Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde ALK Geninin Yeniden Düzenlenmesinin FISH Yöntemi ile Belirlenmesi

Determination of ALK Gene Rearrangment with FISH Method in Non Small Cell Lung Carcinoma

Pelin Nimet Seymen, Esen Gümüşlü

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Kocaeli, Türkiye

Cite this article as: Seymen PN, Gümüşlü E. Determination of ALK Gene Rearrangment with FISH Method in Non Small Cell Lung Carcinoma. JAREM 2019; 9(2): 66-70.

ÖZ

Amaç: Akciğer kanseri, günümüzde mortalitesi ve insidansı en yüksek kanser türü olup neden olan genetik faktörler, karsinogenezin temelinde yatan onkogenler ve tümör süpresör genlerdir. Anaplastik lenfoma kinaz (ALK) geni, tirozin kinaz aktivitesine sahip bir transmembran proteinidir. Bu genin aynı gende yerleşik EML4 geni ile inversiyonu sonucunda, sürekli aktif halde bulunarak hücre proliferasyonuna neden olan EML4-ALK yeniden düzenlenmesi oluşmaktadır. Adenokarsinom alt tipinde daha sık görülen EML4-ALK füzyon genini saptamada kullanılan altın standart yöntem FISH'dir. Çalışmamızda adenokarsinom vakalarında EML4-ALK geninin yeniden düzenlenmesinin saptanmasının kliniğe etkisini belirlemeyi amaçladık.

Yöntem: 2014-2016 yılları arasında patolojik inceleme sonucu küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) tanısı almış 50 olguya (48 erkek, 2 kadın) FISH analizi yapıldı. Testin denatürasyon ve hibridizasyonu Euro-Lone Hychrome cihazı ile yapılırken, sonuçlar Olympus BX-51 mikroskobuyla analiz edildi.

Bulgular: Yaş ortalaması 61.3 olan 50 olgunun %80'inin teşhisi ileri evrede konulmuştur. Olguların %96'sı sigara içerken % 28'inin soygeçmişinde kanser öyküsü bulunmaktadır. 8 olguda (%16) EML4-ALK yeniden düzenlenmesi saptanmıştır. Olgular arasında EML4-ALK pozitiflik, 40 yıldır sigara içenlerde %50, 20-30 yıldır sigara içenlerde %12.5 ve hiç sigara içmeyenlerde %25 oranında görülmüştür. Pozitif olguların %75'inde metastaz gözlenirken, %50'sinin aile öyküsünde kanser vakası bulunmuştur.Pozitif sonuçları onaylanan olguların tedavilerinde ALK inhibitörleri kullanılmaya başlanmıştır.

Sonuç: Günümüzde altın teknik olan FISH yöntemi ile sonuçlanan ALK füzyon geni, akciğer adenokarsinomlarının tedavisinde büyük rol oynamaktadır.Bazı araştırmalarda ALK pozitifliğine genç erkek hastalarda daha sık rastlandığı bildirilirken, bazılarında cinsiyet ve yaş ile ALK pozitifliği arasında bir ilişki bulunmadığı gösterilmiştir. Araştırmamızda akciğer kanseri ile ALK pozitifliği arasında yaş, cinsiyet, evre ve sigara alışkanlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Anahtar kelimeler: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri, adenokarsinom, ALK , EML4-ALK, FISH

ABSTRACT

Objective: Lung cancer is the carcinoma with the highest mortality and incidence. Genetic factors that cause lung cancer are the oncogenes and tumor suppressor genes underlying carcinogenesis. ALK gene is a transmembrane protein with tyrosine kinase activity. Because of inversion of ALK gene with EML4 gene, the EML4-ALK complex occurs. The EML4-ALK complex is continuously active, resulting in continuous cell proliferation. FISH is known as the ''gold standard" method to detect the EML4-ALK fusion gene, which is mostly seen in adenocarcinoma. In our study, we aimed to underlie the outcomes of detection of EML4-ALK gene rearrangement in clinics.

