



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ TIBBİ PATOLOJİ
ANABİLİM DALI

**YASSI EPİTEL HÜCRELİ AKCİĞER
KARSİNOMLARINDA İMMÜNOHİSTOKİMYA
VE FLORESAN İN SİTU HİBRİDİZASYON
(FISH) YÖNTEMLERİYLE FGFR1'İN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Düriye Betül Yılmaz



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ TIBBİ PATOLOJİ
ANABİLİM DALI

**YASSI EPİTEL HÜCRELİ AKCİĞER
KARSİNOMLARINDA İMMÜNOHİSTOKİMYA
VE FLORESAN İN SİTU HİBRİDİZASYON
(FISH) YÖNTEMLERİYLE FGFR1'İN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Düriye Betül Yılmaz

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gülay ÖZBİLİM

**Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TTU-2016-2026 Proje No ile desteklenmiştir.**

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2018

TEŞEKKÜR

Tıpta uzmanlık tezimin hazırlanma sürecinde bilgi ve deneyimleriyle katkıda bulunan, bana yol gösterici olan tez danışman hocam Prof. Dr. Gülay Özbilim'e,

Arşivden preparatların ve blokların temininde bana yardımcı olan Süleyman Dede ve Hacer Özgüven'e,

Parafin bloktan kesitlerin hazırlanmasında yardımını esirgemeyen Vedat GÖK'e, immünohistokimyasal boyamaları gerçekleştiren Hülya Akgül Yıldırım'a,

Moleküler çalışmalarını uygulayan Mualla Özcan ve Murat Billor'a

İstatistiksel analizin yapılmasındaki katkılarından dolayı Nevruz İlhanlı ve Hazal Taş'a,

Asistanlık yıllarım boyunca beraber çalıştığım araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Tıpta uzmanlık eğitimim boyunca üzerimde emeği olan tüm hocalarıma,

Eğitim hayatım boyunca bana her anlamda destek olan aileme teşekkür ederim.

.

Dr. Düriye Betül Yılmaz

Antalya, 2018

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Epidemiyoloji	4
2.2. Etyoloji ve Patogenez	6
2.3. Klinik bulgular	11
2.4. Histopatolojik sınıflama	12
2.5. Yassı Epitel Hücreli Akciğer Karsinomu	14
2.6. Akciğer Kanserlerinde evreleme	17
2.7. Genetik	19
2.8. FGFR	24
3. MATERYAL VE METOD	28
3.1. Etik Kurul	28
3.2. Hasta Seçimi ve Hazırlık	28
3.3. Floresan İn-situ hibridizasyon (FISH) yöntemi	29
3.4. FGFR1 İmmünohistokimyasal İnceleme Prosedürü ve Değerlendirilmesi	31
3.5. İstatistiksel Analiz	33
4. BULGULAR	34
4.1. Genel Klinik ve Patolojik Bulgular	34
4.2. İHK'sal Bulguların Klinikopatolojik Parametrelerle İlişkisi	41
4.3. FGFR1 Amplifikasyonunun Klinikopatolojik Parametrelerle İlişkisi	43
4.4. Sağ kalımın Klinikopatolojik Parametrelerle İlişkisi	47
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	55
7. ÖZET	57
8. ABSTRACT	59
9. KAYNAKLAR	61

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADK	Adenokarsinom
AJCC	Amerikan kanser komitesi
APC	Antijen sunan hücrelerce
ATS	Amerikan Toraks Derneği
ERS	Avrupa Solunum Derneği
AKT1	v-akt mürin timoma viral onkogen homolog 1
ALK	Anaplastik lenfoma kinaz
ark.	arkadaşları
BHK	Büyük hücreli karsinom
BHNEK	Büyük hücreli nöroendokrin karsinom
CTLA-4	T-lenfosit ilişkili antijen 4
DDR2	Discodain domain reseptör 2
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EGFR	Epidermal büyüme faktör reseptörü
FGFR1	Fibroblast büyüme faktörü reseptörü-1
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
FİSH	Floresans insitu hibridizasyon
GLOBOCAN	Dünya kanser veri tabanı
HE	Hematoksilen&Eozin
HGFR	Hepatosit büyüme faktörü reseptörü
HSPG	Heparin sülfat proteoglikan
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu
IASCL	Uluslararası Akciğer Kanseri Çalışma Grubu
İHK	İmmünohistokimya
KHAK	Küçük hücreli akciğer karsinomu
KHDAK	Küçük hücreli dışı akciğer karsinomu
KRAS	Kirsten sıçan sarkoma viral onkogen
KT	Kemoterapi
MALT	Mukoza ilişkili lenfoid doku

