T.C.

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERLİ HASTALARIN TÜMÖR DOKULARINDA EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ RESEPTÖRÜNÜN (EGFR) SIK GÖRÜLEN MUTASYONLARININ TEDAVİYE YANIT VE PROGNOZLA İLİŞKİSİ

Dr. Mutlu DOĞAN

TIBBİ ONKOLOJİ BİLİM DALI YAN DAL UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ahmet DEMİRKAZIK

ANKARA

2010

TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince bana emeği geçen, başta Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Fikri İçli ve tez danışmanım Prof. Dr. Ahmet Demirkazık olmak üzere tüm Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı öğretim üyelerine, tez hastalarımın patoloji kesitlerinin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Serpil Dizbay Sak'a ve Doç. Dr. Koray Ceyhan'a, tez hastalarımın genetik çalışmalarını yapan Prof. Dr. Ajlan Tükün'e ve Biyolog Semin Gürsoy'a, istatistik değerlendirmesini yapan Prof. Dr. Hakan Akbulut'a, Tıbbi Onkoloji Derneği'ne, Ankara Tıplılar Vakfı'na, her zaman yanımda olan eşime ve Beril'ime sonsuz teşekkürler…

Dr. Mutlu DOĞAN

İÇİNDEKİLER

Teşekkür ……ii

İçindekiler……...iii

Kısaltmalar…….iv

Giriş ve Amaç…….1

Genel Bilgiler……...4

1.1. Epidemiyoloji……..4

1.2. Etyoloji……5

1.3. Patoloji……8

1.4. Genetik ve epigenetik değişiklikler……..13

1.5. Belirtiler ve bulgular…….20

1.6. Tanı……20

1.7. Prognostik faktörler…….22

1.8. Evreleme……25

1.9. Tedavi……28

Hastalar ve Yöntem…….35

Sonuçlar……40

Tartışma……56

Özet (Türkçe ve İngilizce)……..60-62

KISALTMALAR

KHDAK: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri

EGFR: Epidermal büyüme faktörü reseptörü

TKI: Tirozin kinaz inhibitörü

ECOG-PS: *Eastern Cooperative Oncology Group* – performans status

DSÖ: Dünya Sağlı Örgütü

Rb: Retinoblastom

XRCC1: *X-ray cross complementing group 1*

ERCC1: *Excision repair cross complementing group 1*

ERCC2: *Excision repair cross complementing group 2*

XPD: *Xeroderma pigmentosum group D*

TTF-1: Tiroid transripsiyon faktörü 1

CK-20: Sitokeratin 20

TGF-α: Transforme edici büyüme faktörü α

HLA: *Human histocompatibility leucocyte antigen*

MET: Mezenkimal epielyal transizyon faktörü

HGF: Hepatosit büyüme faktörü

FHIT: Frajil histidin triad

EML4: *Echinoderm microtubule-associated protein like 4*

ALK: Anaplastik lenfoma kinaz

PET: Pozitron emisyon tomografisi

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

COX 2: Siklooksijenaz 2

SISH: *Silver in situ hybridisation*

AJCC: *American Joint Comittee on Cancer*

TNM: Tümör, lenf nodu, metastaz

SWOG: *Southwest Oncology Group*

GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanseri, tüm dünyada ve ülkemizde en sık görülen kanserdir. Kansere bağlı ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer alır. Akciğer kanseri ile sigara ilişkisi bilinmektedir. Son yıllarda, kadınlarda sigara içme oranındaki artışa paralel olarak kadınlarda da akciğer kanseri sıklığında artış gözlenmiştir.

Genel durum (performans statusu; PS) küçük hücreli dışı akciğer kanserinde (KHDAK) bağımsız bir prognostik faktördür (1). Sık görülmesi ve yüksek mortalitesi nedeniyle KHDAK'de yeni prognostik ve prediktif faktörlere ihtiyaç vardır. Ancak; benzer evreye, patolojiye ve genel duruma sahip hastalara aynı tedaviler uygulandığında dahi hastaların tedavi yanıtları ve prognozları farklı olabilmektedir. Bunun nedeni büyük olasılıkla farmakogenetik farklılıklardır.

Farmakogenetik; bireyler arasındaki farklı tedavi yanıtlarına neden olabilecek genetik varyasyonları ve genetik mutasyonları araştıran alandır. Günümüzde teknolojideki ilerlemelere paralel olarak aynı tanıya ve benzer klinik özelliklere sahip hastalara farmakogenetik özelliklerine göre mümkün olduğu kadar bireyselleştirilmiş tedaviler uygulanarak bu hastalarda daha az toksisiteyle daha çok klinik yarar elde edilebilir. Maliyet-etkinlik açısından değerlendirildiğinde ise bu sayede gereksiz ilaç kullanımları önlenebilir. Farmakogenetik çalışmalar ile tedavi yanıtını etkileyebilecek mutasyonlar ortaya konularak bunlara karşı geliştirilen hedefe yönelik tedavilerle tedavi başarısı arttırılabilir. Kanser hücrelerinin büyümesinde ve çoğalmasında önemli rol oynayan, KHDAK'li hastaların çoğunda aşırı miktarda bulunan epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) buna iyi bir örnektir. Günümüzde, anti-EGFR tedavi stratejilerinin başında EGFR'nin hücre dışı bileşenini hedefleyerek buraya ligand bağlanmasını önleyen EGFR monoklonal antikoru ve EGFR'nin tirozin kinaz aktivitesine sahip olan hücre içi kısmını inhibe ederek intraselüler

fosforilasyonunu önleyen tirozin kinaz inhibitörleri (TKI) yer almaktadır (2). Bazı hastalarda daha iyi TKI yanıtı gözlenmesi üzerine EGFR somatik mutasyonlarının araştırıldığı çalışmalara ağırlık verilmiştir.

Epidermal büyüme faktörü reseptörü somatik mutasyonları Doğu Asyalılarda %30, Asyalı olmayanlarda ise %10'dan daha az oranda bulunur (3). Epidermal büyüme faktörü reseptörü somatik mutasyonlarının çoğunu ekzon 19 delesyonu ve ekzon 21 L858R nokta mutasyonu oluşturur (4).

Karsinogenezde hücre içi sinyal iletimi sırasında farklı yolaklar aktive olur. Yolakların birbiriyle ilişkili olması tek hedefe odaklanılan tedavilerin başarı şansını azaltabilir. Bu durumda çok fazla tedavi seçeneğinin olmadığı ileri evre KHDAK'de farklı yolaklarla ilgili genlerin mutasyon analizleri farklı tedavilere ışık tutabilir.

'Ras' onkogen ailesinden özellikle 'k-ras', kolorektal kanser ve akciğer kanseri başta olmak üzere bazı kanserlerin gelişiminde rol oynar. K-ras mutasyonu KHDAK'de %20-30 oranında görülür ve çoğunlukla adenokanserlerde ortaya çıkar (5). K-ras mutasyonu en sık kodon 12'de görülür ve en belirgin mutasyon %70 oranında guanin-timin transversiyonudur (6). Ras mutasyonunun platin tedavisi başta olmak üzere tedavi direnciyle (*'de novo'* direnç) ilişkili olabileceğine dair veriler vardır (2,7). Özellikle adenokanserlerde başarısı kanıtlanmış EGFR-TKI tedavilerinde EGFR somatik mutasyonlarının yanı sıra k-ras mutasyonunun olup olmamasının tedavi yanıtı ve sağkalım üzerine etkisi araştırılması yarar sağlayabilir.

'B-raf' onkogeni daha çok kolorektal kanserde ve maliyn melanomada çalışılmıştır, KHDAK'deki rolüne dair veriler kısıtlıdır (8,9). En sık görülen b-raf somatik mutasyonu; V600E mutasyonudur. Hücre içi sinyal iletiminde braf aktivasyonu da önemli olduğu için KHDAK'li hastalarda b-raf V600E mutasyonunun araştırılmasının hedefe yönelik tedaviler açısından önemli olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızın primer amacı; yeni tanı alan ileri evre KHDAK'li hastaların tümör dokusunda veya hücre bloğunda sık görülen EGFR mutasyonlarını (ekzon 19 delesyonunu ve ekzon 21 L858R nokta mutasyonu) ve ek olarak tedavi yanıtı ile prognozu etkileyebilecek k-ras kodon 12, 13, 61 ve 64 mutasyonlarını ve b-raf geni V600E mutasyonunu araştırmaktır. Bu mutasyonların görülme sıklığını ve birbirleriyle olan ilişkilerinin yanı sıra prognoza ve tedavi yanıtına etkilerini değerlendirmektir.

GENEL BİLGİLER

1.1. Epidemiyoloji

Akciğer kanseri dünyada en sık görülen kanserdir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre; 2008 yılında en sık görülen ve en mortal seyreden kanserdir. Hesaplamalara göre; 2008 yılında 1,61 milyon yeni akciğer kanseri vakası tanı alırken akciğer kanseri nedeniyle 1,38 milyon ölüm görülmesi beklenmiştir. Tüm dünyada, erkeklerde akciğer kanseri insidansı ve mortalitesi gelişmiş ülkelerde sırasıyla 482 / 100000 ve 411 / 100000 iken gelişmekte olan ülkelerde 612 / 100000 ve 539 / 100000 olarak bildirilmiştir. Kadınlarda ise meme, kolorektal ve serviks kanserinden sonra dördüncü sıklıkta görülüp kanser nedeniyle ölümler arasında ise en sık ikinci neden olmuştur. Kadınlarda akciğer kanseri insidansı ve mortalite oranları sırasıyla gelişmiş ülkelerde 241 / 100000 ve 188 / 100000; gelişmekte olan ülkelerde ise 271 / 100000 ve 239 / 100000 olarak saptanmıştır. (10). Akciğer kanseri 2009 yılında da Amerika Birleşik Devletleri'nde en sık (%28.3) görülen kanser türü olup 5 yıllık sağkalım oranı %16 olarak bildirilmiştir (11). Amerika Birleşik Devletleri'nde akciğer kanseri ve mortalitesi, 1990'lı yıllardan itibaren sigara tüketiminin azalmasına bağlı olarak önceki senelere göre bir miktar azalmıştır. Ancak, son yıllarda kadınlarda sigara tüketiminin artmasına bağlı olarak akciğer kanseri insidansında artış izlenmiştir.

Türkiye Akciğer Kanseri Haritası Projesi'ne göre yıllık beklenen akciğer kanserli yeni olgu sayısı 30239'dur (12). T.C. Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı'nın Türkiye nüfusunun yaklaşık beşte birine karşılık gelen, farklı coğrafik bölgelerden sekiz ilimize (Ankara, Antalya, Samsun, Erzurum, Trabzon, İzmir, Edirne ve Eskişehir) ait verilerle hazırladığı 2005 yılı Türkiye Kanser İstatistikleri'ne göre; akciğer kanseri insidansı 30.13/100 000 olarak saptanmıştır (13). Cinsiyete göre dağılımına baktığımızda; erkeklerde en sık (%52.73) kadınlarda ise meme, deri ve tiroid kanserlerinden sonra dördüncü sıklıkta (%7.2)

görülen kanser türüdür. Antalya'da ve Eskişehir'de prostat kanserinden sonra, Erzurum'da ise mide kanserinden sonra ikinci sıklıkta görülürken diğer illerde en sık görülen kanser türü olmuştur. Yine, DSÖ 2008 verilerine göre; akciğer kanseri Türkiye'de erkeklerde en sık, kadınlarda ise meme, kolorektal, mide ve uterus kanserlerinden sonra beşinci sıklıkta görülen kanserdir. İnsidans ve mortalite oranları sırasıyla; erkeklerde 49,1 / 100000 ve 45,3 / 100000 kadınlarda ise 5,2 / 100000 ve 4,8 / 100000 olarak bildirilmiştir (10) .

1.2.Etyoloji

a- Sigara: Akciğer kanserinde en önemli etyolojik faktördür. Sigara, özellikle küçük hücreli akciğer kanseri ve yassı hücreli akciğer kanseri gelişiminde önemli rol oynar. Akciğer adenokanserlerinin ise %40'ı sigara ile ilişkili bulunmuştur (14). Sigara dumanında nikotin ile birlikte benzopiren gibi polisiklik aromatik hidrokarbonlar, nitrozaminler başta olmak üzere çok sayıda kanserojen madde ve inorganik metaller (nikel, arsenik ve krom gibi) bulunur. Nitrozaminlerden NNK'ın solunum epitelyal hücrelerindeki nikotinik asetil kolinerjik reseptörlere bağlanarak Akt sinyal yolağını aktive ettiği, k-ras aktivasyonuna ve pnömositlerde DNA metiltransferaz aktivitesini arttırdığı in vivo ve in vitro olarak gösterilmiştir. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar ise p53 gibi bazı tümör baskılayıcı genlerde mutasyonlara yol açarak hücre siklusu regülasyonunda, DNA tamirinde ve apopitoziste bozulmalara neden olabilir. Nikotin Akt yolağını aktive eder, raf-1 kinaz aktivasyonu sonucunda retinoblastom (Rb) onkogeninin fosforilasyonunu sağlar (15). Sonuç olarak; sigara, başta akciğer olmak üzere birçok yerde gelişen tümörlerin karsinogenezinde önemli rol oynar.

Sigara içme süresi ve yoğunluğu akciğer kanseri riskini etkiler. Aktif sigara içenlerde kümülatif akciğer kanseri riskinin 16 kat yüksek olduğu bildirilmiştir (16). Akciğer kanseri riski sigara bırakıldıktan sonra zaman içinde giderek azalır. Aktif içiciliğin yanı sıra pasif

içicilik de akciğer kanseri riskini arttırır ve sigara içmeyenlerde gelişen akciğer kanserlerinin %25'inin etyolojisinden sorumludur (17). Akciğer kanseri riskinin kadın pasif içicilerde %20, erkek pasif içicilerde ise %30 arttığı bildirilmiştir (18).

Son yıllarda, sigara ile savaş adına izlenen sağlık politikaları sayesinde gelişmiş ülkelerde sigara tüketimi giderek azalırken gelişmekte olan ülkelerde bu konuda henüz pek başarılı olunamamıştır. Kadınlarda ve gençlerde sigara tüketiminin önceki yıllara göre giderek artması, sigara ile savaşta özellikle üzerinde durulması gereken bir konudur. Ülkemizde 5727 sayılı 'Tütün ve Tütün Mamullerinin Zararlarının Önlenmesine Dair Kanunda Değişiklik Yapılması Hakkında Kanun' ile 4207 sayılı kanunun yaptırım gücü arttırılmıştır (12). Yasanın yaptırım gücünün yanı sıra halkın bilinçlendirilmesi sağlık politikası olarak benimsenmelidir.

b- Diğer faktörler: Sigara içenlerin hepsinde akciğer kanseri gelişmemesi akciğer kanseri gelişiminde sigara dışında diğer faktörlerin araştırılmasına neden olmuştur.

1- **Genetik yatkınlık:** Altıncı kromozomun uzun kolunda (6q23-25) yerleşen bir gen bölgesinin özellikle az miktarda sigara tüketen bireylerde akciğer kanseri gelişiminde önemli olabileceği bildirilmiştir (15). Karsinojen metabolizmasında rol oynayan CYP1A1 gibi enzimlerde, hücre siklusunu regüle eden siklin D gibi bazı siklinlerde veya DNA tamir genlerinde (*'XRCC1; X-ray cross-complementing group 1*, ERCC2; *excision repair cross complementing group 2'* gibi) polimorfizm gelişmesi genetik yatkınlığa neden olabilir (15). Tümör baskılayıcı genlerin yerleştiği kromozomların ilgili kollarındaki kayıplar (3p delesyonu gibi) ve mutasyonlar (17p'de yerleşen p53 mutasyonu gibi) ile onkogenlerin aşırı ekspresyonu (c-myc gibi) akciğer kanseri gelişiminde önemlidir (19).

2- **Asbest:** Önceki yıllarda günlük hayatta daha geniş bir alanda kullanılırken kanserojen olması nedeniyle günümüzde pek kullanılmamaktadır. Ancak, bazı coğrafik bölgeler asbestten zengin olduğu için bu bölgelerde yaşayanlar maliyn mezotelyoma ve akciğer kanseri açısından risk altındadır. Ülkemizde Kapadokya bölgesi başta olmak üzere Anadolu'nun iç ve doğu bölgeleri asbestten ve bir zeolit fiber olan eryonitten zengindir. Özellikle amfibol fiberler akciğer kanseri gelişiminde önemlidir (20). Asbest liflerinin karsinojenitesi liflerin uzunluğuna ve kalınlığına bağlıdır. On mikrometreden uzun ve/veya 0.25 mikrometreden ince lifler daha karsinojeniktir (21). Sigara içenlerde bronşiyal klirens zaten bozuk olduğu için asbeste maruz kalındığında asbest lifleri daha uzun süre kalır ve akciğer kanseri riski daha da artar.

3- **İyonize radyasyon:** DNA hasarına neden olur. X ışını, gama ışını ve radyum önemli risk faktörleridir. Özellikle radyoterapi tekniklerinin çok iyi olmadığı önceki yıllarda Hodgkin lenfoma veya meme kanseri gibi maliynitelerin tedavisi sırasında radyoterapi alan hastalarda akciğerler radyoterapi alanına girdiği taktirde yıllar sonra akciğer kanseri geliştiği görülmüştür. Amerika Birleşik Devletleri'nin bazı bölgelerinde olduğu gibi toprağın radyumdan zengin olduğu yerlerde yaşayanlarda veya uranyum maden işçilerinde zaman içinde iyonize radyasyona maruz kalınması da akciğer kanseri riskini arttırmaktadır.

4- **Diğer çevresel ve mesleksel maruziyetler:** Organik bileşikler (kloral metil eter, polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi), metaller (arsenik, krom, nikel gibi) ve hava kirliliği d akciğer kanseri için tanımlanmış risk faktörleridir.

5- **Akciğer Hastalıkları:** Slikozis gibi bazı meslek hastalıkları, tüberküloz gibi geçirilmiş enfeksiyonlar, skleroderma gibi bazı romatolojik hastalıklar, beniyn olaylar sonucunda fibrozis gelişmesi durumlarında da akciğer kanseri riski artabilir.

6- **Diyet:** Önceki yıllarda beta karoten, folik asit, çinko, bakır ve selenyum başta olmak üzere birçok vitaminin ve elementin akciğer kanseri gelişimi üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Ancak, herhangi birinin eksikliğinin akciğer kanseri riskini arttırdığı kesin olarak gösterilemediği gibi 100000'den fazla olgunun değerlendirildiği bir meta-analizde sigara içenlerde günlük beta karoten alımının akciğer kanseri riskini anlamlı olarak arttırdığı bildirilmiştir (22).

7- **Virüsler:** Epstein-Barr virüsü, Human papillomavirüs (HPV 16), son yıllarda adenovirüs (tip 5) ve özellikle sigara içmeyenlerde kızamık virüsünün akciğer kanseri etyopatogenezinde rol oynayabileceği bildirilmiştir (23-26). Bir meta-analizde; akciğer kanserli hastalarda HPV16 ve HPV18 prevalansı Asyalılarda Avrupalılara göre daha yüksek bulunmuş (27).

1.3. Patoloji

Epitelyal akciğer tümörlerinin histolojik sınıflandırılması DSÖ tarafından en son şu şekilde yapılmıştır (15).