Methods: We selected and analyzed 50 cases (48 men, 2 women) with the FISH method, which are diagnosed as NSCLC after pathologic evaluation in years 2014-2016. The denaturation and hybridization of the test were performed with the Euro-Lone Hychrome instrument, and the results were analyzed with the Olympus BX-51 microscope.

Results: The average age of 50 cases was 61.3 years, and 80% of these cases were diagnosed in the advanced stage. A total of 96% of cases were cigarette smokers, while 28% had familial cancer histories. The EML4-ALK rearrangement positive cases were detected in eight cases (16%). The positivity among the cases was seen in 50% of the smokers for 40 years, in 12.5% of the smokers for 20–30 years, and in 25% of the cases in non-smokers. A total of 75% of positive cases have metastasis, while 50% have positive familial history. The ALK inhibitor treatment began after the approval of positive results.

Conclusion: The ALK fusion gene, detected by the gold standard FISH method, plays an important role in the treatment of lung adenocarcinomas. Although some investigations suggest higher ALK positivity in young men, other studies show no relation between sex, age, and ALK positivity. Our study found no relationship between age, sex, cigarette smoking, stage, and ALK positivity.

Keywords: Non-small cell lung cancer, adenocarcinoma, ALK, EML4-ALK, FISH

ORCID ID of the author: ME.G. 0000-0002-8990-342X.

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Pelin Nimet Seymen,
E-posta / E-mail: plnnmtsym@htmail.com

Geliş Tarihi / Received Date: 08.06.2018 **Kabul Tarihi / Accepted Date:** 30.07.2018
© Telif Hakkı 2019 Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gaziosmanpaşa Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi. Makale metnine www.jarem.org web sayfasından ulaşılabilir.
© Copyright 2019 by University of Health Sciences Gaziosmanpaşa Taksim Training and Research Hospital. Available on-line at www.jarem.org
DOI: 10.5152/jarem.2019.2211

GİRİŞ

Günümüzde kanser, ölüm nedenleri arasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer almakta olup en çok tanı konulan kanser türlerinin başında %13 oranıyla akciğer kanseri gelmektedir. Akciğer kanseri daha çok erkeklerde görülürken, son 50 yılda kadınlarda, sigara kullanımının artmasına bağlı olarak, dramatik bir artış vardır (1). Akciğer kanserinin %80-85'ini küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) oluşturmaktadır. Bu alt tipte adenokarsinom,%35-40 oranıyla en sık rastlanan kanser tipidir. Anaplastik lenfoma kinaz (ALK), akciğer adenokarsinomlarında tümör odaklı tedavide çalışılan terapötik hedef moleküldür. Bir tirozin kinaz inhibitörü olan ALK, ilk olarak büyük hücreli lenfomada kimerik bir protein (nukleophosmin-anaplastik lenfoma kinaz/NPM-ALK) şeklinde görülmüştür. Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda ise Echinoderm microtubule-associated protein-like4-anaplastik lenfoma kinaz (EML4-ALK) füzyon geni saptanmıştır (2).

Anaplastik lenfoma kinaz (ALK) yeniden düzenlenmesi (EML4-ALK) akciğer adenokarsinomlarında %3-7 oranında görülmektedir. Normal koşullarda ALK geni hücre zarında yerleşiktir ve aktif hale gelebilmesi için bir liganda ihtiyacı vardır. EML4-ALK'nin akciğer-spesifik ekspresyonu ise herhangi bir liganda ihtiyaç duymadan aktive olmaktadır. Bu yeni oluşan proteinin kontrolsüz aktivasyonu sonucunda hücre proliferasyonu, yaşam süresi ve apoptozis üzerine hücre lehine sürekli bir impulsa neden olarak karsinogeneze katkıda bulunmaktadır (2, 3).ALK inhibitörleri ile geçekleştirilen tümör hedefli tedavilerde, progresyonsuz sağkalım ve kaliteli yaşam süreci elde edilmiştir. Bu terapötik hedefli mutasyonu saptamada kullanılan en önemli yöntem FISH (Floresan In Situ Hybridization)'dir (4, 5).Teorik olarak bu test ALK'yı içeren interkromozomal veya intrakoromozomal lezyonları saptamak için kullanılmaktadır (6). Sonucun ALK pozitif çıkması durumunda saptanan ALK rearanjmanı için uygun tirozin kinaz inhibitörleri ile (krizotinib) hedef tedaviye başlanmaktadır.

