemen tüm akciğer kanseri evrelerinde %50’nin altındadır. Yeni nesil dizileme (YND) yöntemi, moleküler profile dayanarak hedeflendirilmiş tedavi sunulmasını sağlayabilir. Çalışmamızda, küçük hücreli dışı akciğer karsinomu (KHDAK) tanısı alan hastaların YND yöntemi ile tümörlerindeki gen değişikliklerini tanımlamak, bu değişikliklerin hastaların klinik özellikleri ile olan ilişkilerini tespit etmek ve kişiselleştirilmiş tedavileri için yol gösterici olmak amaçlanmıştır.

Çalışmamızda 2018-2019 yılları arasında başvuran 1500 KHDK tanılı hastalara ait 1364 tümör dokusu ve 136 plazma örneğinin gen değişiklikleri QIAGEN GeneReader YND sistemi kullanılarak analiz edildi.

KHDAK’lerde *KRAS* %22,5 oranı ile en sık mutasyon görülen geni. Sık görülen diğer gen değişiklikleri, *EGFR* (%16,1), *STK11* (%6,8), *PIK3CA* (%5,7), *BRAF* (%3,2), *SMAD4* (%2,5), *ERBB2* (%1,2), *NRAS* mutasyonu (%1) ve *EGFR* (%12,1), *FGFR1* (%5,6), *MET* (%6,1), *ERBB2* amplifikasyonudur (%3,9). *EGFR* gen değişikliği kadınlarda, *KRAS* mutasyonu erkeklerde daha sıklıkla ( $p<0,001$ ). *PIK3CA* mutasyonu, Skuamöz hücreli karsinomda (SHK), adenokarsinoma (ADK)

( $p=0,001$ ), *EGFR* ve *KRAS* mutasyonu ADK'lerde SHK'lere göre daha yüksek oranda saptandı ( $p<0,001$ ). *EGFR* amplifikasyonu ile *EGFR* mutasyonlarının ( $p<0,001$ ) ve *KRAS* ile *STK11* mutasyonlarının birlikte görülme oranları ( $p=0,008$ ) istatistiksel olarak anlamlıdır. İnvaziv münöz ADK'lerde *KRAS* mutasyonu diğer KHDAK'lere göre daha sıklıkla ( $p<0,001$ ).

Sonuç olarak, tümörlerin mutasyon profilininin doğru ve hızlı bir şekilde değerlendirilmesini, düşük düzeylerde bile ortaya çıkan gen değişikliklerinin tespit edilmesini ve akılcı tedavi kararları alınmasını sağlayan YND yöntemi ile çalışmamızda, KHDAK'lerin mutasyon profilinin ve klinik verilerle olan ilişkisinin literatürdeki diğer çalışmalar ile çoğunlukla benzer olduğu görüldü.

Anahtar kelimeler: YND, akciğer kanseri, KHDAK

## 9. SUMMARY

### DETECTION AND DOCUMENTATION OF GENETIC ALTERATIONS BY THE NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS) METHOD AND THEIR CORRELATION WITH CLINICOPATHOLOGIC PARAMETERS IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER (NSCLC)

Lung cancer is the leading cause of cancer-related mortality all over the world. Five year survival rates for lung cancer below %50 in almost all stages. NGS method can provide targeted treatment based on the molecular profile. The aim of our study was to identify the gene alternations in tumors of patients diagnosed with NSCLC, determine the relationship of these with the clinical features and guide clinicians for potential personalized treatment options.

In our study gene alternations of 1364 tumor tissue and 136 periferal blood samples from 1500 patients diagnosed with NSCLC between 2018-2019 years were analyzed using the QIAGEN GeneReader NGS system.