A. Preinvaziv lezyonlar

- Skuamöz displazi / karsinoma in situ
- Atipik adenomatöz hiperplazi

●Difüz idiyopatik pulmoner nöroendokrin hücre hiperplazisi

B. İnvaziv maliyn lezyonlar

● Adenokarsinom

*Asiner

*Papiller

*Bronkioloalveoler

*Müsinöz

*Müsinöz kistadenokarsinom

*Nonmüsinöz

*Miks müsinöz ve nonmüsinöz

*Müsin oluşumuyla birlikte solid adenokarsinom

*İyi diferansiye fetal adenokarsinom

*Taşlı yüzük hücreli adenokarsinom

*Şeffaf hücreli adenokarsinom

●Yassı hücreli karsinom

●Büyük hücreli karsinom

*Varyant

*Büyük hücreli nöroendokrin karsinom

*Kombine büyük hücreli nöroendokrin karsinom

*Bazaloid karsinom

*Lenfoepitelyoma benzeri karsinom

*Şeffaf hücreli karsinom

*Rabdoid fenotipli büyük hücreli karsinom

●Adenoskuamöz karsinom

●Pleomorfik, sarkomatoid veya sarkomatöz elemanlar içeren karsinomlar

*İğsi veya dev hücreli karsinomlar

*Pleomorfik karsinom

*İğsi hücreli karsinom

*Dev hücreli karsinom

*Karsinosarkom

*Pulmoner blastom

●Karsinoid tümörler

*Tipik karsinoid

*Atipik karsinoid

●Tükrük bezi tipi karsinomlar

*Mukoepidermoid karsinom

*Adenoid kistik karsinom

*Diğerleri

●Küçük hücreli karsinom

*Varyant

*Kombine küçük hücreli karsinom

●Sınıflandırılamayanlar

Önceki yıllarda en sık görülen KHDAK tipi yassı hücreli kanser iken günümüzde en sık görülen histopatolojik alt tip adenokanserdir (15). Son yıllarda yürütülen sigara karşıtı kampanyaların sigarayla daha çok ilişkili olan yassı hücreli kanser insidansındaki azalmaya katkıda bulunmuş olabileceği düşünülebilir.

1.3.1. Adenokarsinom

Akciğer adenokarsinomlarının sigarayla ilişkisi azdır. Sıklıkla akciğerlerin periferinde yerleşir, çoğu kez distal hava yollarında veya alveollerde yerleşir. Akciğerde bulunan skar zemininde gelişebilir. Periferik ve distal hava yollarında yerleşmesi nedeniyle tanıda balgam sitolojisi çoğu zaman yararlı olmamaktadır.

1.3.1.a. Bronkioloalveoler karsinom

Müsinöz veya nonmüsinöz olabilir. Müsinöz alt tipi çoğunlukla multifokal olup alveollerdeki goblet hücrelerinden gelişir. Nonmüsinöz tip ise tip 2 pnömositlerden köken alır. Özellikle müsinöz bronkioloalveoler kasinomlarda primer ve metastatik ayrımı klinik önem taşır ve bunların ayrımda immunhistokimyasal çalışmalar önemlidir. Tiroid transkripsiyon faktör-1 (TTF-1) daha çok primer tümörlerde, sitokeratin 20 (CK-20) ise kolon kanseri gibi diğer maliynitelerin pulmoner metastazında yol göstericidir. Bronkioloalveoler karsinom *'lepidik'* yayılım özelliği ile alveollerin yüzeyinde ilerler ve parankim invazyonu yapmaz. İnvaziv alt tipler; solid, papiller ve asiner karsinomlardır. Bronkioloalveoler

karsinom çok sık olmamasına rağmen EGFR-TKI tedavisiyle bu hastalarda başarılı sonuçlar elde edilmesinden dolayı ayrı bir önem taşımaktadır.

1.3.2.Yassı hücreli karsinom (skuamöz hücreli karsinom)

Genellikle yavaş büyür ve proksimal bronşlarda yerleşir. Maliyn hücreler 'karsinoma in situ' aşamasında iken bronş yüzeyinde dağılır. Kanserin klinik olarak aşikar hale gelmesi birkaç yıl sürebilir. Keratinizasyon sıktır. Erken dönemde bile maliyn hücrelerin bronş yüzeyinden dökülmesine bağlı olarak balgam sitolojisi ve/veya bronkoalveoler lavaj erken tanıya olanak sağlayabilir.

1.3.3. Adenoskuamöz karsinom

Adenoskuamöz karsinom daha çok periferde yerleşir. Adenoid ve skuamöz komponentlerinden biri daha belirgin olabilir veya iki komponent de eşit oranda bulunabilir. Skuamöz komponenti daha belirgin olan alt tipi mukoepidermoid karsinoma benzer özellikler taşır.

1.3.4. Büyük hücreli karsinom

Büyük hücreli, indiferansiye bir karsinomdur. Prognozu adenokarsinoma benzer ve genellikle kötü seyreder. İmmunhistokimyasal olarak, kromogranin A ve sinaptofizin gibi nöroendokrin diferansiyasyon belirteçleriyle pozitif boyanma gösterebilir.

1.3.5. Karsinoid tümörler ('nöroendokrin tümörler')

Morfolojik ve immunhistokimyasal olarak nöroendokrin karakterler taşırlar. Akciğer nöroendokrin tümörleri DSÖ 2004 sınıflamasına göre; tipik karsinoid, atipik karsinoid, büyük hücreli nöroendokrin karsinom ve küçük hücreli karsinom olarak sınıflandırılabilir. Tipik karsinoid en iyi prognoza sahip olan alt tipidir.

1.4. Genetik ve Epigenetik Değişiklikler

1.4.1. Genomik instabilite ve DNA tamir genleri

Kromozomal instabilite; anöploidi ve polizomiler gibi sayısal anomaliler, tümör baskılayıcı genlerin yerleştiği gen lokalizasyonlarında (3p, 17 p gibi) resiprokal olmayan translokasyonlar, tekrarlayan kayıplar veya protoonkogenlerle ilgili gen amplifikasyonlarıdır (15). Yine, ERCC1 (*'excision repair cross complementary gene 1'*), ERCC2/XPD (*'xeroderma pigmentosum group D'*) gibi DNA tamir genlerinde de polimorfizmler görülebilir.

1.4.2. Aberan DNA metilasyonu

Genlerin promotor Cpg adalarında metilasyon şeklinde oluşan epigenetik değişiklikler sonucunda ortaya çıkar. Tümör baskılayıcı genlerin (p16INK4A, RASSF1A gibi) inaktivasyonu, daha az sıklıkta da protoonkogenlerin aktivasyonu görülebilir (28). P16INK4A gen inaktvasyonu, özellikle yassı hücreli karsinomlarda görülür (15). Histon deasetilasyon da bir epigenetik değişikliktir.

1.4.3. Protoonkogenler ve büyüme faktörleri

1.4.3.a. Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR)

Stanley Cohen, sonradan epidermal büyümü faktörü (EGF) olarak adlandırılan proteini 1962'de izole etmiş ve 25 yıl sonra bundan dolayı Nobel ödülü kazanmıştır (29). Epidermal büyüme faktörü reseptörü; 7p12 üzerinde yer alan 170 kilodalton ağırlığında bir glikoproteindir (30). Yirmisekiz ekzon, 1186 aminoasit ve yaklaşık 190000 nükleotid içeren bir transmembranöz reseptördür (30). Eksternal, transmembranöz ve tirozin kinaz aktivitesine sahip internal bölümler içerir (31,32). Epidermal büyüme faktörü reseptör ailesinde ErbB1 (EGFR), erbB2 (HER-2/neu), erbB3 (HER-3) ve erbB4 (HER-4) bulunur. Epidermal büyüme

faktörünün yanı sıra transforme edici büyüme faktörü-α (TGF-α) EGFR için önemli bir ligandır. Epidermal büyüme faktörü veya TGF-α gibi uygun ligandlar EGFR eksternal bölümüne bağlanınca ileti transmembranöz kısımdan geçer, internal bölümde heterodimerizasyon gerçekleşir ve sinyal iletimi aktive olur. Bunun sonucunda DNA replikasyonu artar, hücre büyümesi ve çoğalması gerçekleşir. Epidermal büyüme faktörü reseptörü; proliferasyon, apopitozis, hücresel motilitede artış ve neoanjiyogenez de dahil olmak üzere karsinogenezin çeşitli basamaklarında önemli rol oynar (33). Epidermal büyüme faktörünün ekstraselüler parçasını etkileyen mutasyonların klinik seyri fazla etkilemediği bildirilmiştir (34). Bu mutasyonlar içinde en az yedi tane mutant sınıfı (vI-vVII) tanımlanmıştır (30). Tip 3 EGFR mutasyonu (EGFRvIII); EGFR ekstraselüler parçasındaki ekzon 2-7 çerçeve delesyonu sonucunda reseptörde ekstraselüler ligand bağlayıcı kısmın olmaması ile karakterizedir ve EGFR ekstraselüler kısmı ile ilgili en sık görülen genomik varyanttır (30,35). Yapılan çalışmalarda, EGFRvIII'ün klinik seyri önceden belirlemede çok işe yaramadığı bildirilmiştir (34).

Epidermal büyüme faktörü reseptörü mutasyonları immünhistokimyasal olarak değerlendirilebildiği gibi serum kitle spektrometrisi (*'serum mass spectrometry'*) gibi proteomik yöntemlerle de çalışılabilir. Dolaşımdaki tümör hücrelerini yakalayıp bunlardan DNA izole edilerek EGFR mutasyonlarının gösterilebileceği bildirilmiştir (35,36). Kato ve ark, EGFR mutasyonlarının tayininde mutasyon spesifik antikorların kullanıldığı immünhistokimyasal değerlendirmenin sensitivitesinin, spesifitesinin ve pozitif prediktif değerinin yüksek olduğunu göstermişlerdir (37).

Epidermal büyüme faktörü reseptörünün aşırı ekspresyonu KHDAK gibi bazı epitelyal tümörlerde görülebilir (38,39). İlk çalışmalardaki veriler, EGFR protein ekspresyonunun anti-EGFR tedavilerine yanıtın önceden belirlenmesinde belirteç olabileceği doğrultusunda iken sonraki çalışmalar EGFR somatik mutasyonlarının EGFR-TKI yanıtının önceden

belirlenmesinde daha değerli olduğunu göstermiştir (40-44). Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda sigara içme oranı yüksek olduğu için bu hastalarda sigara öyküsü, cinsiyet, etnik köken gibi demografik özelliklerden ziyade TKI adayı olabilecek hastaların EGFR somatik mutasyonlarına göre seçilmesinin daha akıllıca olacağı düşünülmüştür (45,46).

Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde yüksek EGFR gen kopya sayısı %30-50, gen amplifikasyonu ise %10 oranlarında görülür (47). Japonya'da yapılan bir çalışmada, adenokanserli kadın hastalarda EGFR mutasyonlarının HLA-A2 (*'human histocompatibility leukocyte antigen-A2'*) aleli ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (48). Epidermal büyüme faktörü reseptörü somatik mutasyonları KHDAK'nin yanı sıra gliomalar ve over kanseri gibi başka solid tümörlerde de görülebilir (34,40). Ekzon 19 delesyonu ve ekzon 21 L858R nokta mutasyonu EGFR tirozin kinaz kısmını ilgilendiren somatik mutasyonlarının %80'den fazlasını oluşturur (48). Ekzon 19 delesyonu ile lösin-arjinin-glutamat-alanin motifi ortadan kaldırılırken ekzon 21'deki L858R nokta mutasyonunda timin-guanin transversiyonu arginin yerine lösin geçmesine neden olur. Bu mutasyonlar sonucunda EGFR'nin ligand uyarısı olmadığı zamanlarda korunan otoinhibe durumdaki yapısının stabilizasyonu bozulur, EGFR tirozin kinaz kısmı aktive olur ve tümörün TKI sensitivitesi artar (43,44,49). Sonuç olarak, EGFR mutasyonları olan KHDAK'li hastalarda TKI yanıtı daha iyidir (3,50). Ekzon 19 delesyonunda genellikle LREA (del E746-A750) sekansı etkilenir (49). Ekzon 19 delesyonu olan hastaların EGFR-TKI yanıtının ekzon 21 L858R nokta mutasyonu olanlardan daha iyi olduğu bildirilmiştir (4,49). Ekzon 20'de 790. pozisyonda treonin yerine metiyonin geçmesi sonucu oluşan T790M mutasyonu direnç ile ilişkili bulunmuştur (51-53). İlk yapılan çalışmalarda EGFR mutasyonlarının erlotinib yanıtını arttırmasına rağmen sağkalım avantajı sağlamadığı öne sürülmüş olsa da takip eden çalışmalarda sağkalım avantajı sağladığı gösterilmiştir (44,54). Epidermal büyüme faktörü reseptörü mutasyonları olan rezektabıl

KHDAK'li hastaların TKI almadıklarında bile sağkalımlarının daha iyi olduğu, ancak farkın çoklu değişkenli analize göre sınırda anlamlı olduğu bildirilmiştir (55).

1.4.3.b. Her2/neu (Erb-B2)

ErbB2 ('HER2/neu') 'ErbB' reseptör ailesinin bir üyesidir, 185 kilodalton ağırlığındadır ve EGFR yanında yer alır. Her2/neu protoonkogeni 17. kromozomda yerleşir (56). Epidermal büyüme faktörü ligandı bağlanmasına ihtiyaç duymaksızın diğer reseptörlerin heterodimerizasyonu sonucunda aktive olur. Epidermal büyüme faktörü reseptörü-Her2 heterodimerleri EGFR homodimerlerine göre sinyal iletimini daha güçlü bir şekilde indükleyebilir (29). Her2 mutasyonu %5'ten daha az sıklıkta görülürken Her2 amplifikasyonu %5-10 oranında görülür (35). Her2, KHDAK'de %27-57 oranında aşırı miktarda eksprese edilir. Her2 aşırı ekspresyonunun kemoterapi direnciyle ilişkili olabileceği düşünülmüştür (15,56,57). Yassı hücreli kanserde EGFR fazla miktarda eksprese edilirken adenokarsinomda, özellikle bronkioloalveoler karsinomda hem EGFR hem de Her2 fazla miktarda eksprese edilir (29). Her2 mutasyonlarının daha çok ekzon 20'de insersiyonlar şeklinde daha çok sigara içmeyen, Asyalı ve adenokarsinomlu kadın hastalarda ortaya çıktığı bildirilmiştir (58). Gefitinibin Her2 aşırı ekspresyonu olan tümör hücre serilerinde de etkili olduğu gösterilmiştir (29). Artmış HER2 gen kopya sayısının EGFR pozitif KHDAK'li hastalarda gefitinib sensitivitesini arttırabileceği, bunun TKI uygulanacak hastaların seçiminde yararlı olabileceği öne sürülmüştür (59).

1.4.3.c. ras, braf

'Ras' onkogen ailesinde k-ras, h-ras ve n-ras bulunur. K-ras, akciğer adenokarsinomlarında en sık mutasyona uğrayan onkogenler arasında yer alır (49). Ras onkogeni inaktif haldeyken intrensek GTP-az akivitesi göstererek GDP'ye hidroliz olur ve hücre büyümesinin kontrol altında tutulmasına yardımcı olur (6). Ekzon 2 kodon 12 başta

olmak üzere bazı kodonlarda (kodon 13 ve 61) da nokta mutasyonları ile aktive olabilir (15). Epidermal büyüme faktörü reseptörü kinaz mutasyonları genellikle sigarayla ilişkisiz olan adenokanserlerin, k-ras mutasyonu ise genellikle sigarayla ilişkili olan adenokanserlerin gelişiminin erken döneminde ortaya çıkar (35). Genellikle, akciğer adenokarsinomlu hastalardan sigara içenlerde guanin-timin transversiyonu şeklinde, sigara içmeyenlerde ise guanin-adenin tranzisyonu şeklinde ortaya çıkar (35). K-ras mutasyonu adenokarsinomda kötü prognozla ilişkilidir (6,60). Rezektabıl KHDAK'li hastalardan da k-ras mutasyonu olanların sağkalım sürelerinin daha kısa olduğu bildirilmiştir (55). Epidermal büyüme faktörü reseptöründen bağımsız olarak, k-ras mutasyonu sonucunda MAPK yolağının aktivasyonu EGFR monoklonal antikorları veya EGFR-TKI tedavilerinin başarısızlığına neden olabilir (53).

Ras onkogeni, raf1 ve braf protonkogenlerini de etkiler. Braf mutasyonu en sık V600E mutasyonu şeklinde olup KHDAK'de karsinogenezin erken dönemlerinde ortaya çıkar. Bugüne kadar en çok maliyn melanomada ve kolon kanserinde çalışılmıştır. Maliyn melanoma tedavisinde anti-braf tedavilerinin yararı gösterilmiştir.

1.4.3.d. myc

Myc onkogen ailesinde myc, mycN ve mycL bulunur. Myc gen amplifikasyonu ve regülasyon bozukluğu daha çok küçük hücreli akciğer kanserinde görülür.

1.4.3.e. bcl-2

Antiapopitotiktir. Bcl-2 ekspresyonu olan ileri evre KHDAK'li hastalarda daha iyi sağkalım sonuçları bildirilmesine rağmen daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (61).

1.4.4. Tümör baskılayıcı genler

1.4.4.a. p53

İnsanlardaki maliynitelerde en sık mutasyona uğrayan tümör baskılayıcı gen olan p53 17p13'te yerleşir. P53 mutasyonunun ras mutasyonuyla birlikte akciğer kanseri hücre serilerinde, özellikle ekzon 8'de nokta mutasyonu şeklinde olduğu bildirilmiştir (62). P53 mutasyonu küçük hücreli akciğer kanserinde %90, KHDAK'inde ise %50 oranında görülür. Sigara, p53 mutasyonu gelişiminde önemli rol oynar (15). Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde bağımsız kötü prognostik faktör olarak tanımlanmıştır (60).

1.4.4.b. Retinoblastom

Büyümeyi baskılayan bir nükleer fosfoprotein olup 13q14'te yerleşir. Retinoblastom protoonkogeni aktive olduğu zaman hücrelerin hücre siklusunda G1/S fazına geçişi önlenir. Küçük hücreli akciğer kanserinde Rb aktivasyonu daha sıktır (15).

1.4.4.c. Hepatosit büyüme faktörü-MET (mezenkimal epitelyal tranzisyon faktörü)

Mezenkimal epitelyal tranzisyon faktörü ('*MET; mesenchymal epithelial transition factor'*) karsinogenezde önemlidir. Akciğer kanseri, mide kanseri, rabdomyosarkom gibi bazı tümörlerin gelişimi ve progresyonu için MET reseptörü çok önemlidir (63). Hepatosit büyüme faktörü ('*HGF; hepatocyte growth factor'*), MET reseptörü için ligand olarak tanımlanmıştır (64). MET reseptörüne HGF bağlanmasını takiben reseptörün intraselüler kısmında yer alan tirozin kinaz katalitik bölgesindeki tirozin rezidülerinde otofosforilasyon olur (63). HGF-MET sinyal iletiminde PI3K/Akt, ras/raf/ MAPK, src ve β-katenin yolakları önemlidir. MET reseptörü; CD44 ve FAS'ın yanı sıra EGFR ve ErbB2 gibi diğer tirozin kinaz reseptörleriyle de etkileşebilir (63). Yüksek HGF-MET ekspresyonu ile kötü prognoz arasında ilişki

olabileceği düşünülmüştür (63). MET amplifikasyonunun erbB3 yolağı üzerinden gefitinib direncine yol açabileceği ve aktif cMET (pY1003)'in primer gefitinib direncini göstermede belirteç olabileceği öne sürülmüştür (65). MET ile EGFR arasındaki çapraz etkileşim nedeniyle MET ilişkili sinyal iletimi zaman içerisinde EGFR'ye yönelik tedavilere direnç gelişimine katkıda bulunabilir, bu yüzden HGF-MET ve EGFR sinyal yolaklarını birlikte etkileyen tedavi stratejileri daha yararlı olabilir (63).