YÖNTEMLER

Gruplar

2014-2016 yılları arasında patolojiden "küçük hücreli dışı akciğer kanseri" tanısı almış, cinsiyet farkı gözetmeksizin 50 hasta çalışmaya alınmıştır. Hastalara ait parafin bloklara gömülü doku örneklerinden, tümör dokusu içeren 5 mikronluk kesitler kullanılmış ve FISH yöntemi kullanılarak incelemeye alınmıştır. Hastaların yaşları, cinsiyetleri, sigara alışkanlıkları, aile öyküleri, evreleri ve histopatolojik bulguları hasta dosyalarından temin edilmiştir. Bu çalışma için etik komite onayı 27.01.2017 tarihinde alınmıştır.

ALK yeniden düzenlenmesini (EML4-ALK) saptamak için uygun prob ve kitlerle FISH testi çalışılmış ve BX51 floresan mikroskobuyla (Olympus BX51) analiz edilmiştir. FISH tekniği, tek zincirli DNA parçası olan prob ile genomun herhangi bir yerinde lokalize olmuş, onun komplementeri hedef DNA veya RNA dizisinin hibridizasyonuyla gerçekleşmektedir. Araştırmada Cytocell FISH Protokolü uygulanmıştır.

Cytocell Protokolü ile FISH Yöntemi

Prehibridizasyon İşlemleri: Deparafinizasyon işlemi sonrası, çizilen slaytlar alkol (Merck), ve distile su şalelerinden geçirilir ve su banyosuna (Hybex ve GFL) bırakılır. Kuruduktan sonra etüvde (Thermo-Heraeus) nemli kaplarda enzimle muamele edilir ve alkol serilerinden geçirilir. Slaytlar kuruduktan sonra oda sıcaklığına getirilmiş prob, dokuya göre 5-10µl arası eklenir, dokunun büyüklüğüne göre de lamel kapatılır.

Denatürasyon ve Hibridizasyon: Slaytlar karanlık ortamda hibridizasyon cihazında (Hychrome)/etüvde denatüre edilir ve 16 saat hibridizasyona bırakılır.

Posthibridizasyon: Hibridizasyondan çıkan slaytların üzerinden lameller alınıp yıkama solüsyonu (SSC) ile yıkanıp kurutulur ve analiz için +4°C' de bekletilir.

Preparatların Mikroskopta İncelenmesi: Preparatlar Olympus BX-51 Floresan mikroskobunda uygun filtreler kullanılarak incelenmiştir. Sonuçların değerlendirmesinde proba uygun protokol göz önüne alınmıştır. Her olgu için en az 50 sinyal alan hücre sayılmıştır. Hücreler sinyal almış ve çalışma başarıyla sonuçlanmış ise üç şekilde raporlandırılmıştır:

- FISH Pozitif; %15 (50 hücrede en az 8) oranında pozitif sinyal görüldüğünde;
- Füzyon dışında kırmızı ve yeşil sinyalin ayrı ayrı görülmesi (aralarındaki mesafe en az 2 sinyal çapı kadar olmalı)
- Füzyon dışında sadece kırmızı sinyal görülmesi
- FISH Negatif; %15'ten az (50 hücrede 8'den az) negatif sinyal görüldüğünde;
- Sadece füzyon görülmesi
- Füzyon dışında sadece yeşil sinyalin de görülmesi
- FISH İnvalid; Çalışma sonucunda hücreler sinyal almamış ise yetersiz tümör hücresi içermesi veya uygun olmayan fiksasyon sebebi şeklinde sonuçlandırılır.

İstatistiksel Analiz

Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde Ki-kare uygunluk testi uygulanmıştır.