In NSCLC, *KRAS* was the most commonly mutated gene, occurring in 338 (%22,5) patient. Other common genetic changes were *EGFR* (%16,1), *STK11* (%6,8), *PIK3CA* (%5,7), *BRAF* (%3,2), *SMAD4* (%2,5), *ERBB2* (%1,2), *NRAS* mutations (%1) and *EGFR* (%12,1), *FGFR1* (%5,6), *MET* (%6,1), *ERBB2* amplifications (%3,9). *EGFR* mutations were more commonly in women, while *KRAS* mutations were in men ( $p<0,001$ ). We detected that the association of *EGFR* amplification and *EGFR* mutations ( $p<0,001$ ), *KRAS* and *STK11* mutations ( $p=0,008$ ) were statistically significant. *EGFR* and *KRAS* mutations were more

frequent in adenocarcinomas (ADC) than squamous cell carcinoma (SCC) ( $p < 0,001$ ) and vice versa was seen for *PIK3CA* mutations ( $p = 0,001$ ). *KRAS* mutations were more common in invasive mucinous ADC's than other NSCLC ( $p < 0,001$ ).

Finally, we detected that the genomic profile of NSCLC and its relationship with clinical data was nearly similar to other studies in the literature.

Keywords: NGS, lung cancer, NSCLC

## 10. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı:

Aysu Sadioğlu

Doğum Yeri ve Tarihi:

Van/ 20.06.1990

Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru):

2016-Halen, Araştırma görevlisi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi

Patoloji Anabilim Dalı

2008-2015, Lisans, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi

2004-2008, Lise, Van Milli Piyango Anadolu Lisesi

Yabancı Dili:

İngilizce, C2

ye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar:

Ankara Patoloji Derneği

The European Society of Pathology

Bilimsel Etkinlikleri (aldığı burslar, ödüller, projeleri, yayınları)

Yayın

- Melanositik Matrikoma: Olgu Sunumu, Aysu Sadioğlu, zlem Erdem, Kürşat Dikmen. Güncel Patoloji Dergisi 3 (1);45-48 (2019) doi: 10.5146/jcpath.2019.43.

## Burs

- 30. Avrupa Patoloji Kongresi, kongre katılım desteği, 2018, Bilbao, İspanya
- 29. Ulusal Patoloji Kongresi, kongre katılım desteği, 2019, Trabzon, Türkiye

## Sözlü sunum

- “Can Survivin, IMP3 and GLUT-1 be helpful in the differential diagnosis of peritoneal effusion cytology?”, 28. Ulusal Patoloji Konresi, 2018, Ankara, Türkiye

## Poster

- “Teratoid özellikler gösteren mikst epitelyal ve mezenkimal tip hepatoblastom: Nadir bir olgu sunumu”, 29. Ulusal Patoloji Konresi, 2019, Trabzon, Türkiye
- “Can Survivin, IMP3 and GLUT-1 be helpful in the differential diagnosis of peritoneal effusion cytology?”, 28. Ulusal Patoloji Konresi, 2018, Ankara, Türkiye
- “Urothelial carcinoma in radical nephroureterectomy: a clinicopathologic study of 53 cases”, 30. Avrupa Patoloji Kongresi, 2018, Bilbao, İspanya
- “Morfolojik olarak ayırıcı tanı güçlüğü yaratan dejenerasyon bulguları gösteren yumuşak dokunun şeffaf hücreli sarkomu”, 28. Ulusal Patoloji Konresi, 2018, Ankara, Türkiye
- “Pankreasın mikst asiner-nöroendokrin karsinomu: Bir olgu sunumu”, 27. Ulusal Patoloji Konresi, 2017, Antalya, Türkiye

- “Pankreasın literatürde bir örneği olan çok nadir bir tümörü: Rabdoid fenotip bulunduran adenoskuamöz karsinom”, 27.Ulusal Patoloji Konresi, 2017, Antalya, Türkiye

#### Katılım belgeleri

- 9. Patoloji Kış Okulu
- 8. Patoloji Kış Okulu
- 29. Ulusal Patoloji Kongresi
- 30th European Congress of Pathology
- 28. Ulusal Patoloji Kongresi
- 7. Patoloji Kış Okulu
- Temel Sitoloji Kursu, 2018
- Lenf Nodu Patolojisi Kursu 2018
- 29 th European Congress of Pathology
- Tıpta İletişim Becerileri Temel Eğitimi
- 6. Patoloji Kış Okulu
- 27. Ulusal Patoloji Kongresi
- Jinekolojik Sitoloji Kursu, 2017
- Olgularla Nefropatoloji Kursu, 2017