1.4.5. Diğerleri

Heterozigozite kaybı tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonunda önemlidir. Üçüncü kromozomun kısa kolu üzerinde nükleotid ekzisyon tamir genleri, tümör baskılayıcı genler (RASSF1, SEMA 3B,FUS1 gibi), frajil histidin triadı (*'FHIT'*) ve retinoik asit reseptör beta (*'RAR-β'*) gibi akciğer kanseri patogenezinde önemli olan birçok faktör yer alır. Akciğer kanserinde karsinogenezin erken dönemlerinde FHIT kaybı görülebilir (15). Yine, metaplazi ve displazi gibi premaliyn yassı hücreli lezyonlarda p16 ve FHIT metilasyonu gibi epigenetik değişiklikler de görülebilir (35).

10q23'te yerleşen fosfat ve tensin homoloğunun (*'PTEN'*) KHDAK'de sağkalımın önceden belirlenmesinde önemli olabileceğine dair veriler mevcuttur (15).

STK11 olarak da bilinen LKB1; p53 ve CDC42 ile etkileşen, sigarayla ve k-ras mutasyonlarıyla ilişkili olan, karsinogenezin erken dönemlerinde rol oynayan bir tümör baskılayıcı gen gibi davranır. LKB1 mutasyonları akciğer adenokarsinomlarının %34'ünde, yassı hücreli kanserlerin ise %19'unda bulunmaktadır (35). EML4 (*'echinoderm microtubule-associated protein like 4'*) ve ALK (*'anaplastic lymphoma kinase'*) füzyon geni kriptik inversion [inv 2 (p22-p21p23)] sonucunda oluşur ve KHDAK'de %2-7 oranında bulunur (66). Bir ay önce yayınlanan, Kwak ve arkadaşlarının yaptığı faz 1 çalışmada, ALK tirozin kinazı hedefleyen krizotinib (PF-02341066) ile yanıt oranı %57, hastalık stabilizasyonu oranı ise

%33 olarak bildirilmiştir (66). Bu çalışmada, yanıtın özellikle genç ve sigara içmeyen adenokanserli hastalarda olduğu belirtilmiştir (66).

1.5. Belirtiler ve klinik bulgular

Akciğer kanserinde belirtiler ve bulgular tümörün büyüklüğüne, yerleşim yerine, lokorejyonel invazyon olup olmamasına göre değişir. Olguların bir kısmı asemptomatik olup başka nedenlerden dolayı yapılan tetkikler sırasında tanı alır. Halsizlik ve kilo kaybı gibi konstitüsyonel semptomların yanı sıra nefes darlığı, öksürük, balgam, hemoptizi ve hırıltılı solunum sıktır. Santral yerleşimli tümörler vena kava superior sendromu ile prezente olabilir. Rekürren larengeal sinir ve/veya frenik sinir paralizisi ile ilişkili semptomlar gelişebilir. Apekste yerleşen tümörlerde (*superior sulkus tümörü*) brakiyal pleksusa ve/veya sempatik sinirlere bası sonucunda üst ekstremitede güçsüzlük ve/veya Horner Sendromu görülebilir.

Hastalar bronkioloalveoler karsinomda olduğu gibi radyolojik ve klinik olarak pnömoni tablosuyla başvurabilirler. Metastatik olgularda ise metastaz yerine ve yoğunluğuna bağlı olarak semptomlar değişir. Yine, hastalar tümörden salınan çeşitli sitokinlerin veya hormonların etkisiyle ortaya çıkabilen paraneoplastik sendromlar ile doktora başvurabilirler. Paraneoplastik sendromlardan hiperkalsemi yassı hücreli karsinomda, hipertrofik pulmoner osteoartropati ve tromboembolik olaylar ise adenokanserde daha sık görülür.

1.6. Tanı

Anamnez ve fizik muayeneden sonra iki yönlü akciğer grafisi çekilerek akciğer parankimi, hiluslar, mediasten, plevra ve diyaframlar değerlendirilir. Akciğer parankiminde nodül, kitle, konsolidasyon ve/veya postobstrüktif atelektazi izlenebilir. Santral yerleşimli tümörlerde mediasten genişliği ve/veya hilus dolgunluğu görülebilir. Hastalar akciğer grafisiyle plevral efüzyon ve diyafram yüksekliği açısında da değerlendirilir. Bronkioloalveoler karsinomda bronkopulmoner infiltrasyon nedeniyle hastalarda ilk planda

bronkopnömoni düşünülebilir. Akciğer grafisinde patoloji saptandığı zaman toraks bilgisayarlı tomografisi (BT) ile bulgular daha detaylı olarak değerlendirilir. Konvansiyonel BT'nin akciğer kanseri tanısında spesifitesi %80, sensitivitesi ise %60 iken yüksek rezolüsyonlu BT'de bu oranlar sırasıyla %100 ve %85'tir (15).

Kesin tanı için sitolojik veya histopatolojik inceleme gerekir. Bazı olgularda, yassı hücreli karsinomlarda olduğu gibi özellikle santral yerleşimli tümörlerde balgam sitolojisi tanı için yeterli olabilir. Balgam sitolojisinin sensitivitesi %65'tir (15). İmmünhistokimyasal çalışmalar (p53 ve kras mutasyonları, heterojen nükleer riboprotein A2/B1 ekspresyonu gibi) tanıyı destekleyebilir (15). Balgam sitolojisi negatif olanlarda veya kaliteli balgam örneği alınamayan hastalarda bronkoskopi büyük oranda yarar sağlar. Bronkoskopi, özellikle santral yerleşimli tümörlerde oldukça yol göstericidir. Fiberoptik bronkoskopi ile trakeobronşiyal yapı incelenip endobronşiyal lezyon ve/veya mukoza düzensizliği açısından değerlendirme yapılıp patolojik alanlardan biyopsi alınabildiği gibi transbronşiyal olarak mediastinal lenf nodlarından da biyopsi yapılabilir. Yine, bronş lavajı ve/veya fırçalama yoluyla sitolojik inceleme için örnek alınabilir. Transbronşiyal iğne biyopsisi özelikle evrelemede yararlı olan endoskopik ultrasonografi (EUS) ile birlikte yapıldığında daha uygun lenf nodundan biyopsi alınması sağlanabilir. Periferik yerleşimli lezyonlarda fluoroskopi veya günümüzde daha yaygın olan şekliyle BT eşliğinde transtorasik iğne aspirasyon biyopsisi ile tanı konulabilir. Plevral efüzyonu olan olgularda torasentez ile alınan plevral sıvı; görünüm, biyokimyasal özellikler (transuda/eksuda ayrımı) ve sitolojik inceleme açısından değerlendirilir. Metastatik hastalarda ise periferik lenfadenopati gibi kolay ulaşılabilecek yerlerdeki lezyonlardan biyopsi yapılarak maliynite tanısı konulduğu taktirde daha invaziv tanısal işlemlere gerek kalmayabilir.

Yukarıdaki işlemlerle tanı konulamayan hastalara mediastinoskopi, mediastinostomi, torakoskopi veya torakotomi yapılabilir. Aortopulmoner pencere ve çıkan aorta boyunca

uzanan lenf nodlarının değerlendirilmesinde genişletilmiş mediastinoskopi veya EUS eşliğinde iğne aspirasyonu yararlıdır (15).

1.7. Prognostik faktörler

Prognostik faktörler Tablo 1'de özetlenmiştir. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde en önemli prognostik faktörler; evre ve PS'dir (67). Yapılan çalışmalarda, erken evrede ve iyi PS'li (ECOG-PS <2) hastaların seyrinin daha iyi olduğu gösterilmiştir (67). Yirmibinden fazla hastanın değerlendirildiği bir çalışmada, sigara öyküsünün olmaması ve iyi performans durumu bağımsız prognostik faktörler olarak tanımlanmıştır (1). Scuiler ve ark, 12428 KHDAK'li hastanın dahil edildiği 100869 akciğer kanserli hastanın retrospektif değerlendirmesinde PS ve evreye ek olarak yaş ve cinsiyetin prognostik önemini vurgulamışlardır (67). Bu çalışmada; ileri yaş ve erkek cinsiyetin yanı sıra hiperkalseminin, aneminin ve lökositozun kötü prognostik faktörler olduğu bildirilmiştir (67). Laktat dehidrogenaz yüksekliği, küçük hücreli akciğer kanserinde daha çok prognostik öneme sahip olmasına rağmen KHDAK'de de prognozu olumsuz yönde etkileyebilir (68). Yassı hücreli kanserler daha çok lokal büyüme eğilimindedir ve prognozları uzak metastaz olasılığı daha yüksek olan diğer histolojilerden daha iyidir (1). Histopatolojik alttipe ve evreye göre yapılan bir değerlendirmede, evre IIIA yassı hücreli histopatolojik alttipin iyi prognozlu olduğu gösterilmiştir (67). Li ve arkadaşlarının çalışmasında, erken evre KHDAK'de yaş, cinsiyet ve tümör boyutunun yanı sıra rezeksiyon tipinin, lenf nodu rezeksiyonunun ve lenfovasküler invazyonun sağkalım üzerine olan etkisi bildirilirken başka bir çalışmada preoperatif yüksek karsinoembriyonik antijen düzeyinin, özellikle postoperatif dönemde yüksek seyretmeye devam eden hastalarda kötü prognozla ilişkili olduğu belirtilmiştir (69,70). Yine, ileri yaşın (>65 yaş), lenfovasküler invazyonun, tümör boyutunun büyük olmasının, mediastinal lenf nodu örneklemesinin ve lobektomi dışı cerrahilerin uygulanmasının sağkalımı olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir (69). Kemoterapi alan ileri evre KHDAK'li yaşlı hastalarda, tedavi

öncesi yaşam kalitesinin ve komorbiditelerin sağkalım üzerine etkili olduğu gösterilmiştir (71). Opere edilen evre I KHDAK'de tümör boyutunun büyük olmasının 5 yıllık hastalıksız ve toplam sağkalımı anlamlı olarak olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir (69). Evre 1B KHDAK'li hastalarda tümör içi vasküler invazyonun ve visseral plevra invazyonunun olması bağımsız kötü prognostik faktörler olarak tanımlanmıştır (72). Cerrahi uygulanan hastalarda 18F-fluorodeoksiglukoz pozitron emisyon tomografide (PET) hipermetabolik aktivite yoğunluğunun klinik seyirle korele olduğu saptanmıştır (70).

Birçok tümör baskılayıcı genin yer aldığı 3. kromozomun kısa kolundaki (3p) delesyonlar prognozu olumsuz yönde etkiler. Bcl-2, KHDAK'de iyi prognostik faktör olarak tanımlanırken TTF-1, siklooksijenaz 2 (COX2), EGFR, ras, ki67, Her2, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), mikrodamar yoğunluğu, p53 ve anöploidi kötü prognostik faktörlerdir (67). KHDAK'li kadın hastalarda özellikle SISH (*'silver in situ hybridisation'*) yöntemiyle saptanan yüksek her2/neu gen kopya sayısının hastalıkla ilişkili sağkalım açısından bağımsız belirleyici faktör olabileceği bildirilmiştir (73).

Epidermal büyüme faktörü reseptörü mutasyonlarının beyin metastazı olan KHDAK'li hastalarda bağımsız bir prognostik faktör olabileceği, bu hastalarda gerek TKI'nin gerekse radyoterapinin EGFR mutasyonu olmayanlara göre daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir (74).

Tablo 1: Prognostik faktörler

Tümör özellikleri	**Tümör biyolojisi ve kromozomal anomaliler**
Histolojik alt tip	Anöploidi
Tümör boyutu	P53
Greyd	Bcl-2
Evre	Tiroid transkripsiyon faktör-1 (TTF-1)
Damar invazyonu	Ras
Plevral efüzyon	Ki67
Metastaz sayısı	Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR)
Metastaz bölgeleri	HER2
Pozitron emisyon tomografisi bulguları	Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)
	Mikrodamar yoğunluğu
Hasta özellikleri	**Laboratuvar parametreleri**
Yaş	Lökositoz
Cinsiyet	Anemi
Performans status	Hiperkalsemi
Kilo kaybı	Hipoalbuminemi*
Sigara öyküsü	
Komorbiditeler	

*: Küçük hücreli akciğer kanserinde daha önemlidir.

1.8. Evreleme

Evrelemede AJCC (*'American Joint Committee on Cancer'*) tarafından düzenlenen TNM (*'tumor, node, metastasis'*) evreleme sistemi kullanılır. En son düzenlenen AJCC 7.baskı TNM evreleme sistemi günümüzde tercih edilen evreleme sistemidir (Tablo 2-3) (70).

Mediastinal lenfadenopatilerin değerlendirilmesi, tedavi modalitesinin belirlenmesinde oldukça önemlidir. Tümör hücrelerinin artmış metabolizmasına paralel olarak tümör hücreleri tarafından fazla glukoz tüketilmesi esasına dayanan PET evrelemede önemlidir (75). Günümüzde metabolik aktivitenin ve radyolojik görüntülemenin birlikte kullanıldığı PET-BT tercih edilmektedir. Yine; mediastinal lenfadenopatilerin, özellikle paratrakeal, anteroposterior pencere, subkarinal ve paraözefagiyal lenfadenopatilerin değerlendirilmesinde EUS bir başka seçenektir. Endoskopik ultrasonografi sensitivitesi %78-94 olarak bildirilirken spesifitesi %71 olarak bildirilmiştir (15).

Tablo 2: Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde TNM tanımlaması

Primer tümör (T)	
Tx	Primer tümör değerlendirilemiyor veya balgamda / bronş lavajında maliyn hücrelerin bulunması ama görüntülemede / bronkoskopide görülmemesi
T0	Primer tümör kanıtının olmaması
Tis	Karsinoma in situ
T1	Tümör (≤ 3 cm), akciğer veya visseral plevra ile çevrili, bronkoskopide lober bronştan daha proksimalde invazyon olmaması (yani, ana bronşta olmaması) * ***T1a*** *(≤ 2cm)* ***T1b*** *(2-3 cm)*
T2	Tümör (>3cm ve ≤ 7cm) *veya* aşağıdakilerden birinin olması; *ana bronş tutulumu, karinaya ≥2cm uzaklıkta yerleşim, visseral plevra invazyonu (PL1 veya PL2), atelektazi veya hiler bölgeye kadar uzanan ama akciğer girişini içermeyen obstrüktif pnömoniden birinin olması ***T2a*** *(≤ 5cm)* ***T2b****(<5cm ve ≤7cm)*
T3	Tümör (>7cm) *veya* aşağıdakilerden birinin olması; * pariyetal plevra (PL3), göğüs duvarı (superior sulkus tümörleri dahil), diyafram, frenik sinir, mediastinal plevra, pariyetal perikard invazyonundan birinin olması *veya* tümörün ana bronşta olması (karina tutulumu olmaksızın karinaya 2 cm'den daha yakın olması), atelektazi veya akciğer girişinde obstüktif pnömoni olması *veya* aynı lobda ayrı tümör nodül(leri) olması
T4	Herhangi bir boyuttaki tümörün aşağıdakilerden birine invazyonunun olması; mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, rekürren larengeal sinir, özefagus, vertebra korpusu, karina, aynı tarafta farklı lobda ayrı tümör nodül(leri) olması
Bölgesel lenf nodu (N)	
Nx	Bölgesel lenf nodu değerlendirilemiyor
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı olmaması
N1	Aynı tarafta peribronşiyal ve/veya hiler lenf nodu ve intrapulmoner lenf nodları; doğrudan uzanım sonucu tutulum dahil
N2	Aynı tarafta mediastinal ve/veya subkarinal lenf nod(ları)
N3	Karşı tarafta mediastinal, hiler ; aynı veya karşı tarafta skalen veya suprajkklavikuler lenf nod(ları)
Uzak metastaz (M)	
M0	Uzak metastaz olmaması
M1	Uzak metastaz olması (**M1a:** karşı tarafta bir lobda ayrı tümör nodül(leri), plevral nodül(ler) veya maliyn plevral (veya perikardiyal) efüzyonla birlikte olan tümör. **M1b:** uzak metastaz)

Tablo 3: Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde evreleme

	N0*	**N1***	**N2***	**N3***
T1a (≤ 2cm)	**IA**	**IIA**	**IIIA**	**IIIB**
T1b (>2cm, ≤ 3cm)	**IA**	**IIA**	**IIIA**	**IIIB**
T2a (>3cm, ≤ 5cm)	**IB**	**IIA**	**IIIA**	**IIIB**
T2b (>5cm, ≤ 7cm)	**IIA**	**IIB**	**IIIA**	**IIIB**
T3 (>7cm)	**IIB**	**IIIA**	**IIIA**	**IIIB**
T3 (invazyon)	**IIB**	**IIIA**	**IIIA**	**IIIB**
T3 (aynı lobda farklı nodüller)	**IIB**	**IIIA**	**IIIA**	**IIIB**
T4 (ekstansiyon)	**IIIA**	**IIIA**	**IIIB**	**IIIB**
T4 (aynı akciğerde farklı nodüller)	**IIIA**	**IIIA**	**IIIB**	**IIIB**
M1a (plevral efüzyon)	**IV**	**IV**	**IV**	**IV**
M1b (uzak metastaz)	**IV**	**IV**	**IV**	**IV**

1.9. Tedavi

1.9.1. Erken Evre Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Tedavisi

Erken evre KHDAK'nin standart tedavisi cerrahidir (69,76). Hastalığın yaygınlığının yanı sıra hastanın akciğer rezervi ve komorbid hastalıkları cerrahi kararını etkileyen en önemli faktörlerdir. Cerrahi sonrası nüks riskini azaltmak amacıyla adjuvan platin tabanlı kemoterapi uygulanmaktadır. Adjuvan kemoterapi rezeke edilen evre IIa, IIb ve IIIa hastalıkta önerilmektedir. Rezeke edilen evre Ib hastalıkta adjuvan kemoterapinin yeri tartışmalı olmakla birlikte tümörü 4cm'den büyük olan hastaların adjuvan tedaviden fayda görebileceği bildirilmiştir. Adjuvan kemoterapi ölüm riskinde %10-13 oranında azalma sağlar (77). Opere edilen hastalarda, cerrahiden veya cerrahi sonrasında uygulanan radyoterapiden sonra adjuvan kemoterapi uygulanmasının %4-5'lik mutlak sağkalım yararı sağladığı meta-analizlerde gösterilmiştir (77,78).

İlk çalışmalarda rezeke edilen olgularda adjuvan radyoterapinin lokal kontrolde önemli olduğu ancak sağkalımı olumsuz yönde etkilediği bildirilmesine rağmen günümüzde radyoterapi alanındaki ilerlemelere paralel olarak seçilmiş olgularda adjuvan radyoterapi uygulanabilmektedir. Rezeksiyona uygun ancak medikal olarak inoperabıl olan hastalarda definitif radyoterapi uygulanabilir. Bu hastalardan N1 hastalığı olanlarda kemoradyoterapi tercih edilebilir.

1.9.2. İleri Evre Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Tedavisi

Lokal ileri evre hastalıkta konkomitan kemoradyoterapi sonuçları radyoterapiden daha iyi bulunmuştur.

1.9.2.a. Cerrahi

Neoadjuvan tedaviye iyi yanıt alınan evre III hastalarda cerrahi uygulanabilir. Yine, seçilmiş evre IIIA olgularda doğrudan cerrahi uygulanabilir. Soliter beyin metastazı olan evre IV olgularda metastaz cerrahisinin sağkalıma katkısı olduğu düşünülmektedir.