BULGULAR

Çalışmamızın temelini oluşturan FISH yönteminde, sinyal kalitesinin analiz başarı oranını arttırdığını gözlemledik. Sinyal kalitesini etkileyen etmenlerin başında doğru fiksasyon tekniği gelmektedir. Günümüzde hala altın teknik olan FISH yöntemi ile belirlenen ALK füzyon geni, akciğer adenokarsinomlarının tedavisinde büyük rol oynamaktadır. Akciğer kanserinde klasik kemoterapinin yerini hedefe yönelik tedaviler almaktadır. ALK kinaz inhibitörleri (krizotnib) ile yapılan tedavilerde kontrolsüz hücre proliferasyonu ve apoptozis inhibasyonu önlenerek, tümör popülasyonunda büyük oranda azalma gözlenmiştir. Bu tedavi boyunca progresyonsuz sağ kalım ve kaliteli yaşam süreci, ilgili sürücü mutasyonların hızlı ve doğru tekniklerle saptanmasının önemini ortaya koymaktadır.

Çalışmaya alınan 50 hastanın 2'si kadın (%4), 48'i erkek (%96)'dir. Olguların yaş aralılıkları 48-79 iken yaş ortalamaları 61.36'dır. Hastaların 2'si (%4) hiç sigara içmemiştir. Sigara alışkanlığı olan grubun 3'ünde (%6) 5-10 yıl, 8'inde (%16) 10-20 yıl, 10'unda (%20) 21-30 yıl, 21'sinde (%43) 31-40 yıl, 6'sında (%12) 40 yıldan fazla sigara içme alışkanlığı saptanmıştır.

Hastaların tamamında saptanan ortak semptomlar; öksürük, halsizlik ve göğüs ağrısıdır. 35 hastada (%70) kanser öncesi dönemde kalp ve göğüs rahatsızlığı bulunmaktadır. Hastaların 14'ünün

(%28) soygeçmişinde kanser öyküsü bulunmaktadır. Bu hastaların 1'i (%7,1) kadın, 13'ü (%92,9) erkektir. Olguların 40'ı (%80) son evrededir. Hastaların 10'unda metastaz saptanmazken, 15'inde (%30) beyinde, 12'sinde (%24) kemik dokusunda, 8'inde (%16) lenf bezlerinde, 3'ünde (%6) böbrekte, 1'inde (%2) karaciğerde ve 1'inde (%2) pankreasta metastaz vardır (Tablo 1).

FISH analizi ile değerlendirilen 50 olgunun 8'inde (%16) ALK rearanjmanı (EML4-ALK) saptanmıştır. Pozitif vakalarda 50 tümör hücresi sayılmış olup %15'den fazla füzyon ve kırmızı sinyal saptanmıştır. Pozitif hastaların 1'i kadın (%12,5),7'si erkektir (%87,5). İstatiksel analiz sonucunda ALK pozitifliği ile cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur; ancak hasta dağılımında cinsiyet eşitsizliği olduğundan istatistik sonuçların yanıltıcı olduğu düşünülmüştür.

Anaplastik lenfoma kinaz (ALK) pozitif olguların yaşları 48 ile 74 arasında seyrederken yaş ortalaması 58,8 olup olguların yaşları ve ALK pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Pozitif hastaların 2'si (%25) erken evre olup metastaz saptanmazken, 6'sı (%75) ileri evredir. Olguların 3'ünde (%37,5) böbrek metastazı, 2'sinde (%25) beyin metastazı ve 1'inde (%12,5) lenf metastazı saptanmıştır.

Tablo 1. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri olgularının klinik özellikleri

		Olgu sayısı	Yüzde
Yaş	< 61	21	%42
	> 61	29	%58
Cinsiyet	Erkek	48	%96
	Kadın	2	%4
Sigara	(-)	2	%4
	5-10 yıl	3	%6
	11-20 yıl	8	%16
	21-30 yıl	10	%20
	31-40 yıl	21	%42
	> 40 yıl	6	%12
Metastaz	(-)	10	%20
	Beyin	15	%30
	Kemik	12	%24
	Lenf	8	%16
	Böbrek	3	%6
	Karaciğer	1	%2
	Pankreas	1	%2
Soygeçmiş	Ailesinde kanser öyküsü olan	14	%28
	Ailesinde kanser öyküsü olmayan	36	%72
ALK yeniden düzenlenmesi	Pozitif Negatif	8 42	%16 % 84