1.9.2.b. Kemoradyoterapi ve radyoterapi

Lokal ileri evre, rezeke edilemeyen (özellikle N2 ve N3 hastalıkta) konkomitan kemoradyoterapi tercih edilmektedir. Rezeksiyona uygun olmayan hastalarda (T4 tümörler gibi) neoadjuvan kemoterapi veya kemoradyoterapi sonrasında iyi yanıt alındığı taktirde cerrahi uygulanabilir. Neoadjuvan kemoterapi sonrası hala inoperabıl olan hastalarda kemoradyoterapi uygulanır. Evre III hastalıkta radyoterapiye kemoterapi eklenmesinin lokal kontrol ve sağkalım oranlarını arttırdığı gösterilmiştir (79). Performans statusu iyi olan hastalarda konkomitan kemoradyoterapi sonuçları tek başına radyoterapiden ve ardışık uygulamadan daha iyi bulunmuştur. Konkomitan kemoradyoterapi ile lokorejyonel progresyonda anlamlı azalmayla birlikte beş yılda %4,5'lik mutlak sağkalım yararı sağlandığı bildirilmiştir (80).

Radyoterapi, metastatik hastalıkta daha çok palyatif amaçlı kullanılmaktadır.

1.9.2.c. Kemoterapi

İleri evre KHDAK'de platin tabanlı kombinasyon kemoterapisiyle kanserle ilişkili semptomlarda düzelmenin yanı sıra sağkalım avantajı sağlandığı gösterilmiştir (77,81). Bir meta-analizde, ileri evre KHDAK'de platin tabanlı kemoterapinin ölüm riskinde %27 oranında azalma, bir yıllık sağkalımda mutlak %10 oranında artış, medyan sağkalımda ise bir buçuk ay uzama sağladığı gösterilmiştir (77). İleri evre KHDAK'li hastalardan ERCC1 pozitif olanlar daha iyi seyirli olmasına rağmen bu hastalar platin tedavisine dirençlidir (82).

Adenokarsinomlu hastaların çoğunda ERCC1 negatif bulunmuştur (83). Platin yanına farklı kemoterapötik ajanların (gemsitabin veya taksan) eklenmesinin benzer etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (84). Platin içeren tedaviler kendi aralarında değerlendirildiğinde; performans statusu olan hastalarda sisplatin içeren tedavi sonuçlarının karboplatinli tedavilerden daha iyi olma eğiliminde olduğu bildirilmiştir (85). İleri evre KHDAK'de sisplatin ve gemsitabin kombinasyonu ile yanıt oranları %30-40, ortanca progresyona kadar geçen süre yaklaşık 5,5-7ay, toplam sağkalım ise 8,7-9,1 ay olarak bildirilmiştir (41). Platin tabanlı kemoterapi sonrası ikinci basamak kemoterapi olarak dositakselin etkili olduğu gösterilmiştir (86).

1.9.3. Hedefe yönelik tedaviler

1.9.3.a. Tirozin kinaz inhibitörleri

İleri evre KHDAK'de birinci basamak sitotoksik kemoterapi yanıtları açısından EGFR mutasyonu olanlarla olmayanlar arasında fark saptanmamıştır (54). Tek ajan EGFR-TKI alan ileri evre KHDAK'li hastaların değerlendirildiği bir meta-analizde, somatik EGFR mutasyonlarının EGFR-TKI yanıtını önceden belirlemede %78 sensitivite ve %86 spesifite ile EGFR gen kopya sayısından daha sensitif ve spesifik olduğunu bildirilmiştir (33).

EGFR-TKI yan etkileri; follikülit, diyare, cilt kuruluğu ve halsizliktir (39). Tirozin kinaz inhibitörleri tedavisi sırasında cilt toksisitesi gelişmesi ve toksisitenin ciddiyeti ile sağkalım arasında korelasyon saptanmıştır (87). Gefitinib tedavisi alan hastalarda interstisyel akciğer hastalığı insidansı %1'dir (48). Yan etkileri olmasına rağmen, EGFR-TKI'nin yaşlı hastalarda da güvenli olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (88).

Preklinik çalışmalarda EGFR-TKI'nin iyonize radyasyonun antitümör etkisini arttırabileceği gösterildikten sonra kemoradyoterapi ve EGFR-TKI uygulanmasının birlikte değerlendirildiği çalışmalar yapılmıştır. SWOG (*'Southwest Oncology Group'*) çalışmasında, kemoradyoterapi sonrasında adjuvan gefitinib tedavisi ile daha kötü sağkalım sonuçları

bildirilmiştir (89). Başka bir çalışmada, rezeke edilemeyen evre III KHDAK'li hastalar EGFR (ekzon 18-21) ve k-ras (ekzon 3) mutasyonları açısından değerlendirilip PS ve kilo kaybına göre risk gruplarına ayrılmıştır (51). İndüksiyon paklitaksel, karboplatin ve gefitinib tedavisi sonrasında iyi risk grubundaki hastalara kemoradyoterapi, kötü risk grubundakilere ise radyoterapi ve gefitinib, daha sonra ise tüm hastalara gefitinib idame tedavisi uygulanmıştır. Bu çalışmada; EGFR mutasyonu olanlarla olmayanlar arasında veya k-ras mutasyonu olanlarla olmayanlar arasında sağkalım farkı izlenmemiştir. İyi risk grubunda olmalarına rağmen konkomitan kemoradyoterapi ile birlikte gefitinib alan hastaların sağkalım sonuçları kötü bulunmuştur (51).

Yapılan çalışmalarda, ileri evre KHDAK'li hastalarda birinci basamak platin tabanlı kemoterapiye gefitinib eklenmesinin sağkalım avantajı olmadığı gösterilmiştir (41,42). TRIBUTE (*'Tarceva responses in conjuction with paclitaxel and carboplatin'*) ve TALENT (*'Tarceva lung cancer investigation'*) faz III çalışmalarında erlotinible birlikte veya tek başına platin tabanlı ikili kemoterapi kombinasyonu uygulandığında sadece sigara içmeyen hastalarda sağkalım avantajı görülmüştür (90,91). INTACT-1 çalışmasında, gemsitabin ve sisplatin, INTACT-2 çalışmasında ise paklitaksel ve karboplatin kombinasyon tedavisi sonrasında progresyona kadar gefitinib veya plasebo uygulandığında sağkalım ve yanıt oranları açısından fark bulunmamıştır (41,42). INTACT-2 çalışmasının alt grup değerlendirmesinde en az doksan gün kemoterapi alan adenokanserli hastalarda gefitinib (250mg/gün) ile tedaviye devam edilmesi durumunda sınırda sağkalım avantajı gösterilmiş olup gefitinib idame tedavisinin yararlı olabileceği bildirilmiştir (42). WJTOG3405 çalışmasında ise EGFR mutasyonları olan ileri evre veya rekürren KHDAK'li hastalara birinci basamak erlotinib veya sisplatin dositaksel tedavisi uygulandığında progresyonsuz sağkalımın erlotinib alanlarda daha iyi olduğu görülmüştür (92).

Tirozin kinaz inhibitörleri EGFR'nin intraselüler kısmının fosforilasyonunu önleyerek hücre büyümesinde, çoğalmasında, anjiyogenezde, tümör invazyonunda ve metastazında önemli rol oynayan ras/raf/MAPK ve PI3K/Akt yolaklarında sinyal iletimini bozar (2). Src ailesindeki protein kinazlar ras/raf/MAPK, PI3K/Akt ve STAT'lar üzerinden sinyal iletimini aktive ederek tümör büyümesine katkıda bulunur (93). Erk/Akt yolaklarının yanı sıra src ve ras yolaklarının aktivasyonu da TKI direnci gelişimine katkıda bulunabilir (52). Epidermal büyüme faktörü reseptörü somatik mutasyonları olan hücrelerde dasatinib gibi Src inhibitörlerinin etkili olduğu preklinik çalışmalarda gösterildikten sonra yapılan bir faz I/II çalşmada, ileri evre KHDAK'nde dasatinib ve erlotinib kombinasyonu ile hastalık kontrol oranı %63 olarak bildirilmiştir (93).

1.9.3.b. Monoklonal antikorlar

Epidermal büyüme faktörü reseptörü monoklonal antikorları EGFR'nin ekstraselüler kısmına bağlandığında reseptör dimerizasyonu önlenir, antikor-reseptör kompleksinin internalizasyonu indüklenerek reseptör düzeyinde azalma görülebilir (2,94). Setüksimab, immünglobulin G1 yapısında bir EGFR monoklonal antikorudur. Antikor bağımlı hücresel sitotoksisite ve kompleman bağımlı sitotoksisite yoluyla immünolojik etki gösterir (95). Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde setüksimab tedavisinden yarar görecek hastaların seçilmesinde yol gösterici parametrelere ihtiyaç vardır. Tirozin kinaz inhibitörlerinden farklı olarak, platin tabanlı kemoterapiye setüksimab eklenmesi sonucunda yanıt oranlarının ve sağkalımın arttığı bildirilmiştir (94). FLEX (*'first line erbitux in lung cancer'*) çalışmasında, daha önce kemoterapi almamış, EGFR ekspresyonu olan ileri evre KHDAK'li hastalara sisplatin ve vinorelbin kombinasyon kemoterapisi tek başına veya setüksimab ile birlikte uygulandığında sağkalım süresi setüksimablı kolda anlamlı olarak daha uzun (11,3 aya karşılık 10,1 ay) bulunmuştur (94). Ortanca progresyonsuz sağkalım süreleri 4,8 ay olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. Setüksimablı kolda yanıt

oranları (%36'ya karşılık %29) anlamlı olarak daha iyi saptanmış olup sonuçların batılı beyaz ırkta daha iyi olduğu gözlenmiştir (94). Wu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, hasta sayısı az olmasına rağmen gefitinibe yanıt vermeyen hastalarda EGFR mutasyonlarından bağımsız olarak setüksimabın yararlı olabileceği bildirilmiştir (96).

Vasküler endotelyal büyüme faktörü anjiyogenezde önemlidir. Hipoksi gibi çeşitli faktörler VEGF salınımını arttırarak tümör büyümesine katkıda bulunur. Bazı kanserlerin tedavisinde VEGF monoklonal antikorunun ve VEGF reseptörü tirozin kinaz inhibitörlerinin etkinliği gösterilmiştir. Sisplatin ve gemsitabin tedavisiyle birlikte VEGF monoklonal antikoru olan bevasizumabın birlikte kullanımının progresyonsuz sağkalımı ve yanıt oranlarını arttırdığı saptanmıştır (97). Preklinik çalışmalarda, VEGF ve EGFR yolakları arasında etkileşim olabileceği, VEGF artışının EGFR blokajına katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (35). Buradan yola çıkılarak, VEGF ve EGFR'nin birlikte blokajının yararlı olabileceği düşünülmüştür (35).

1.9.4. İdame tedavisi

Geçen yıl yayınlanan iki çalışmada, dört kür platin tabanlı kemoterapi sonrası pemetreksed veya dositaksel idame tedavileri ile progresyonsuz sağkalımda anlamlı uzama saptanmıştır. Toplam sağkalım süresi pemetreksed idame çalışmasında idame kolunda anlamlı olarak (13,4 aya karşılık 10,6 ay) daha uzun bulunmasına rağmen dositaksel idamesinde kollar arasında anlamlı fark saptanmamıştır (12,3 aya karşılık 9,7ay) (98,99). Bu çalışmaları takiben idame tedavisi olarak erlotinib etkinliği de değerlendirilmiştir. SATURN (*'Sequential tarceva in unresectable NSCLC'*) çalışmasında, 4 kür platin tabanlı kemoterapi sonrasında erlotinib idame tedavisi alan tüm hastalarda ve bu hastalardan EGFR ekspresyonu olanlarda progresyonsuz sağkalım süreleri (her ikisi için de 12,3 haftaya karşılık 11,1 hafta) arasında sadece 1 hafta fark olmasına rağmen aradaki fark anlamlı bulunmuştur ve gruplar arasında

yaşam kalitesi açısından fark izlenmemiştir. Toplam sağkalım açısından da anlamlı fark bulunmamıştır (100). Ancak, bu çalışmada EGFR mutasyonu olup erlotinib idamesi almayan hastaların bir kısmı progresyon gelişince erlotinib almıştır.

HASTALAR VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, Ocak 2004 ve Kasım 2009 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Cebeci Hastanesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda takip edilen, histopatolojik olarak KHDAK olduğu kanıtlanmış ileri evre 42 hasta alınmıştır. Doku biyopsisi ile tanı konulan hastaların yanı sıra sitolojik olarak tanı konulmuş ancak hücre bloğu elde edilmiş ve DNA dizi analizi için yeterli materyale sahip olan hastalar da çalışmaya dahil edilmiştir. Ocak 2004 ile Kasım 2009 tarihleri arasında kliniğimize başvuran ve takipleri kliniğimizce yapılan, kayıtlara göre KHDAK tanısı olan 513 hastanın dosyaları retrospektif olarak incelenmiştir. Beşyüzonüç hasta içinden erken evre KHDAK tanısı olanlar, dış merkezlerde tanıları konulduktan sonra tedavileri düzenlenmek üzere kliniğimize yönlendirilmiş olan hastalar, hücre bloğu hazırlanmaksızın sadece sitoloji ile tanı konulmuş olan hastalar, bir kez başvurup sadece destek tedavisi planlanmış ve sonrasında hiç gelmemiş olan hastalar, tedavileri merkezimizce planlanmış ancak sonraki takiplerine başka merkezlerde devam etmiş olan hastalar çalışma dışı bırakıldığında 68 hastanın çalışmaya uygun olabileceği düşünülmüştür. Altmışsekiz hastanın tanı sırasında hazırlanmış olan parafin blokları patolog ve sitopatolog eşliğinde değerlendirildiğinde ancak 52 hastanın patoloji materyallerinin çalışma için uygun olduğu görülmüştür. Tüm hastaların patoloji materyallerinin çalışma için yeterli olmamasının en önemli nedenleri arasında tanı sırasında alınan biyopsi materyallerinin az olmasının yanı sıra tanı sırasında yapılan immunhistokimyasal değerlendirmeler için kesitler hazırlanırken parafin bloklarda tümör dokusunun daha da azalmış olma olasılığı sayılabilir. Hücre bloğu olan hastaların da çoğuna immunhistokimyasal incelemeler yapıldığı için zaten az olan materyalin daha da azaldığı düşünülmüştür. Sonuç olarak, ileri evre KHDAK olup çalışmaya uygun olan ve yeterli materyale sahip olan 52 hasta DNA izolasyonu ve DNA dizi analizi açısından değerlendirilmiştir. Bu hastalardan 42'sinde doku biyopsisi, 10'unda ise hücre bloğu mevcut olup bunların parafin bloklarından 10-15 adet 5 μm kalınlığında kesitler elde

edilmiştir. Kesitler elde edildikten sonra 10 hastadan yeterli DNA izolasyonu yapılamadığı için geriye kalan 42 hastadan aşağıdaki yöntemlerle DNA izole edilip DNA dizi analizi yapılarak sık görülen EGFR somatik mutasyonları (ekzon 19 delesyonu, ekzon 21 L858R nokta mutasyonu), kras mutasyonları (ekzon 1-2 kodon 12, 13, 61 ve 64 mutasyonları) ve braf V600E mutasyonu (ekzon 15 T1799A) çalışılmıştır.

Hastalar retrospektif olarak klinikopatolojik özelliklerine, laboratuvar özelliklerine ve aldıkları tedavilere göre değerlendirilirken bu hastalarda; sık görülen EGFR somatik mutasyonları (ekzon 19 delesyonu, ekzon 21 L858R nokta mutasyonu), kras mutasyonları (ekzon 1-2 kodon 12, 13, 61 ve 64 mutasyonları) ve braf V600E mutasyonu (ekzon 15 T1799A) araştırılmıştır. Hastaların aldıkları tedaviler ve tedavi yanıtlarının saptanan mutasyonlarla muhtemel ilişkisi de değerlendirilmiştir.

Progresyona kadar geçen süre (TTP); tedavi başlangıcından progresyona kadar geçen süre, toplam sağkalım (OS) ise tanıdan ölüm tarihine veya son temas tarihine kadar geçen süre olarak belirlenmiştir.

Tanı sırasında sigara içmeye devam eden ve tanıdan önceki altı ay içinde sigara içme öyküsü olan hastalar hala aktif sigara içicisi olarak değerlendirilmiştir.

2.1. Parafin bloklardan DNA izolasyonu

Parafin bloktan DNA ekstraksiyonu için Qiaamp DNA mini kit kullanıldı.

1. Biyopsi materyalleri parafin bloklardan kazınıp steril eppendorflara alındı.
2. 500 µl ksilol eklendi, oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi.
3. Ksilol çekilip, 1000 µl % 70'lik etanol konuldu ve dakikada 12600 devir hızla 3dakika santrifüjlendi.
4. Alkol çekilip, 500 µl ksilol eklendi ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi.

5. Ksilol çekilip, 500 µl % 70'lik etanol konuldu ve tekrar dakikada 12600 devir hızla 3dakika santrifüjlendi.

6. Tüm etanol çekildi ve eppendorf kurumaya bırakıldı.

7. Kuruyan biyopsi materyali küçük parçalara ayrıldı, 180 µl ATL solüsyonu ve 20 µl proteinaz K konuldu, 56 C'de 1-3 saat süreyle (biyopsi solüsyonda eriyene kadar) inkübe edildi. Bu sırada biyopsi ara ara vortekslendi ve gerektiği zaman spinlendi (kısa süreli düşük devirde santrifüjlendi).

8. Eriyen biyopsi üzerine 200 µl AL tampon konularak 70 C'de 10 dakika inkübe edildi.

9. İnkübasyondan sonra örnekler kısa süreli santrifüjlendi ve üzerine 200 µl mutlak etanol eklendi.

10. Karışım vortekslendi, ardından bütün içerik filtreli tüpe aktarıldı.

11. Filtreli tüp dakikada 8000 devir hızla 1 dakika santrifüjlendi.

12. Filtreli tüpün altındaki toplama tüpü yenisiyle değiştirildi. 500 µl tampon AW1 konuldu.

13. Filtreli tüp dakikada 8000 devir hızla 1 dakika santrifüjlendi.

14. Filtreli tüpün altındaki toplama tüpü yenisiyle değiştirildi. 500 µl tampon AW2 konuldu ve dakikada 14000 devir hızla 3 dakika santrifüjlendi.

15. Filtreli tüpün altındaki toplama tüpü yenisiyle değiştirildi. Reajent (*'reagent'*) eklemesi yapılmadan dakikada 14000 devir hızla 1 dakika santrifüjlendi.

16. Filtreli tüpler ependorflara geçirildi ve 100 µl elüsyon (*'elution'*) tampon konularak 1 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

17. Materyal daikada 8000 devir hızla 1 dakika santrifüjlendi. Filtreli tüp atıldı, elüsyonun toplandığı ependorf alındı.

2.2. DNA dizi analizi ve gen mutasyonlarının çalışılması

İzole edilen DNA'lar polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi kullanılarak ilgili kaynaklarda belirtilen spesifik primerler ve kondisyonlarda çoğaltıldı (101-103). Çalışma sırasında; EGFR geni ekzon 19, 21; k-ras geni ekzon 1-2 kodon 12, 13, 61 ve 64 DNA dizi analizleri ve braf geni V600E (ekzon 15, T1799A) mutasyon analizi için ilgili primerler kullanılarak PCR reaksiyonları gerçekleştirildi.

Epidermal büyüme faktörü reseptörü ekzon 19 delesyonunun saptanması için PCR ile amplifiye edilen bölge poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) yürütülerek fragman boyları saptandı.

Tüm PCR ürünleri için elde edilen ürünler %1,5'lik agaroz jelde yürütüldü. Ardından PCR saflaştırılması için *'exo-sap'* eklenerek inkübasyona bırakıldı. Uygun primerler kullanılarak DNA sekanslama yöntemi (*'DNA sequencing PCR'*) ile DNA dizi analizi PCR'ları yapıldı, ardından sekans PCR ürünleri sigma sefadeks G50 (*'sigma sephadex G50'*) kullanılarak saflaştırıldı. Elde edilen ürünler *'ABI 3130 Genetic Analyzer'* cihazi kullanılarak DNA dizi analizi işlemine alındı.

2.2.a. Epidermal büyüme faktörü reseptörü DNA dizi analizinde kullanılan primerler

Epidermal büyüme faktörü reseptörü ekzon 19 delesyonunun saptanması için 5'-GCAATATCAGCCTTAGGTGCGGCTC-3' *'forward'* ve 5'-CATAGAAAGTGAACATTTAGGATGTG-3' *'reverse'* primerleri kullanılırken ekzon 21 mutasyonu için ise 5'CTAACGTTCGCCAGCCATAAGTCC-3' *'forward'* ve 5'GCTGCGAGCTCACCCAGAATGTCTGG-3' *'reverse'* primerleri kullanılmıştır (101).

2.2.b. k-ras geni DNA dizi analizinde kullanılan primerler

k-ras geni DNA amplifikasyonunda ekzon 1; 5' primeri 5'-ATGACTGAGTATAAACTTGT-3' ve 3' primeri 5'-TCGTACTCATCCTCAAAGTG-3'; ekzon 2; 5' primeri 5'CCTATAATGGTGAATATCTTCAAAT-3' ve 3' primeri 5'-CCTATAATGGTGAATATCTTCAAAT-3' primerleri kullanılmıştır. DNA sekanslama primerleri olarak; ekzon 1 için 5'-TCGTACTCATCCTCAAAGTG-3' primeri, ekzon 2 için ise 5'-CCTATAATGGTGAATATCTTCAAAT-3' primeri kullanılmıştır (102).

2.2.c. braf geni DNA dizi analizinde kullanılan primerler

Braf geni ekzon 15 için 5'-TCATAATGCTTGCTCTGATAGGA-3' *'forward'* primeri ile 5'-GGCCAAAAATTTAATCAGTGGA-3' *'reverse'* primerleri kullanılmıştır (103).

2.3. İstatistiksel yöntem

Hasta verilerinin analizi sırasında SPSS 10.0 programı kullanılmıştır. Sağkalım analizleri ve eğrileri Kaplan-Meier yöntemi ile yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesi sırasında *'student t testi'* kullanılmıştır. $P<0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

SONUÇLAR

Histopatolojik tanısı bizim merkezimizde konulup takipleri kliniğimiz tarafından yapılan, ileri evre veya metastatik KHDAK tanısıyla izlenen, patoloji parafin blokları EGFR somatik mutasyonları (ekzon 19 delesyonu, ekzon 21 L858R nokta mutasyonu), kras mutasyonları (ekzon 1-2 kodon 12, 13, 61 ve 64 mutasyonları) ve b-raf V600E mutasyonu (ekzon 15 T1799A) değerlendirilmesi açısından uygun olan 42 hasta retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Epidermal büyüme faktörü reseptörü ekzon 19 delesyonu olan üç hastadan biri takipte kayıp hasta olarak kabul edildiği için değerlendirmeler ve sağkalım analizleri 41 hastada yapılmıştır.

Tüm hastalarda EGFR somatik mutasyonlarına (ekzon 19 delesyonu, ekzon 21 L858R nokta mutasyonu), k-ras mutasyonlarına (ekzon 1-2 kodon 12, 13, 61 ve 64 mutasyonları) ve b-raf V600E mutasyonuna (ekzon 15 T1799A) yönelik DNA dizi analizi çalışıldığında; üç hastada (%7,14) EGFR ekzon 19 delesyonu, iki hastada (%4,76) k-ras ekzon 2 kodon 61 delesyonu ve bir hastada (%2,38) b-raf V600E mutasyonu saptanmıştır. Hiçbir hastada farklı mutasyonlar bir arada saptanmamıştır.

Hastaların çoğunluğunu 2008 ve 2009 yılında başvuran hastalar oluşturmuştur. Tüm hastaların ortanca takip suresi 26 ay (5-83) olarak hesaplanırken erlotinib alan 10 hastada bu süre 43 ay (23-83), almayanlarda ise 23 ay (5-61) olarak bulunmuştur. Hasta özellikleri Tablo 4'te sunulmuştur. Hastaların üçte ikisi erkek olup tüm hastalar için ortanca yaş 59 (37-81) olarak saptanmıştır. Medyan sağkalım süresi tüm hastalar için 17 $\pm$ 4 ay (9-25) olarak saptanmıştır. Yirmiüç hastada metastatik hastalık, 19 hastada ise lokal ileri evre hastalık olduğu görülmüştür. Progresyona kadar geçen süre ve genel sağkalım süreleri lokal ileri evre hastalığı olanlarda 13 $\pm$ 3 ay ve 26 $\pm$ 4 ay, metastatik hastalığı olanlarda ise 9 $\pm$ 2 ay ve 10 $\pm$ 5 ay olarak bulunmuştur (p=0.05 ve p=0.114) (Şekil 1a, 1b). Otuziki hastada ECOG-PS'nin kayıtlı olduğu, kayıtlı olanlar içinde ise çoğunda ECOG PS'nin '1' olduğu izlenmiştir.

Performans durumlarına göre TTP ve OS açısından değerlendirildiklerinde; bu değerler ECOG-PS'i 0 olan hastalarda 7 ± 1 ay ve 17 ± 1 ay; ECOG-PS'i 1 olanlarda ise 11 ± 1 ay ve 26 ± 6 ay bulunmuştur. Ancak, aradaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0.205 ve p=0.763).

En sık tercih edilen tanı yönteminin %40,5'lik oranla bronkoskopik biyopsi olduğu görülmüştür. Hastaların %64,2'sinin histopatolojisi adenokarsinom, bunların da %60'ı bronkioloalveoler karsinomla uyumlu bulunmuştur. Tümörler diferansiyasyon derecesine göre değerlendirildiğinde ise olguların %56,25'inde az diferansiyasyon, %31,25'inde orta derecede diferansiyasyon ve %12,5'inde iyi diferansiyasyon olduğu görülmüştür.

Hastaların %70'inde sigara öyküsünün bulunduğu, bunların %90'ının erkek olduğu ve ortanca yaşlarının 59 (37-76) olduğu saptanmıştır. Ortanca sigara tüketim oranı ise 30 paket-yıl (10-100) olarak hesaplanmıştır. Sigara içen hastaların %51,8'inin KHDAK tanısı almadan önce sigarayı bıraktıkları gözlenmiştir. Hastaların tanıdan önce sigarayı bırakma süresi ortanca 8 yıl (1-40 yıl) olarak hesaplanmıştır. Tanı sırasında sigara içmeye devam eden hastaların %76,9'u erkek, ortanca yaşlarının ise 59 (37-75) olduğu gözlenmiştir. Sigara tüketim miktarı ortanca 45 paket-yıl (25-100) olarak hesaplanmıştır. Tanı sırasında sigara içmeye devam eden hastalarda da en sık adenokarsinom (%46,1) histolojisinin olduğu görülmüştür.

Tanı sırasında en sık plevra tutulumu (%28,5), bunu takiben kemik (%25), beyin (%21,4), karşı akciğer (%21,4) ve surrenal (%10,7) metastazları olduğu dikkati çekmiştir. Hastaların % 26,2'sinde tanı sırasında veya sonradan beyin metastazı geliştiği saptanmıştır. Beyin metastazlarının %63,6'sının soliter veya oligometastaz şeklinde olduğu görülmüştür.

Tüm hastalar anemi, lökositoz, trombositoz, hiperkalsemi ve hipoalbuminemi açısından değerlendirildiklerinde; ortanca düzeyler hemoglobin için 13,4 g/dl (9,4-16), lökosit için 8500/mm3 (4870-21200), trombosit için 318000/mm3 (175000-1385000), kalsiyum için

9,4 mg/dl (7,92-10,51), albumin için ise 4,1g/dl olarak saptanmıştır. Erlotinib alan ve almayan hastalar arasında hemoglobin (ortalama 13,1 g/dl'e karşılık 12,8 g/dl), lökosit (ortalama 9471/mm3'e karşılık 11125/mm3), trombosit (ortalama 364100/mm3'e karşılık 334380/mm3), kalsiyum (ortalama 9,35 g/dl'e karşılık 9,13 g/dl) ve albumin (ortalama 3,98 g/dl'e karşılık 4,03 g/dl) açısından fark izlenmemiştir (p değerleri sırasıyla; 0,56; 0.26; 0,71; 0,45 ve 0,76).

Tablo 4: Hasta özellikleri

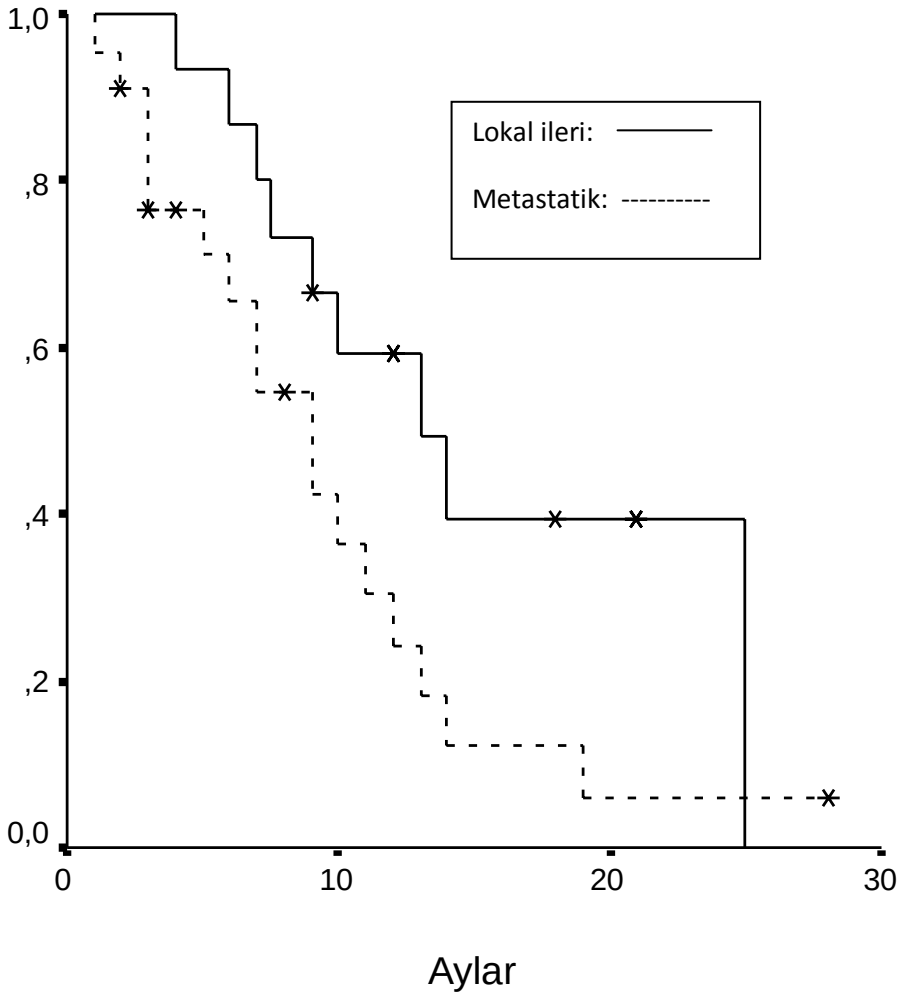
Erkek /kadın	28/14
Yaş (ortanca, aralık)	59 (37-81)
Sigara içme oranı (%)	70
Sigara miktarı (paket-yıl; ortanca, aralık)	30 (10-100)
Tanıdan önce sigarayı bırakma oranı (%)	51,8
Tanıdan önce sigaranın bırakılma zamanı (yıl; ortanca, aralık)	8 (1-40)
ECOG – PS* (n)	
0	10
1	19
Lokal ileri evre (n)	19
Evre IV (n)	23
Tanı yöntemi (%)	
Bronkoskopi	40,5
Transtorasik iğne aspirasyon biyopsisi	21,4
Plevra biyopsisi	9,5
Supraklavikuler lenf nodu biyopsisi	9,5
Diğer#	19,1
Histopatolojik alttip (%)	
Adenokarsinom§	64,3
Yassı hücreli karsinom	26,2
Diğer¤	9,5
Diferansiyasyon derecesi (%)	
Az diferansiye	56,25
Orta derece diferansiye	31,25
İyi diferansiye	12,5
Epidermal büyüme faktörü reseptörü ekzon 19 delesyonu (%)	7,14
k-ras ekzon 2 kodon 61 delesyonu (%)	4,76
b-raf V600E mutasyonu (%)	2,38
Erlotinib kullanma oranı (%)	23,8

*: *'Eastern Cooperative Oncology Group'*- performans statusu (genel durumu), 32 hastada kayıtlı

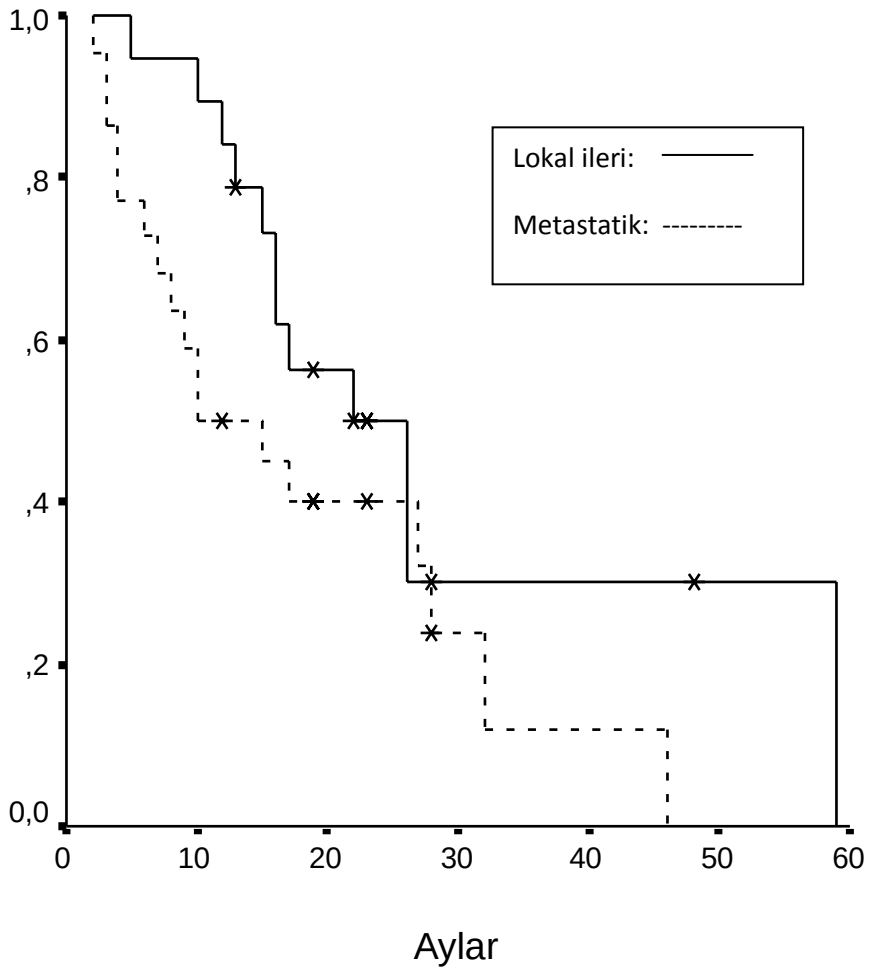
#: mediastinal lenf nodu biyopsisi (%7,1), bronş lavajı (%4,8), beyin kitle eksizyonu (%2,4), akciğer kitle rezeksiyonu (%2,4), kemik metastazı *'tru-cut'* biyopsisi (%2,4),

§: Bronkioloalveoler karsinom (%60)

¤: Alttiplendirme yapılmayan (%7,1), büyük hücreli kanser (%2,4)



Şekil 1a: Evreye göre progresyona kadar geçen süreler (p=0.05)



Şekil 1b: Evreye göre genel sağkalım süresi (p=0.114)

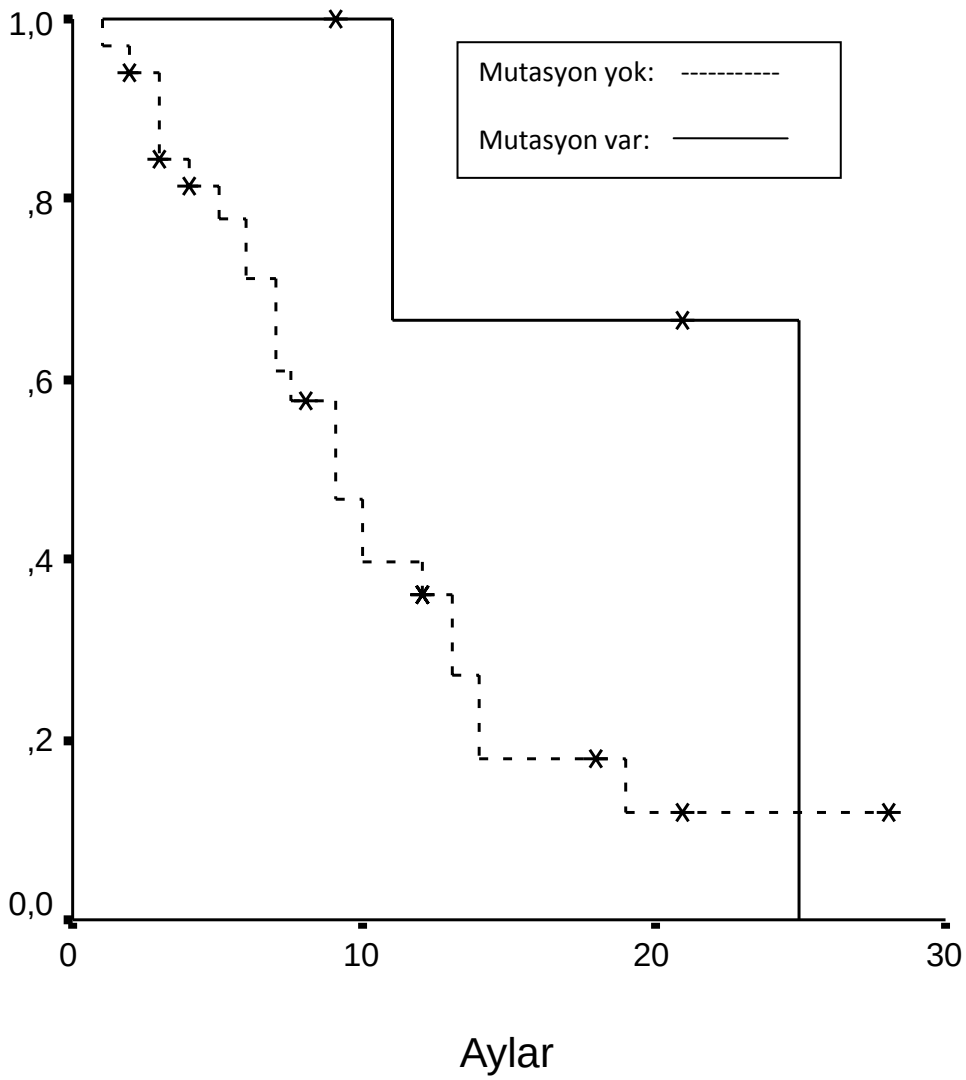
3.1. Epidermal büyüme faktörü reseptörü, k-ras ve b-raf mutasyonu olan hastaların sonuçları