Pozitif olguların 2'si (%25) hiç sigara içmezken 1'i (%12,5) 20 yıl, 1'i (%12,5) 30 yıl, 4'ü (%50) 40 yıldan uzun süre sigara içmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre ALK pozitifliği ve sigara alışkanlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

ALK yeniden düzenlenmesi pozitif olan 8 hastanın 4'ünün (%50) aile öyküsünde kanser bulgusu saptanmış olup ALK pozitifliği ve aile öyküsü arasında bir ilişki belirlenmemiştir (Tablo 2, 3).

TARTIŞMA

Akciğer kanseri, dünyada 8,8 milyon ölüm sayısı ile kanser nedenli ölümlerin başında gelmektedir. Kontrolsüz hücre proliferasyonuyla karakterize olan kanserlerin %13'ünü, 1,8 milyon yeni vaka ile akciğer kanseri oluşturmaktadır. Multifaktöriyel bir hastalık olan akciğer kanseri, genetik yatkınlık ve çevresel faktörlere maruziyetle ilişkili olmasına ragmen, karsinojenlere karşı hassasiyet bireysel farklılık gösterebilmektedir.

Temelde iki alt gruba ayrılan akciğer kanserinin %15-20'sini Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (KHAK) ve %80-85'ini KHDAK oluşturmaktadır. Kendi içinde de tedaviye yönelik alt gruplara ayrılan KHDAK'inde en sık rastlanan alt tip adenokarsinomdur. Diğer alt tiplere göre sigara ile ilişkisi daha az olan adenokarsinom, daha çok genç yaş grubunda, kadınlarda, sigara içmeyen ve sigarayı bırakan kişilerde görülmektedir (7).

Akciğer adenokarisnomlarında en sık rastlanan onkojenik mutasyonlardan biri de ALK'dır. ALK, 2. Kromozomda yer alan hücre büyümesi ve bölünmesinde rol alan önemli bir tirozin kinaz reseptörüdür. ALK ile aynı gende yerleşik EML4 arasında meydana gelen inversiyon sonucunda yeni bir füzyon geni oluşmaktadır. EML4-ALK olarak adlandırılan bu anormal ALK füzyon geni, KHDAK adenokarsinom alt tipinde %3-7 oranında görülen bir onkoproteindir. ALK-pozitif tümörler hedef tedaviye son derece duyarlı olduğundan KHDAK'inde bu füzyon geninin taranması oldukça önemlidir. ALK yeniden düzenlenmelerini saptamada kullanılan üç yöntem bulunmaktadır; RT-PCR, IHK ve FISH. Günümüzde klinik tedaviyi planlamada ALK pozitifliğini saptayan altın yöntem FISH tekniğidir (5,8). Bu nedenle biz de çalışmamızda 50 olguda ALK füzyon genini saptamak için FISH yöntemini kullanmayı uygun bulduk.

Li ve ark. (9) ALK yeniden düzenlenmesi olan 44 olguda, akciğer adenokarsinomlarında klinik patolojiyi saptamak amacıyla yaptıkları çalışmada RT-PCR, IHK ve FISH tekniği uygulamış ve FISH yönteminin en anlamlı standart test olduğunu bildirmişlerdir. ALK yeniden düzenlenmesi saptanan tümörleri solid ve asiner patern ile karakterize etmişlerdir. ALK pozitifliğinin genç yaşlarda saptandığını belirtirken, sigara, cinsiyet, tümör boyutu, tümör evresi arasında anlamlı bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir. Biz de çalışmamızda ALK pozitifliği ile bildirilen parametrelerle arasında anlamlı bir ilişki olmadığını saptadık.