Mutasyonu olan hastalarda progresyona kadar geçen süre ve genel sağkalım süresi 25 ± 5 ay ve 59 ± 11 ay olarak saptanırken; mutasyonu olmayanlarda 9 ± 1 ay ve 16 ± 2 ay olarak saptanmıştır (p=0.119 ve p=0.063) (Şekil 2a, 2b). Mutasyon saptanan beş hastadan EGFR ekzon 19 delesyonu olan iki hasta ve k-ras ekzon 2 kodon 61 delesyonu olan bir hasta erlotinib almıştır. EGFR ekzon 19 delesyonu olan üçüncü hasta, bir kür palyatif kemoterapi sonrasında takiplere gelmemiştir ve takipte kayıp hasta olarak kabul edilmiştir. Erlotinib alan ve EGFR ekzon 19 delesyonu olan iki hastada lokal ileri evre hastalık mevcuttu. Bu hastalardan ilki; 70 yaşında, sigara öyküsü olmayan, evre IIIA adenokarsinom tanısıyla opere edildikten 25 ay sonra nüks gelişmesi üzerine 4 kür sisplatin ve gemsitabin uygulanarak hastalık stabilizasyonu sağlanan bir kadın hasta idi. İki aylık tedavisiz takip sonrasında progresyon gelişen hastaya erlotinib başlandı ve iki aylık tedavi sonunda kısmi yanıt elde edildi. Greyd 2 cilt döküntüsü dışında toksisite gelişmeyen hastada toplam 16 ay erlotinib kullanımı ile hastalık kontrolü sağlanmıştır. Erlotinib kesildikten sonra 11 ay daha ciddi semptomu olmaksızın yaşamıştır. Toplam sağkalım süresinin 59 ay olduğu hesaplanmıştır. Diğer hasta ise 65 yaşında, 50 paket-yıl sigara öyküsü olan ve tanı sırasında sigara içmeye devam eden adenokarsinomlu bir erkek hasta idi. Dört kür neoadjuvan sisplatin ve gemsitabin kombinasyon kemoterapisi sonrasında tam yanıt elde edildikten sonra opere edilmiş, ardından hastaya 4 kür adjuvan sisplatin ve vinorelbin uygulanmıştır. Dokuz aylık hastalıksız sağkalım süresi sonunda nüks etmesi üzerine 6 kür karboplatin ve paklitaksel uygulanarak stabil yanıt sağlanmıştır. Tedavi kesildikten 6 ay sonra progresyon olmasından dolayı erlotinib başlanmıştır. Hastada tedavinin üçüncü ayında tam yanıt elde edilmiştir. Toplam 8 ay erlotinib kullanan hastada greyd 2 cilt döküntüsü dışında toksisite görülmemiştir. Sekiz aylık

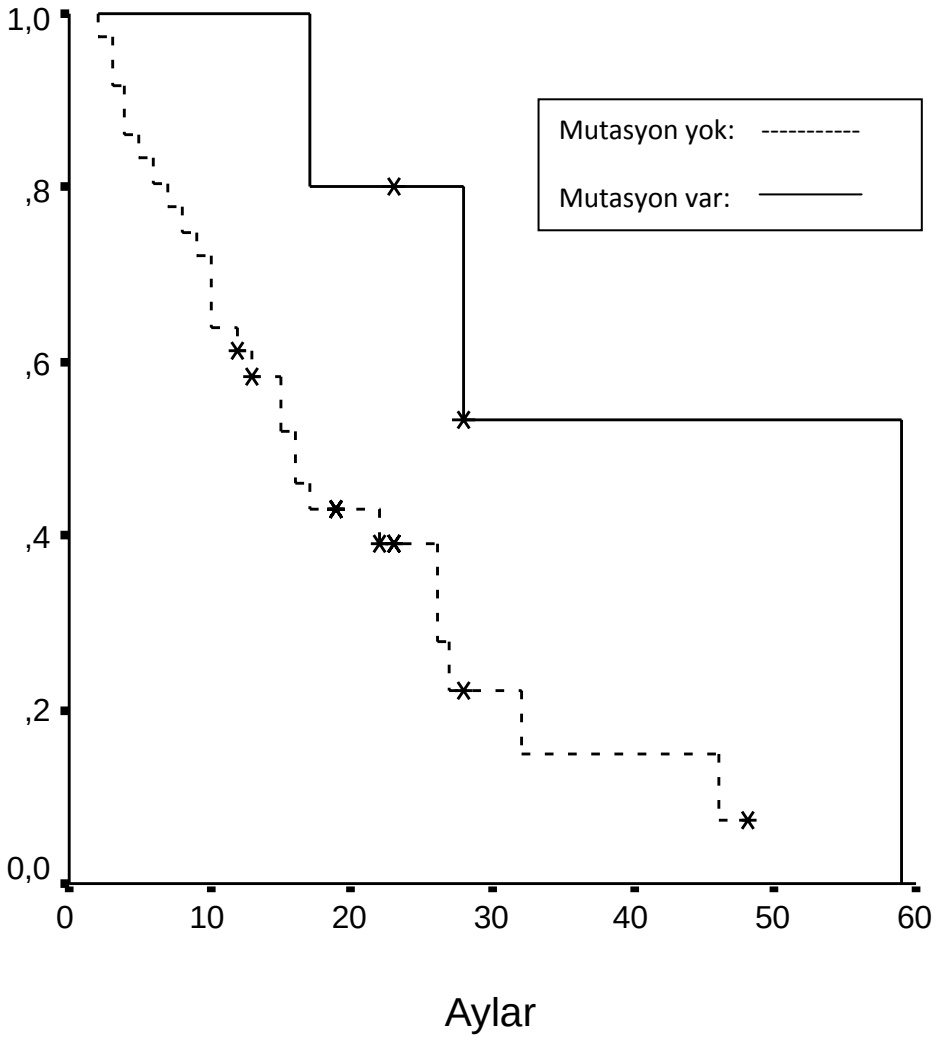
tedavi sonunda tekrar nüks etmesi üzerine sisplatin ve pemetreksed planlanmıştır. Henüz bu tedaviye başlamamış olan hastanın şu ana kadarki toplam sağkalım süresi 28 aydır.

K-ras ekzon 2 kodon 61 delesyonu saptanan iki hastadan birincisi; 57 yaşında, 25 paket-yıl sigara öyüsü olan ve tanıdan 8 yıl önce sigarayı bırakan bir erkek hasta idi. Lokal ileri evre yassı hücreli karsinom tanısıyla 3 kür neoadjuvan sisplatin ve gemsitabin sonrasında haftalık sisplatin (20mg/m2) ile birlikte kemoradyoterapi uygulanan hastada kısmi yanıt elde edilmiştir. Dokuz ay sonra progresyon gelişmesi üzerine hastaya ikinci basamak sisplatin ve dositaksel verilmiştir. Stabil hastalık ile takip edilirken 10 ay sonunda hastalık progresyonundan dolayı kaybedilmiştir. Hastanın toplam sağkalım süresi 19 ay olarak hesaplanmıştır. Evre IV olan diğer hasta ise 53 yaşında, sigara öyküsü bulunmayan, adenokarsinomlu bir kadın hasta idi. Tanıdan bir ay sonra kemoterapiyi kabul eden hastaya birinci basamak palyatif kemoterapi olarak 6 kür sisplatin ve gemsitabin uygulanmış olup kısmi yanıt elde edilmiştir. Onbir ay sonra progresyon gelişmesinden dolayı hastaya ikinci basamak tedavi olarak erlotinib verilmiştir. Greyd 2 cilt döküntüsü ve greyd 1 diyaresi olan hastada 3 ay sonunda hastalık stabilizasyonu sağlanmasına rağmen toplam 7 ay sonunda progresyon gelişmiştir. Erlotinib kesilip destek tedavisiyle takip edilen hasta 8 ay sonra kaybedilmiştir. Hastanın toplam sağkalım süresi 28 ay olarak hesaplanmıştır.

B-raf V600E mutasyonu olan hasta ise 62 yaşında, 50 paket-yıl sigara öyküsü olup tanıda sigara içmeye devam eden, tanı sırasında plevral efüzyonu olmaksızın plevral nodülleri olan adenokarsinomlu bir erkek hasta idi. Hastaya uygulanan sisplatin ve gemsitabin tedavisiyle primer lezyonda yanıt alınmasına rağmen tanı sırasında mevcut olan plevradaki nodüller stabil seyrettiği için bunların metastaz olmadığı düşünülerek hasta opere edilmiştir. Operasyondan sonra herhangi bir tedavi almayan hasta şu ana kadarki 22 aylık sağkalım süresiyle hala remisyondadır ve takiplerine devam etmektedir.



Şekil 2a: Mutasyon durumuna göre progresyona kadar geçen süre (p=0.119).



Şekil 2b: Mutasyon durumuna göre genel sağkalım (p=0,063).

3.2. Erlotinib alan hastaların özellikleri ve tedavi sonuçları

On hasta erlotinib almıştır. Hasta özellikleri Tablo 5'te sunulmuştur. Erkek / kadın oranı 0,42 (3/7) olarak hesaplanmıştır. Tüm hastaların histopatolojisi adenokarsinomla uyumlu olup alt tiplendirme yapılan hastaların %75'inde bronkioloalveoler karsinom olduğu saptanmıştır. İki hastada sigara öyküsü mevcuttu. Hastaların ortanca yaşı 58 (41-81) olarak hesaplanmıştır. Erlotinib ortanca ikinci (1-4) basamak tedavi olarak kullanılmıştır. Ortanca erlotinib kullanma süresi 7,5 (1-16) ay olarak hesaplanmıştır. Erlotinib alan hastalarda genel sağkalım süresi 28 $\pm$ 3 ay (22-34) olarak saptanırken, almayanlarda 15 $\pm$ 4 (8-22) olarak saptanmıştır (p=0.05) (Şekil 3). Bir hastada tam yanıt, 2 hastada kısmi yanıt, 4 hastada stabil yanıt sağlanırken 3 hastada progresyon izlenmiştir. Tam yanıt alınan hastada ve kısmi yanıt alınan bir hastada EGFR ekzon 19 delesyonu saptanırken, hastalık stabilizasyonu sağlanan hastalardan birinde k-ras ekzon 2 kodon 61 delesyonu olduğu izlenmiştir. Erlotinib alan hiçbir hastada b-raf V600E mutasyonu saptanmamıştır. Tam yanıt alınıp EGFR ekzon 19 delesyonu olan hastada ilginç olarak 50 paket-yıl sigara öyküsü olduğu ve tanı sırasında sigara içmeye devam ettiği gözlenmiştir.

Mutasyonu olmayıp progresyon izlenen üç hastanın ikisinde lokal ileri evre hastalık bulunurken birinde surrenal metastazı mevcuttu. Lokal ileri evre hastalığı olan hastalardan ilki 63 yaşında, tanıdan önce seyrek sigara öyküsü olan bir erkek hasta idi. Hastaya neoadjuvan olarak uygulanan sisplatin ve gemsitabin tedavisi ile stabil yanıt elde edildikten sonra kemoradyoterapi uygulanmış, 7 ay sonra progresyon izlenmiştir. Erlotinib tedavisini ikinci basamak olarak hastanın toplam sağkalım süresi 12 ay olarak hesaplanmıştır. Diğer hasta ise 46 yaşında, sigara öyküsü olmayan kadın hasta idi. Neoadjuvan sisplatin ve vinorelbin tedavisi ile hastalık stabilizasyonu sağlandıktan sonra hastaya ikinci basamak olarak dositaksel uygulanmıştır. Ondört ay sonra progresif hastalık nedeniyle üçüncü basamak tedavi

olarak erlotinib başlanan hastanın toplam sağkalım süresi 26 ay bulunmuştur. Surrenal metastazı olan hasta ise 67 yaşında bir erkek hasta idi. On paket-yıl sigara öyküsü olan hasta sigarayı tanıdan 40 yıl önce bırakmıştır. Metastatik hastalık nedeniyle platin, taksan, gemsitabin ve vinorelbin içeren üç basamak kemoterapi uygulandıktan sonra dördüncü basamak tedavi olarak erlotinib almıştır. Hastanın toplam sağkalım süresi 32 ay hesaplanmıştır.

Erlotinib alan hastalar toksisite açısından değerlendirildiğinde hiçbir hastada ciddi (greyd 3-4) toksisite gelişmediği saptanmıştır. Epidermal büyüme faktörü reseptörü ekzon 19 delesyonu olan hastalardan tam yanıt alınan hastada ve kısmi yanıt görülen diğer hastada greyd 2 cilt döküntüsü gözlenirken, k-ras ekzon 15 V600E mutasyonu olup stabil yanıt elde edilen hastada greyd 2 cilt döküntüsü ve greyd 1 diyare görülmüştür. Erlotinib alan 10 hastanın sekizi (%80) ortanca 27 ay (12-59) takip sonunda kaybedilmiştir. Tam yanıt sağlanan ve EGFR ekzon 19 delesyonu olan hasta ile herhangi bir mutasyon saptanmayıp kısmi yanıt sağlanan 53 yaşındaki kadın hasta hala hayattadır. İlk hastada 8 aylık tam remisyon sonrasında nüks gelişmiş olup, şu ana kadarki toplam sağkalım süresi 28 aydır. Hastaya planlanan sisplatin ve pemetreksed tedavisine değerlendirme yapıldığı sırada henüz başlanmamıştı. Diğer hastada ise 9 aylık progresyonsuz sağkalım sonunda progresyon gelişmesi üzerine bir ay önce sisplatin ve pemetreksed başlanmıştır, şu ana kadarki toplam sağkalım süresi 22 aydır.

Tablo 5: Erlotinib alan hastaların özellikleri

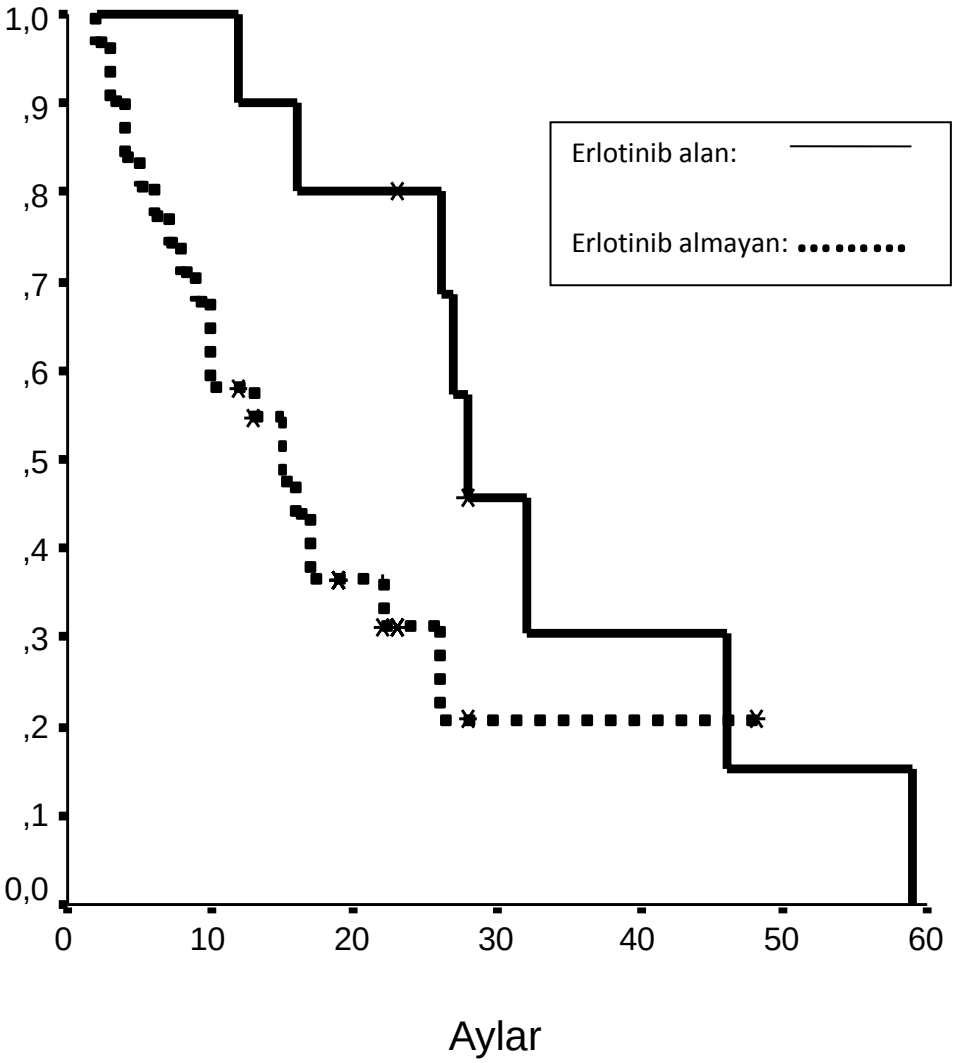
Erkek /kadın	3/7
Yaş (ortanca, aralık)	58 (41-81)
Erlotinib basamak sayısı (ortanca, aralık)	2 (1-4)
Takip süresi (ay; ortanca, aralık)	27 (12-59)
Sigara içmeme oranı (%)	80
ECOG – PS* (n)	
0	1
1	6
Lokal ileri evre (n)	5
Evre IV (n)	5
Histopatolojik alttip (n)	
Adenokarsinom§	10
Epidermal büyüme faktörü reseptörü ekzon 19 delesyonu (n)	2
k-ras ekzon 2 kodon 61 delesyonu (n)	1
b-raf V600E mutasyonu (n)	0
Erlotinib basamak sayısı (ortanca, aralık)	2 (1-4)
Erlotinib kullanma süresi (ay; ortanca, aralık)	7,5 (1-16)
Erlotinib tedavisi yanıtları	
Tam yanıt (n)	1
Kısmi yanıt (n)	2
Stabil yanıt (n)	4
Progresif hastalık (n)	3
Epidermal büyüme faktörü reseptörü ekzon 19 delesyonu olan hastalarda yanıtlar (n)	
Tam yanıt	1
Kısmi yanıt	1
K-ras ekzon 2 kodon 61 delesyonu olan hastanın yanıtı (n)	
Stabil yanıt	1
Toksisite (n)	
Greyd 2 cilt döküntüsü●	2
Greyd 1 diyare ve greyd 2 cilt döküntüsü¤	1

*: *'Eastern Cooperative Oncology Group'*- performans statusu (genel durumu); 7 hastada kayıtlı

§: Dört hastada adenokarsinom alttipi belirlenmiştir; bronkioloalveoler karsinom (n=3), müsinöz adenokarsinom (n=1)

●: EGFR ekzon 19 delesyonu (+), tam yanıt alınan hasta (n=1) ve kısmi yanıt alınan hasta (n=1)

¤: k-ras ekzon 2 kodon 61 delesyonu (+), stabil yanıt alınan hasta



Şekil 3: Erlotinib kullanımına göre genel sağkalım (p=0.05).

3.3. Monoklonal antikor veya başka tirozin kinaz inhibitörü tedavisi alan hastaların özellikleri ve tedavi yanıtları

Üç hasta kemoterapiyle birlikte monoklonal antikor, iki hasta ise bir VEGF reseptörü tirozin kinaz inhibitörü olan sorafenib almıştır.