Nishino ve ark. (10) çalışmalarında ALK pozitifliği ile sitolojik ve histolojik özellikler arasındaki ilişkiyi kıyaslamışlardır. 319 akciğer adenokarsinom olgusunda cinsiyet, yaş, sigara ve evre verilerini dikkate almışlardır. Yapılan FISH testi sonucunda, 104 olgu ALK pozitif (+), 215 olgu ALK negatif (-) çıkmıştır. Olguların çoğunda diğer tümör tipleri de saptanmıştır. Metastatik tümörler arasında ALK yeniden düzenlenmeleri ile ring hücre yapısını, solid ve mikropapiller paternini ilişkili bulmuşlardır. ALK pozitif olguların daha

Tablo 2. KHDAK olguların yaş, evre, tedavi bilgilerine göre dağılımı

			Evre		
	Olgu sayısı	Yaş	Erken	Geç	Tedavi
Pozitif erkek	7	50-74	2	5	Kemoterapi Radyoterapi TKI ile tedavi
Negatif erkek	41	51-79	8	33	Kemoterapi
Pozitif kadın	1	48	-	+	Kemoterapi Radyoterapi TKI ile tedavi
Negatif kadın	1	56	-	+	Kemoterapi

Tablo 3. ALK pozitif olguların klinik özellikleri

	Cinsiyet	Yaş	Sigara	Metastaz	Aile öyküsü	Önceden geçirilmiş hastalık
1	Erkek	56	20 yıl	Lenf	Baba akciğer ca	Dispne
2	Erkek	65	40 yıl	Beyin	2 kardeş meme ca	-
3	Erkek	50	40 yıl	Böbrek	-	-
4	Erkek	74	40 yıl	-	Baba akciğer ca	Kalp yetmezliği
5	Erkek	55	30 yıl	Beyin	-	-
6	Erkek	63	-	Böbrek	-	-
7	Erkek	60	40 yıl	-	-	Fe eksikliği
8	Kadın	48	-	Böbrek	Baba akciğer ca	-

genç yaşlarda olduğunu saptarlarken, cinsiyet, sigara ve tümör evresi açısından bir ilişki kuramamışlardır. Ancak yaptığımız çalışmada hasta dağılımında cinsiyet eşitsizliği olduğundan istatistik sonuçların yanıltıcı olduğunu düşünmekteyiz.

Incharoen ve ark. (11) adenokarsinom tanısı almış hastalara IHK, RT-PCR ve FISH testlerini uygulayarak hastaları yaş, cinsiyet, sigara öyküsü ve bulundukları evre açısından değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda, FISH yönteminin ALK rearanjmanlarını saptamada standart yöntem olduğu, bunun yanısıra maliyetinin yüksek, özel bir teknik ve yorum gerektirdiğini bildirmişlerdir. ALK pozitifliğinin sigara içmeyen genç kadın hastalarda daha belirgin olduğunu saptarlarken, hastalık evresi ile pozitiflik arasında anlamlı bir ilişki olmadığını belirtmişlerdir.

2116 akciğer adenokarsinom hasta numunesine FISH tekniğini uygulanan bir diğer çalışmada (12), hastların 72'sinde (%4) ALK pozitif bulunmuştur. Çalışmalarında ALK pozitifliği ile yaş, cinsiyet, sigara ve tümör evresi açısından bir ilişki bulunmamıştır. ALK gen düzenlenmesini saptamada FISH yönteminin günümüzde standartlara uygun altın yöntem olduğu ancak FISH ile paralel olarak eş zamanlı IHK ve NGS yöntemlerinin kullanılması gerektiğini bildirmişlerdir. KHDAK tanısı almış ve ALK yeniden düzenlenmesi saptanmış hastalarda yapılan bir başka çalışmada ALK pozitifliğinin hiç sigara içmeyen genç erkeklerde de görülmesi sonucu, ALK pozitifliği ile yaş, cinsiyet, sigara ve evrenin anlamlı bir ilişkide olmadığını savunmuşlardır (13).

Inamura ve ark. (14) yaptıkları çalışmada RT-PCR yöntemiyle EML4-ALK füzyonunu araştırmışlardır. Çalışılan 149 adenokarsinom olgusunun 5'inde (%3,4) füzyon proteini (EML4-ALK) saptanmıştır. Pozitif olguların 2'si (%2,3) mikst adenokarisnoma iken, 3'ü (%17) asiner adenokarsinoma alt tipindedir.Çalışmanın sonucunda, RT-PCR ile pozitifliği saptanan ALK rearanjmanlarının immünohistokimyasal olarak kullanılan ALK1 antikoru ile de teyit edilmesi üzerine, klinik uygulamaları işaret ederek füzyon proteininin İHK yolu ile tespit edilebileceğini ortaya koymuşlardır. Bunun yanısıra ALK pozitifliğinin genç yaş ve asiner alt tip paterni ile anlamlı ilişki içinde olduğunu bildirmişlerdir. Inamura ve ark. (15)'nın yaptığı başka bir çalışmada EML4-ALK füzyonunun saptanması için RT-PCR ve FISH yöntemini kullanmışlar ve 363 akciğer kanseri hastanın 11'inde EML4-ALK füzyon geni saptamışlardır. Pozitif olguların 5'i (%45) papiller adenokarsinoma alt tipinde, 6'sı (%55) asiner adenokarsnoma alt tipindedir. Yaş ortalaması 50 olan olguların 5'i (%45) erkek, 6'sı (%55) kadındır. Hastaların 5'i (%45) sigara kullanırken, 6'sı (%55) hiç sigara içmemiştir. 10 (%80) hastanın tümör boyutu 30 mm'den küçükken, 1 (% 20) hastanın tümör boyutu 30 mm'den büyüktür. ALK rearanjmanı gözlenen olgulardan 6'sı (%55) I. evrede, 5'i (%45) II-IV. evrede teşhis edilmiştir. Bu çalışma sonucunda, asiner paterninin EML4-ALK yapısıyla karakteristik bir ilişkisi olduğunu ve daha çok geç yaşta görüldüğünü belirtmişlerdir.

Bütün bu çalışmalar değerlendirildiğinde, araştırmacıların bir kısmı ALK rearanjmanının daha çok genç yaşta ve asiner tipte görüldüğünü ileri sürerken, diğerleri ALK gen düzenlenmesi ile yaş, cinsiyet, evre sigara öyküsü arasında bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamız sonucunda, akciğer kanseri ile ALK pozitifliği arasında yaş, cinsiyet, aile öyküsü, evre ve sigara öyküsü açısından anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Bu sonuç yapılan çalışmaların bir kısmını desteklemektedir. Ancak hasta sayısının ve bakılan parametrelerin arttırılması ile daha anlamlı sonuçların elde edileceği düşünülmektedir.

SONUÇ

Moleküler hedefleri saptamak ve bunlara yönelik ilaçları geliştirmek tümöre özel tedavinin temelini oluşturmaktadır. Akciğer

kanserinin %85'ini KHDAK oluşturmaktadır. KHDAK'inin en sık görülen alt tipi olan adenokarsinomlarda incelenen moleküler ajanların başında EML4-ALK füzyon geni bulunmaktadır. Çalışmamızda adenokarsinom vakalarında EML4-ALK geninin yeniden düzenlenmesinin saptanmasının kliniğe etkisini belirlemeyi amaçladık.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi "Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar" Etik Kurulu'ndan alınmıştır (KÜ GOKAEK 2017/1,27).

Hasta Onamı: Çalışmanın retrospektif tasarımından dolayı hasta onamı alınamamıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - E.G.; Tasarım - E.G.; Denetleme - E.G.; Kaynaklar - E.G., P.N.S.; Malzemeler - P.N.S., E.G.; Veri toplanması ve/veya işlemesi - P.N.S.; Analiz ve /veya yorum - E.G., P.N.S.; Literatür Taraması - P.N.S.; Yazıyı Yazan - P.N.S.; Eleştirel İnceleme - E.G.

Çıkar Çatışması: Yazarın beyan edecek çıkar çatışması yoktur.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmiştir.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received for this study from the ethics committee of Kocaeli University 'Non-Invasive Clinical Studies Committee' (KU NICSC 2017/1.27).