Monoklonal antikor tedavisi alan hastalardan ilki; 3 kür neoadjuvan olarak sisplatin, pemetreksed ve VEGF monoklonal antikoru olan bevasizumab tedavisini alan adenokarsinom tanısıyla izlenen 57 yaşında bir erkek hasta idi. Hasta, neoadjuvan tedavi ile kısmi yanıt sağlandıktan sonra opere edilerek üç kür adjuvan pemetreksed ve dositaksel almıştır. Hastada 7 ay sonra surrenal metastazı gelişmiştir. Uygulanan ikinci basamak gemsitabin ve vinorelbin tedavisi sonrasında torakal bölgede paravertebral kitle, bunu takiben de beyin metastazı gelişmiş ve toplam 14 aylık sağkalım süresiyle progresyonu nedeniyle kaybedilmiştir. Diğerleri ise kemoterapiyle birlikte EGFR monoklonal antikoru olan setuksimab tedavisi alan 59 yaşında iki erkek hasta idi. Hastalardan biri evre IV hastalığı nedeniyle uygulanan 2 kür sisplatin, vinorelbin ve setuksimab tedavisi sonrasında febril nötropeni nedeniyle kaybedilmiştir. Diğer hastaya ise lokal ileri evre hastalık tanısıyla sisplatin, gemsitabin ve setuksimab verilmiştir. Dört kür sonunda stabil yanıt elde edilerek setuksimab idame tedavisi alan hasta 10 aylık progresyonsuz sağkalım ve şu ana kadarki 13 aylık toplam sağkalım süresiyle hayattadır.

Sorafenib alan iki hastadan biri sorafenibi lokal ileri evre hastalık tanısıyla ikinci basamak tedavi olarak alırken diğeri metastatik hastalık nedeniyle üçüncü basamak tedavi olarak almıştır. İkisinin de histopatolojisi adenokarsinomla uyumlu olup ikinci hastanın histopatolojik alttipi bronkioloalveoler karsinomdu. İlk hasta 64 yaşında bir erkek hasta idi. Hastada sorafenib tedavisinin ikinci ayında stabil yanıt elde edilmesine rağmen 4,5 ay sonunda progresyon gelişmiştir. Diğer hasta ise 44 yaşında bir kadın hasta idi. İki aylık

sorafenib tedavisi altında progresyon izlenmiştir. Her ikisinde de toksisite olarak greyd 2 cilt döküntüsü görülmüştür. Hastalar şu ana kadarki 23 ve 14 aylık toplam sağkalım süreleriyle takiplerine devam etmektedirler.

3.4. Tüm hastaların erlotinib dışında aldıkları tedaviler

Lokal ileri evre hastalığı olan 19 hastanın 3'ü tanı sırasında 5'i ise neoadjuvan kemoterapi sonrasında opere edilmiştir. Opere edilen 6 hasta ve kemoradyoterapi alan bir hasta adjuvan kemoterapi almıştır. Adjuvan kemoterapi alan yedi hastanın altısı aynı zamanda adjuvan radyoterapi de almıştır. Ondört hasta neoadjuvan kemoterapi almıştır. Neoadjuvan kemoterapide en sık kullanılan rejim platin ve gemsitabin kombinasyonu (%50) olmuştur. Neoadjuvan kemoterapi alan hastaların 5'i opere edilebilirken 9'u kemoradyoterapi almıştır.

Yirmidokuz hasta birinci basamak palyatif kemoterapi almıştır. Bu hastaların %65,5'i erkek, ortanca yaşları ise 58 (41-75) olarak saptanmıştır. Hastaların aldıkları ortanca kemoterapi siklusu sayısı 4 (1-7 kür), en sık tercih edilen kombinasyon rejimi ise neoadjuvan kemoterapide olduğu gibi platin ve gemsitabin kombinasyonu (%65,5) olmuştur.

TARTIŞMA

Klinik açısından etkinliği en iyi gösterilen mutasyonlar; EGFR'nin intraselüler tirozin kinaz kısmını kodlayan bölge (ekzon 18-21) ile ilgili olan aktive edici somatik mutasyonlardır (38,43,44).

Epidermal büyüme faktörü somatik mutasyonları Doğu Asyalılarda %30, Asyalı olmayanlarda ise %10'dan daha az sıklıkta görülür (3). Akciğer kanserinde EGFR mutasyonu oranı İspanya'da yapılan bir çalışmada %16,6 olarak saptanırken ISEL (*'Iressa Survival Evaluation in Lung Cancer'*) çalışmasında %12,1 olarak bildirilmiştir (49,104). Bizim çalışmamızda ise EGFR mutasyonu sıklığı %7,14 olarak saptanmış olup hastaların tamamında ekzon 19 delesyonu şeklinde ortaya çıkmıştır. İspanyolların yaptığı çalışmada da EGFR ekzon 19 delesyonu daha sık saptanmıştır (49). Bizim çalışmamızda, k-ras ekzon 2 kodon 61 delesyonu sıklığı %4,76; b-raf V600E mutasyonu sıklığı ise %2,38 olarak bulunmuştur. ISEL çalışmasında ise k-ras mutasyonu sıklığı %7,9 olarak saptanmıştır (104).

Türkiye'de KHDAK'de EGFR somatik mutasyonu sıklığı bilinmediği için bu çalışmanın ülkemizdeki ileri evre KHDAK'li hastalarda EGFR mutasyonunun yanı sıra k-ras ve braf mutasyonlarının sıklıklarının araştırıldığı ilk çalışma olmasından dolayı önemli olduğunu düşünüyoruz.

Literatürde sık görülen bir başka EGFR somatik mutasyonu olan EGFR ekzon 21 L858R nokta mutasyonu hastalarımızın hiçbirinde saptanmamıştır. Ancak, bu durum hasta sayısının az olmasıyla ilişkili olabilir. Yine, başka çalışmalarda da olduğu gibi EGFR mutasyonu olan hastalarımızın hiçbirinde beraberinde farklı mutasyonlar saptanmamıştır (51,104). Bizim çalışmamızda da literatüre paralel olarak, EGFR mutasyonu saptanan üç hastanın histopatolojisi adenokarsinomdu ve iki hastada sigara öyküsü yoktu (39,49,104,105). Aktif olarak hiç sigara içmemiş KHDAK'li hastalarda pasif içiciliğin (*'çevresel sigara*

dumanı maruziyeti') EGFR mutasyonlarıyla ters ilişkili olabileceği bildirilmiştir (105). Ancak, literatürde pasif içiciliğin yoğunluğu konusunda kriterler çok net olmadığı için çalışmaya dahil ettiğimiz hastalardan aktif sigara içicisi olmayanların ne kadarının gerçek anlamda 'pasif içici' oldukları ve bunların EGFR mutasyonu sıklığı üzerine olan olası etkileri netleştirilememiştir.

Epidermal büyüme faktörü reseptörü ekzon 19 delesyonu prognozu olumlu yönde etkilerken, k-ras ve b-raf mutasyonları olumsuz yönde etkiler. Bizim çalışmamızda, mutasyonu olan hastaların sağkalımı daha iyi görünmekle birlikte bu durum dört hastada lokal ileri evre hastalık bulunmasıyla açıklanabilir.

İleri evre KHDAK tedavisinde EGFR-TKI birinci basamakta veya sonraki basamaklarda uygulanabilir. INTEREST (*'Iressa NSCLC trial evaluating response and survival versus taxotere'*) çalışmasında, önceden platin tabanlı kemoterapi alan ileri evre KHDAK'li hastalarda gefitinibin dositakselden kötü olmadığı gösterilmiş, ancak EGFR gen kopya sayısı yüksek olanlarda gefitinib üstünlüğü de gösterilememiştir (106). Epidermal büyüme faktörü reseptörü aktive edici mutasyonu olan ileri evre KHDAK'li hastalarda birinci basamak tedavi olarak gefitinib veya karboplatin ve paklitaksel kombinasyon kemoterapisi uygulandığında gefitinib alanlarda progresyonsuz sağkalımın anlamlı olarak daha uzun olduğu bildirilmiştir (45,46). Bu çalışmada farklı toksisite profilleri izlenmiş olup EGFR mutasyonu olan ileri evre KHDAK'de birinci basamak gefitinib tedavisinin toksisite profilinin kabul edilebilir düzeyde olduğu vurgulanmıştır (45).

Rosell ve arkadaşları, erlotinibin birinci veya ikinci basamak tedavi olarak uygulanmasının sağkalım açısından fark yaratmadığını bildirilmişlerdir (49). Bizim çalışmamızda; 81 yaşında, adenokarsinomlu, sigara öyküsü olmayan bir kadın hastaya evre IIIA tanısıyla opere edilip adjuvan kemoterapisini aldıktan 14 ay sonra nüks gelişmesi üzerine

erlotinib tedavisi başlanmıştır. Bir aylık tedavi sonunda ciddi toksisite olmamasına rağmen hasta tedaviyi bırakmış ve 1 ay sonra da kaybedilmiştir. Bizim hastalarımız erlotinibi ortanca ikinci basamak olarak almışlardır ve birinci basamak tedavilerinde çoğunlukla platin tabanlı kemoterapiler kullanılmıştır. Hastalarımızın hiçbirinde ciddi toksisite görülmemiştir ve erlotinib tedavisi genel anlamda iyi tolere edilmiştir. Tirozin kinaz inhibitörlerinin kemoterapiyle ardışık olarak kullanılmasının etkinliğinin araştırıldığı çalışmalardan biri olan BR-21 çalışmasında ise önceden kemoterapi alan hastalara erlotinib verildiğinde toplam sağkalım (6,7 aya karşılık 4,7 ay) ve progresyonsuz sağkalım (2,2 aya karşılık 1,8 ay) açısından avantaj sağladığı gösterilmiştir (39). Bu çalışmada, erlotinib alan ve almayan hastaların yaklaşık beşte birinde EGFR ekspresyonu olduğu, erlotinib yanıtının ve sağkalımın başka çalışmalarda da olduğu gibi adenokanserli, Asyalı, sigara içmemiş kadın hastalarda anlamlı olarak daha iyi olduğu gösterilmiştir (39). Bizim çalışmamızda, erlotinib alan hastaların %90'ı adenokarsinomlu idi ve hastaların %20'sinde EGFR ekzon 19 delesyonu mevcuttu. Erlotinib alan hastalarımızla almayanlar arasında anlamlı sağkalım farkı bulunmuştur (28 $\pm$ 3 aya karşılık 15 $\pm$ 4 ay, p=0.05). ISEL çalışmasında, EGFR ekspresyonundaki artış ve yüksek EGFR gen kopya sayısının gefitinib etkisini önceden belirlemede önemli olduğu bildirilmiştir (104). Bizim hastalarımızın hiçbirinde EGFR gen kopya sayısı değerlendirilmemiştir.

Tirozin kinaz inhibitörleri, karsinogenezde önemli olan ras/raf/MAPK ve PI3K/Akt yolaklarında da sinyal iletimini bozarlar (2). Sinyal iletiminin bir yolaktan blokajı aynı tümör hücresinde diğer yolakların kompansatuvar olarak aktivasyonuna neden olabilir. Örneğin, k-ras mutasyonu muhtemelen EGFR'den bağımsız olarak MAPK yolağı üzerinden sinyal iletimini arttırarak gefitinib etkinliğini azaltabilir (29). Yani, EGFR somatik mutasyonlarının dışında sinyal iletiminin sonraki aşamalarında rol oynayan k-ras veya b-raf mutasyonlarının olması TKI etkinliğini azaltabilir. Bir metaanalizde, k-ras mutasyonlarının KHDAK'de

EGFR-TKI tedavisine yanıtsızlığın önceden belirlenmesinde yüksek oranda spesifik belirleyici (*'de novo rezistans'* olarak) olduğu bildirilmiştir (2,52). Bizim çalışmamızda; sigara öyküsü olmayan, k-ras ekzon 2 kodon 61 delesyonu olan 53 yaşındaki evre IV adenokarsinomlu kadın hastaya ikinci basamak olarak uygulanan erlotinib ile tedavinin üçüncü ayında stabil yanıt elde edilmesine rağmen 7 ay sonunda progresyon gelişmiştir.

ISEL çalışmasında b-raf mutasyonu bakılan hastaların hiçbirinde mutasyon saptanmadığı için bunun gefitinib tedavisi üzerine olan etkisi değerlendirilememiştir (104). Buna benzer olarak, bizim hastalarımızdan da erlotinib alanların hiçbirinde braf mutasyonu izlenmediği için braf mutasyonu ile erlotinib yanıtı arasında ilişki olup olmadığına dair yorum yapılamamıştır.

İki hastamız platin tabanlı kemoterapiyle birlikte setüksimab almıştır. İki hastada da herhangi bir mutasyon saptanmamıştır.

Hastalar kötü prognostik faktörler olarak anemi, lökositoz, trombositoz, hiperkalsemi ve hipoalbuminemi açısından da değerlendirilmiştir. Tüm hastalarımızda, erlotinib alanlarda veya almayanlarda saptanan ortanca ve ortalama değerler normal sınırlar içinde bulunduğu için bunların bizim hastalarımızdaki prognostik önemi ortaya konulamamıştır.

Sonuç olarak; bu çalışma ülkemizde ileri evre KHDAK'li hastalardaki EGFR ekzon 19 delesyonu, k-ras ve b-raf mutasyonlarının sıklığının araştırıldığı ilk çalışmadır. Mutasyon sıklıkları sırasıyla EGFR ekzon 19 delesyonu için %7,14 ; k-ras ekzon 2 kodon 61 delesyonu için %4,76 ve b-raf V600E mutasyonu için %2,38 olarak saptanmıştır. Kırkiki hastanın onu (%23,8) erlotinib tedavisi almıştır. Erlotinib tedavisi alan hastaların ikisinde EGFR ekzon 19 delesyonu ve birinde k-ras ekzon 2 kodon 61 delesyonu saptanmıştır. Ancak, bu mutasyonların bizim toplumumuz için prognostik ve prediktif öneminin daha iyi ortaya konulabilmesi için daha fazla hasta içeren prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

ÖZET

Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserli Hastaların Tümör Dokularında Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörünün (EGFR) Sık Görülen Mutasyonlarının Tedaviye Yanıt ve Prognozla İlişkisi

Giriş: Epidermal büyüme faktörü reseptörü mutasyonları KHDAK'de sık görülür ve EGFR tirozin kinaz inhibitörleri tedavisi için prediktiftir. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde k-ras mutasyonu kötü prognozla ilişkilidir, ancak b-raf mutasyonun etkisi net değildir. **Amaç:** İleri evre KHDAK'li hastalarda EGFR mutasyonlarının (ekzon 19 delesyonu, ekzon 21 L858R nokta mutasyonu) sıklığının yanı sıra k-ras ve braf mutasyonlarının sıklığını araştırmak, bunların tedavi yanıtları ve sağkalımla ilişkisini değerlendirmektir. **Hastalar ve Yöntem:** Ocak 2004 ve Kasım 2009 tarihleri arasında takip edilen 42 ileri evre KHDAK'li hasta çalışmaya alınmıştır. Hastalar EGFR, k-ras ve braf mutasyonları , klinikopatolojik özellikler, erlotinib alıp almama durumuna göre değerlendirilirken progresyona kadar geçen süre (TTP) ve toplam sağkalım (OS) açısından da değerlendirilmiştir. **Sonuçlar:** EGFR ekzon 19 delesyonu sıklığı %7,14 ; k-ras kodon 61 delesyonu sıklığı %4,76 iken b-raf V600E mutasyonu sıklığı %2,38 olarak saptanmıştır. Ortanca takip süresi tüm hastalarda 26 ay (5-83), erlotinib alanlarda 43 ay (23-83), almayanlarda ise 23 ay (5-61) olarak saptanmıştır. On hasta (%23,8) erlotinib tedavisi almıştır. Erlotinib tedavisi alan hastaların ikisinde EGFR ekzon 19 delesyonu, birinde k-ras kodon 61 delesyonu saptanmıştır. Hiçbir hastada EGFR ekzon 21 L858R nokta mutasyonu veya birden fazla mutasyon bir arada saptanmamıştır. Erlotinib alan hastalarla almayanlar arasında anlamlı sağkalım farkı saptanmıştır (28 $\pm$ 3 aya karşılık 15 $\pm$ 4 ay, p=0.05). Mutasyonu olan hastalarda TTP ve OS daha uzun bulunmasına rağmen aradaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0.119 ve p=0.06). Sonuç olarak; ülkemizde ileri evre

KHDAK'de EGFR, k-ras ve braf mutasyonları sıklığının araştırıldığı ilk çalışmadır ve erlotinib alan hastalarda sağkalım daha uzun bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri, EGFR, k-ras, b-raf.

ABSTRACT

The Relationship Between Common Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Mutations and Prognosis with Response To The Treatment in Advanced Stage Non-Small Cell Lung Cancer

Background: Epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations are common in NSCLC and they are predictive in EGFR tyrosine kinase inhibitor treatment. K-ras mutation is associated with poor prognosis in NSCLC, however role of b-raf mutation is not so clear. **Aim:** Evaluation of EGFR (exon 19 deletion, exon 21 L858R point mutation), k-ras and braf mutation rates besides their relationship with survival and response to the treatment. **Patients and Methods:** Forty-two advanced stage NSCLC patients followed-up between January 2004 and November 2009 were enrolled. They were evaluated for clinicopathological features, EGFR, k-ras and b-raf mutations, erlotinib treatment, time to progression (TTP) and overall survival (OS). **Results:** Mutation rates were as 7,14% for EGFR exon 19 deletion; 4,76% for k-ras codon 61 deletion and 2,38% for b-raf V600E mutation. Median folow-up was 26 months (5-83) for all patients. It was 43 months (23-83) for the patients who had erlotinib and 23 months (5-61) for those who did not. Ten (23,8%) patents had erlotinib. Two patients had EGFR exon 19 deletion and one patient had k-ras mutation among these patients. They had neither EGFR exon 21 point mutation nor different mutations together. There was significant survival difference between the patients taking erlotinib and the others (28 $\pm$ 3 months versus 15 $\pm$ 4 months, p=0,05). TTP and OS were longer in the patients who had mutations, however the difference was not significant (p=0,119 and p=0,06). **Conclusion:** This is the first study evaluating EGFR, k-ras and braf mutations in advanced stage NSCLC in our country. Survival of the patients who had erlotinib was longer.

Key words: Non-small cell lung cancer, EGFR, k-ras, b-raf.

KAYNAKLAR

1- Kawaguchi T, Takada M, Kubo A, et al. Performance status and smoking status are independent favorable prognostic factors for survival in non small cell lung cancer. A comphrehensive analysis of 26,957 patients with NSCLC. J Thorac Oncol 2010; 5: 620-30.

2- Linardou H, Dahabreh IJ, Kanaloupiti D, et al. Assesment of somatic k-ras mutations as a mechanism associated with resistance to EGFR-targetted agents: a systematic review and meta-analysis of studies in advanced non-small cell lung cancer and metastatic colorectal cancer. Lancet Oncol 2008; 9: 962-72.

3- Zhu J, Hong W, Zhang G, et al. Better survival with EGFR exon 19 than exon 21 mutations in gefitinib-treated non-small cell lung cancer patients is due to differential inhibition of downstream signals. Cancer Letters 2008; 265: 307-17.

4- Carey KD, Garton AJ, Romero MS, et al. Kinetic analysis of epidermal growth factor receptor somatic mutant proteins shows increased sensitivity to the epidermal growth factor receptor thyrosine kinase inhibitor erlotinib. Cancer Res 2006; 66: 8163-71.

5- Rodenhuis S, Slebos RJ, Boot AJ, et al. Incidence and possible clinical significance of k-ras oncogene activation in adenocarcinoma of the human lung. Cancer Res 1988; 48: 5738-41.

6- Mascaux C, Iannino N, Martin B, et al. The role of RAS oncogene in survival of patients with lung cancer: a systematic review of the literature with meta-analysis. British J Cancer 2005; 92: 131-9.

7- Youn CK, Kim MH, Cho HJ, et al. Oncogenic H-ras up-regulates expression of ERCC1 to protect cells from platinum-based anticancer agents. Cancer Res 2004; 64: 4849-57.

8- Sharma SG, Gulley ML. BRAF mutation testing in colorectal cancer. Arch Pathol Lab Med 2010; 134: 1225-8.

9- Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, et al. Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. N Engl J Med 2010; 363: 809-19.

10- http://globocan.iarc.fr (Erişim tarihi: 19.Ekim.2010)

11- Petrelli NJ, Winer EP, Brahmer J, et al. Clinical cancer advances 2009: major research advances in cancer treatment, prevention, and screening-- a report from the American Society of Clinical Oncology. J Clin Oncol 2009; 27: 6052-69. Epub 2009 Nov 9.

12- Göksel T, Yıldız P, Altın S, Başer S, Bayız H, Görgüner M, Yurdakul AS. Akciğer Kanseri. Türkiye'de Temel Akciğer Sağlığı Sorunları ve Çözüm Önerileri. Editör Metintaş M. Ankara, Sentez Matbaacılık ve Yayıncılık, Şubat 2010.

13- http://www.saglik.gov.tr; 2003-2004-2005 Kanser Kayıt İstatistikleri (erişim tarihi:2.Ekim.2010)

14- Linert T, Serke M, Schönfeld N. Lung cancer in young females. Eur Respir J 2000; 16: 986-90.

15- Schrump DS, Giaccone G, Kelsey CR, et al. Chapter 37.2 Non-small cell lung cancer. in De Vita, Hellman and Rosenberg's Cancer: Principles and Practice of Oncology. Ed. Vincent T DeVita, Theodore S Lawrence, Steven A. 8th edition. Philedelphia, Lippincot Williams & Wilkins, 2008.

16- Peto R, Darby S, Deo H, et al. Smoking, smoking cessasion, and lung cancer in the UK since 1950: combination of national statistics with two case-control studies. BMJ 2000; 321: 323.

17- Gorlova OY, Zhang Y, Schabath MB, et al. Never smokers and lung cancer risk: a case control study of epidemiological factors. Int J cancer 2006; 118: 1798.

18- Husgafvel-Pursiainen K. Genotoxicity of enviromental tobacco smoke: a review. Mutat Res 2004; 567: 427.

19- Horio Y, Tukuhushi T, Kuroishi T. Prognostic significance of p53 mutations and 3p deletions in primary resected nsclc. Cancer Res 1993; 53: 1-12.

20- Steenland K, Loomis D, Shy C, et al. Review of occupational lung carcinogens. Am J Ind Med 1996; 29: 474-90.

21- Şenyiğit A, Dalgıç A, Kavak O. Asbestin sağlığa etkileri. Dicle Tıp Dergisi 2004; 31: 48-52.

22- Tanvetyanon T, Bepler G. Beta-carotene in multivitamins and possible risk of lung cancer among smokers versus former smokers. Cancer 2008; 113: 150-7.

23- Chen FF, Yan JJ, Laj WW, et al. Epstein-Barr virus-associated nonsmall cell lung carcinoma: unfifferentiated 'lymphoepithelioma-like' carcinoma as a distinct entity with beter prognosis. Cancer 1998; 82: 2334-42.

24- Ciotti M, Giuliani L, Ambrogi V, et al. Detection and expression of human papillomavirus oncogenes in non-small cell lung cancer. Oncol Rep 2006; 16: 183-9.

25- Sion-Vardy N, Lasarov I, Delgado B, et al. Measles virus: evidence for association with lung cancer. Exp Lung Res 2009; 35: 701-12.

26- Yang Y, McKerlie C, Lu Z, et al. In vivo potential effects of adenovirus type 5 E1A and E1B on lung carcinogenesis and lymphoproliferative inflammation. J Virol 2008; 82: 8105-11.

27- Srinivasan M, Taioli E, Ragin CC. Human Papillomavirus type 16 and 18 in primary lung cancers- -a meta-analysis. Carcinogenesis 2009; 30: 1722-8. Epub 2009 Jul 20.

28- Nakanishi H, Suda T, Katoh M, et al. Loss of imprinting of PEG1/MEST in lung cancer cell lines. Oncol Rep 2004; 12: 1273.

29- Gefitinib in recurrent non-small cell lung cancer: An IDEAL trial? (Editorial) J Clin Oncol 2003; 21: 2227-9.

30- Pao W, Miller V, Zakowski M, 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 USA 2004; 101: 13306-11.

31- Cohen S, Ushiro H, Stocheck C, et al. A native 170000 epidermal growth factor receptor kinase complex from shed plasma membrane vesicles. J Biol Chem 1982; 257: 1523-31.

32- Chen WS, Lazar CS, Poenie M, et al. Requirement for intrinsic protein thyrosine kinase in immediate and late actions of the EGF receptor. Nature 1987; 328: 820-3.

33- Dahabreh IJ, Linardou H, Siannis F, et al. Somatic EGFR mutation and gene copy gain as predictie biomarkers for response to tyrosine kinase inhibitors in non small cell lung cancer. Clin Cancer Res 2010; 16: 291-303.

34- Pedersen MW, Meltorn M, Damstrup L, et al. The type III epidermal growth factor receptor mutation: biological significance and potential target for anti cancer therapy. Ann Oncol 2001; 12: 745-60.

35- Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer. N Engl J Med 2008; 359: 1367-80.

36- Bai H, Mao L, Wong HS, et al. Epidermal rowth factor receptor mutations in plasma DNA samples predict tumor response in Chinese patients with stage IIIB to IV non small cell lung cancer. J Clin Oncol 2009; 27: 2653-9.

37- Kato Y, Peled N, Wynes MW, et al. Novel epidermal growth factor receptor mutation spesific antibodies for non small cell lung cancer. Immunohistochemistry as a possible

screening method for epidermal growth factor receptor mutations. J Thorac Oncol 2010; 5: 1-8

38- Tsao MS, Sakurada A, Cutz J-C, et al. Erlotinib in lung cancer-molecular and clinical predictors of outcome. N Engl J Med 2005; 353: 133-44.

39- Shepherd FA, Pereira JR, Ciuleanu T, et al. Erlotinib in previously treated non small cell lung cancer. N Engl J Med 2005; 353: 123-32.

40- Fukuoka M, Yano S, Giaccone G, et al. Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small cell lung cancer. J Clin Oncol 2003; 21: 2237-46.

41- Giaccone G, Herbst RS, Manegold C, et al. Gefitinib in combination with gemcitabine and cisplatin in advanced non-small cell lung cancer: A phase III trial-INTACT 1 J Clin Oncol 2004; 22: 777-84.

42- Herbst RS, Giaccone G, Schiller JH, et al. Gefitinib in combination with paclitaxel and carboplatin in advanced non-small cell lung cancer: a phase III trial-INTACT 2. J Clin Oncol 2004; 22: 785-94.

43- Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, 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: 2129-39.

44- Paez JG, Janne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response with gefitinib therapy. Science 2004; 304: 1497-500.

45- Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. Gefitinib or chemotherapy for non small cell lung cancer with mutated EGFR. N Engl j Med 2010; 362: 2380-8.

46- Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. N Engl J Med 2009; 361: 947-57.

47- Hirsch FR, Varella-Garcia M, Bunn PA Jr, et al. Epidermal Growth Factor Receptor in Non–Small-Cell Lung Carcinomas: Correlation Between Gene Copy Number and Protein Expression and Impact on Prognosis. J Clin Oncol 2003; 21: 3798-807.

48- Uramoto H, So T, Nagata Y, et al. Correlation between HLA alleles and EGFR mutation in Japanese patients with adenocarcinoma of the lung. J Thorac Oncol 2010; 5: 1136-42.

49- Rosell R, Moran T, Queralt C, et al. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. N Engl j Med 2009; 361: 958- 67.

50- Takano T, Ohe Y, Sakamoto K, 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: 6829-37.

51- Ready N, Janne PA, Bogart J, et al. Chemoradiotherapy and gefitinib in stage III non small cell lung cancer with epidermal growth factor receptor and k-ras mutation analysis. Cancer and leukemia group B (CALEB) 30106, a CALGB-stratified phase II trial. J Thorac Oncol 2010; 5: 1382-90.

52- Zucali PA, Ruiz MG, Giovannetti E, et al. Role of cMET expression in non small cell lung cancer patients treated with EGFR tyrosine kinase inhibitors. Ann Oncol 2008; 19: 1605-12.

53- Ciardiello F, Tortora G. EGFR antagonists in cancer treatment. N Engl J Med 2008; 358: 1160-74.

54- Takano T, Fukui T, Ohe Y, et al. EGFR mutations predict survival benefit from gefitinib in patients with advanced lung adenocarcinoma: a historical comparison of

patients treated before and after gefitinib approval in Japan. J Clin Oncol. 2008; 26: 5589-95. Epub 2008 Sep 15.

55- Liu HP, Wu HDI, Chang JWC, et al. Prognostic implications of epidermal growth factor receptor and KRAS gene mutations and epidermal growth factor receptor gene copy numbers in patients with surgically resectable non small cell lung cancer in Taiwan. J Thorac Oncol 2010; 5: 1175-84.

56- Hirsch FR, Varella-Garcia M, Franklin WA, et al. Evaluation of Her-2/neu gene amplification and protein expression in non small cell lung carcinomas. Br J cancer 2002; 86: 1449-56.

57- Tsai CM, Chang KT, Perng RP, et al. Correlation of intrinsic chemoresistance of non small cell lung cancer cell lines with HER-2/neu gene expression but not with ras gene mutations. J Natl Cancer Inst 1993; 85: 897-901.

58- Shigematsu H, Takahashi T, Nomura M, et al. Somatic mutations of the HER2 kinase domain in lung adenocarcinomas. Cancer Res 2005; 65: 1642-6.

59- Cappuzzo F, Varella-Garcia M, Shigematsu H, et al. Increased HER2 gene copy number is associated with response to gefitinib therapy in epidermal growth factor receptor-positive non-small cell lung cancer patients. J Clin Oncol 2005; 23: 5007-18.

60- Fukuyama Y, Mitsudomi T, Sugio K, et al. K-ras and p53 mutations are an independent unfavourable prognostic indicator in patients with non-small cell lung cancer. Br J Cancer 1997; 75: 1125-30.

61- Martin B, Paesmans M, Berghmans T, et al. Role of Bcl-2 as a prognostic factor for survival in lung cancer: a systematic review of the literature with meta-analysis. Br J Cancer 2003; 89: 55-64.

62- Mitsudomi T, Steinberg SM, Mau MM, et al. P53 gene mutations in non small cell lung cancer lines and their correlation with the presence of ras mutations and clinical features. Oncogene 1992; 7: 171-80.

63- Karamouzis MV, Konstantinopoulos PA, Papavassiliou AG. Targeting MET as a strategy to overcome crosstalk-related resistance to EGFR inhibitors. Lancet Oncol 2009; 10: 709-17.

64- Naldini L, Vigna E, Narsimhan RP, et al. Hepatocyte growth factor (HGF) stimulates the tyrosine kinase activity of the receptor encoded by the protooncogene c-MET. Oncogene 1991; 6: 501-4.

65- Engelmen JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. Science 2007; 316: 1039-43.

66- Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non small cell lung cancer. N Engl J Med 2010; 363: 1693-703.

67- Sculier JP, Chansky K, Crowley JJ, et al. The impact of additional prognostic factors on survival and their relationship with the anatomical extent of disease expressed by the 6th edition of the TNM classification of malignant tumors and the proposals fort he 7th edition. J Thorac Oncol 2008; 3: 457-66.

68- Moore DF, Lee JS. Staging and prognostic factors: non-small cell lung cancer. Lung Cancer Principles and Practice. 1st Ed, Philadelphia, Lippincot Raven Publishers; 1996: 481-94.

69- Li Z, Yu Y, Lu J, et al. Analysis of the T descriptors and other prognosis factors in pathological stage I non-small cell lung cancer in China. J Thorac Oncol 2009; 4: 702-9.

70- American Joint Committee on Cancer. Chapter 25. Lung. 2010; 262-3.

71- Maione P, Perrone F, Gallo C, et al. Pretreatment quality of life and functional status assessment significantly predict survival of elderly patients with non-small cell lung cancer receiving chemotherapy: A prognostic analysis of the multicenter Italian lung cancer in the elderly study. J Clin Oncol 2005; 23: 6865-72.

72- Maeda R, Yoshida J,Ishii G, et al. Poor prognostic factors in patients with stage IB non-small cell lung cancer according to the seventh edition TNM classification. Chest 2010; Aug 19 (Epub ahead of print).

73- Al-saad S, Al-Shibli K, Donnem T, et al. Clinical significance of epidermal growth factor receptors in non small cell lung cancer and a prognostic role for HER2 gene copy number in female patients. J Thorac Oncol 2010, 5: 1536-43.

74- Eichler AF, Kahle KT, Wang DL, et al. EGFR mutation status and survival after diagnosis of brain metastasis in non small cell lung cancer. Neuro-Oncology 2010; 12: 1193-9. Epub 2010 June 13.

75- Reed CE, Harpole DH, Posther KE, et al. Results of the American college of Surgeons Oncology Group Z0050 trial: the utility of positron emission tomography in staging potentially operable non-small cell lung cancer. J Thorac Cardiovasc Surg 2003; 126: 1943.

76- Scott WJ, Howington J, Feigenberg S, et al. Treatment of non small cell lung cancer stage I and stage II: ACCP evidene-based clinical practice guideliness. (2nd edition). Chest 2007; 132: 234S-242S.

77- Non-small cell lung cancer collaborative group: chemotherapy in non-small cell lung cancer: A meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomised clinical trials. BMJ 1995; 311: 899-909.

78- NSCLC Meta-analyses Collaborative Group. Adjuvant chemotherapy, with or without postoperative radiotherapy, in operable non-small cell lung cancer: two meta-analyses of individual patient data. Lancet 2010; 375: 1267-77.

79- Dillman RO, Herndon J, Seagren SL, et al. Improved survival in stage III non small cell lung cancer: seven-year follow-up of Cancer and Leukemia Group B (CALBG) 8433 trial. J Natl Cancer Inst 1996; 88: 1210-5.

80- Auperin A, Le Pechoux C, Rolland E, et al. Meta-analysis of concomitant versus sequential radiochemotherapy in locally advanced non-small cell lung cancer. J Clin Oncol 2010; 28: 2181-90.

81- Pfister DG, Johnson DH, Azzoli CG, et al. American Society of Clinical Oncology treatment of unresectable non small cell lung cancer guideline: update 2003. J Clin Oncol 2004; 22: 330-53.

82- Olaussen KA, Dunant A, Fouret P, et al. DNA repair by ERCC1 in non small cell lung cancer and cisplatin based adjuvant chemotherapy. N Engl J Med 2006; 355: 983-91.

83- Vilmar AC, Santoni-Rugiu E, Sorensen JB. ERCC1 and histopathology in advanced NSCLC patients randomized in a large multicenter phase III trial. Ann Oncol 2010; 21: 1817-24.

84- Schiller JH, Harrington D, Belani CCP, et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small cell lung cancer N Engl J Med 2002; 346: 92-8.

85- Ardizzoni A, Boni L, Tiseo M, et al. Cisplatin versus carboplatin based chemotherapy in first line treatment of advanced non small cell lung cancer: an individual patient data meta-analysis. J Natl Cancer Inst 2007; 99: 847-57.

86- Shepherd F, Dancey J, Ramlau R, et al: Prospective randomized trial of docetaxel versus best supportive care in patients with non-small-cell lung cancer previously treated with platinum-based chemotherapy. J Clin Oncol 18:2095-2103, 2000.

87- Perez-Soler R, Chachoua A, Hammond LA, et al. Determinants of tumor response and survival with erlotinib in patients with non small cell lung cancer. J Clin Oncol 2004; 22: 3238-47.

88- Jackman DM, Yeap BY, Lindeman NI, et al. Phase II clinical trial of chemotherapy naive patients ≥ 70 years of age traetd with erlotinib for advanced non small cell lung cancer. J Clin Oncol 2007; 25: 760-6.

89- Kelly K, Chansky K, Gaspar LE, et al. Phase III trial of maintenance gefitinib or placebo after concurent chemoradiotherapy and docetaxel consolidation in inoperable stage III non small cell lung cancer: SWOG S0023. J Clin Oncol 2008; 26: 2450-6.

90- Herbst RS, Prager D, Hermann R, et al. TRIBUTE: Aphase III trial of erlotinib hydrochloride (OSI-774) combined with carboplatin and paclitaxel chemotherapy in advanced non small cell lung cancer. J Clin Oncol 2005; 23:5892-9.

91- Gatzemeier U, Pluzanska A, Szczesna A, et al. Phase III study of erlotinib in combination with cisplatin and gemcitabine in advanced non small cell lung cancer: The tarceva lung cancer investigation trial. J Clin Oncol 2007; 25:1545-52.

92- Mitsudomi T, Morita S,Yatabe Y, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non small cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial.

93- Haura EB, Tanvetyanon T, Chiappori A, et al. Phase I/II study of the Sr inhibitor dasatinib in combination with erlotinib in advanced non small cell lung cancer. J Clin Oncol 2010; 28: 1387-94.

94- Pirker R, Pereira JR, Szczesna A, et al. Cetuximab plus chemotherapy in patients with advanced non small cell lung cancer (FLEX): an open label randomised phase III trial. Lancet 2009; 373: 1525-31.

95- Naramura M, Gillies SD, Mendelsohn J, et al. Therapeutic potential of chimeric and murine anti-(epidermal growth factor receptor) antibodies in a metastasis model for human melanoma. Cancer Immunol Immunother 1993; 37: 343-9.

96- Wu JY, Yang CH, Hsu YC, et al. Use of cetuximab after failure of gefitinib in patients with advanced non small cell lung cancer. Clinical lung cancer 2010; 11: 257-63.

97- Reck M, von Pawel J, Zatloukal P, et al. Phase III trial of cisplatin plus gemcitabine with either placebo or bevacizumab as first-line therapy for non-squamous non-small cell lung cancer: AVAIL. J Clin Oncol 2009; 27: 1227-34.

98- Ciuleanu T, Brodowicz T, Zielinski C, et al. Maintenance pemetrexed plus best supportive care versus placebo plus best supportive care for non small cell lung cancer: a randomised, double blind, phase 3 trial. Lancet 2009; 374, 1432-40.

99- Fidias PM, Dakhil SR, lyss AP, et al. Phase III study of immediate compared delayed docetaxel after front line therapy with gemcitabine plus carboplatin in advanced non small cell lung cancer. J Clin Oncol 2009; 27: 591-8.

100- Cappuzzo F, Ciuleanu T, Stelmakh L, et al. Erlotinib as maintenance treatment in advanced non small cell lung cancer: a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. Lancet Oncol 2010; 11: 521-9

101- Cortes-Funes H, Gomez C, Rosell R, et al. Epidermal growth factor receptor activating mutations in Spanish gefitinib-tretaed non-small cell lung cancer patients. Ann Oncol 2005; 16: 1081-6.

102- Bai F, Nakanishi Y, Takayama K, et al. Codon 64 of k-ras gene mutation pattern in hepatocllular carcinomas induced by bleomycin and 1-nitropyrene in A/J mice. Teraog Carcinog Mutagen 2003; suppl 1: 161-70.

103- Mitsiades CS, Negri J, McMullan C, et al. Targeting BRAF V600E in thyroid carcinoma: therapeutic implications. Mol Cancer Ther 2007; 6: 1070-8.

104- Hirsch FR, Varella-Garcia M, Bunn PA, et al. Molecular predictors of outcome with gefitinib in a phase III placebo-controlled study in advanced non-small cell lung cancer. J Clin Oncol 2006; 24: 5034-42.

105- Lee YJ, Cho CC, Jee SH, et al. Impact of enviromental tobacco smoke on the incidence of mutations in epidermal growth factor receptor gene in never smoker patients with non-small cell lung cancer. J Clin Oncol 2009; 28: 487-92.

106- Kim ES, Hirsh V, Mok T, et al. Gefitinib versus docetaxel in previously treated non-small-cell lung cancer (INTEREST): a randomised phase III trial. Lancet 2008; 372: 1809-18.