Informed Consent: Informed consent was not taken from patients due to the retrospective nature of the study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - E.G.; Design - E.G.; Supervision - E.G.; Resources - E.G., P.N.S.; Materials - P.N.S., E.G.; Data Collection and/or Processing - P.N.S.; Analysis and/or Interpretation -E.G., P.N.S.; Literature Search - P.N.S.; Writing Manuscript - P.N.S.; Critical Review - E.G.

Conflict of Interest: The authors have no conflict of interest to declare.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

KAYNAKLAR

1. Donington JS, Colson YL. Sex and gender differences in non-small cell lung cancer. Semin Thorac Cardiovasc Surg 2011; 23: 137-45.
2. Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small- cell lung cancer. Nature 2007; 448: 561-6.
3. Soda M, Takada S, Takeuchi K, Choi YL, Enomoto M, Ueno T, et al. A Mouse model for EML4-ALK positive lung cancer. Proc Natl Acad Sci USA 2008; 105: 19893-7.
4. Shackelford RE, Vora M, Mayhall K, Cotelingam J. ALK-rearrangements and testing methods in non-small cell lung cancer: a review. Genes Cancer 2014; 5: 1-14.
5. Mino-Kenudson M, Mark EJ. Reflux testing for EGFR mutation and ALK FISH in NSCLC. Arch Pathol Lab Med 2011; 135: 655-64.
6. Sasaki T, Rodig SJ, Chirieac LR, Jänne PA. The biology and treatment of EML-ALK non-small cell lung cancer. Eur J Cancer 2010; 46: 1773-80.
7. Akkoçlu A, Savaş G. Akciğer Kanseri tanı ve Tedavi Rehberi, cilt 7, ek 2, Ankara: Miki matbaacılık, 2006.
8. Mino-Kenudson M, Chirieac LR, Law K, Hornick JL, Lindeman N, Mark EJ, et al. A novel highly sensitive antibody allows for the routine detection of ALK-rearranged lung adenocarcinomas by standard immunohistochemistry. Clin Cancer Res 2010; 16: 1561-71.
9. Li Y, Pan Y, Wang R, Sun Y, Hu H, Shen X, et al. ALK-rearranged lung cancer in Chinese: a comprehensive assessment of clinicopathology, IHC, FISH and RT-PCR. PLoS One 2013; 8: e69016.
10. Nishino M, Klepeis VE, Yeap BY, Bergethon K, Morales-Oyarvide V, Dias-Santagata D, et al. Histologic and cytomorphologic features of ALK-rearranged lung adenocarcinomas. Mod Pathol 2012; 25: 1462-72.
11. Incharoen P, Reungwetwattana T, Saowapa S, Kamprerasart K, Pangpunyakulchai D, Arsa L, et al. ALK-rearranged pulmonary adenocarcinoma in Thai patients: From diagnosis to treatment efficacy. World J Surg Oncol 2016; 14: 1439.
12. Dacic S, Villaruz C L, Abberbock S, Mahaffey A, Incharoen P, Nikiforova MN. ALK FISH patterns and the detection of ALK fusions by next generation sequencing in lung adenocarcinoma. Oncotarget 2016; 7: 82943-52.
13. Paik JH, Choe G, Kim H, Choe JY, Lee HJ, Lee CT, et al. Screening of Anaplastic Lymphoma Kinase Rearrangement by Immunohistochemistry in Non-small Cell Lung Cancer Correlation with Fluorescence In Situ Hybridization. J Thorac Oncol 2011; 6: 466-72.
14. Inamura K, Takeuchi K, Togashi Y, Nomura K, Ninomiya H, Okui M, et al. EML4-ALK fusion is linked to histological characteristics in a subset of lung cancers. J Thorac Oncol 2008; 3: 13-7.
15. Inamura K, Takeuchi K, Togashi Y, Hatano S, Ninomiya H, Motoi N, et al. EML4-ALK lung cancers are characterized by rare other mutations, a TTF-1 cell lineage, an acinar histology, and young onset. Mod Pathol 2009; 22: 508-15.