MET	Mezenkimal Epidermal Transisyon Faktörü
miRNA	Micro RNA
NGS	Yeni nesil sekanslama analizi
PD-1	Programlı hücre ölümü reseptörü 1
PD-L1	Programlı hücre ölümü reseptörü ligandı 1
PIK3	Fosfatidilinozitol 3-kinaz
PIK3CA	Fosfatidilinositol-4,5-bifosfat 3-kinaz katalitik alt birim alfa
PTEN	Fosfotaz ve tensin homologu
RET	Ret proto-onkogen
ROS 1	ROS proto-onkogen 1
SOX2	SRY (Cinsiyet belirleyici bölge Y)-box 2
TCGA	Kanser Genom Atlası Araştırma Ağı
TKİ	Tirozin kinaz inhibitörü
TNM	Tümör, lenf nodu, metastaz
UICC	Uluslararası Kanser Savaş Örgütü
YEHK	Yassı epitel hücreli karsinom
YEHAK	Yassı epitel hücreli akciğer karsinomu

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. YEHAK makroskopik örneği	14
Şekil 2.2. YEHAK'da tanımlanan, hedeflenebilir moleküler değişiklikler.....	20
Şekil 2.3. Fibroblast büyüme faktörü reseptörü yapısı ve sinyal yolları.....	25
Şekil 4.1. Hastaların tanı anındaki evrelerine göre dağılımı.....	36
Şekil 4.2. İyi derecede diferansiye YEHAK.....	39
Şekil 4.3. Orta derecede diferansiye YEHAK	40
Şekil 4.4. Kötü derecede diferansiye YEHAK.....	40
Şekil 4.5. Bazoloid tipte YEHAK	41
Şekil 4.6. YEHAK’ da FGFR1 ekspresyonu	42
Şekil 4.7. FISH ile FGFR1 amplifikasyonu “var”	44
Şekil 4.8. FISH ile FGFR1 amplifikasyonu “yok”	44
Şekil 4.9. Evre ve FGFR1 amplifikasyon durumu dağılımı.....	45
Şekil 4.10.Evreye göre hastaların genel sağ kalım grafiği.....	47
Şekil 4.11.FGFR1 amplifikasyon durumuna göre genel sağ kalım grafiği.....	48

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. Akciğer Karsinomunda Semptom ve Klinik Bulgular	11
Tablo 2.2. Akciğer tümörlerinin DSÖ 2015 sınıflandırması (5).....	13
Tablo 2.3. Akciğer karsinomlarının TNM sınıflaması (74).....	18
Tablo 2.4. Akciğer karsinomlarında evreleme (74).....	19
Tablo 4.1. Tanı verilen tetkiklerin dağılımı	34
Tablo 4.2. Tümör lokalizasyonlarının dağılımı	35
Tablo 4.3. T evresine göre hastaların dağılımı.....	37
Tablo 4.4. Tümör çapına göre hastaların dağılımı	37
Tablo 4.5. Cerrahi olan ve olmayan hastaların dağılımı.....	38
Tablo 4.6. Çalışmadaki hastaların aldıkları tedavilerin dağılımı	38
Tablo 4.7. FGFR1 H skoru ve FGFR1 amplifikasyon ilişkisi.....	43
Tablo 4.8.FGFR1 amplifikasyon durumuna göre klinikopatolojik parametreler	46

1. GİRİŞ

Tanı, tedavi ve önleyici faktörler ile mücadelelerdeki gelişmelere rağmen akciğer kanseri dünyada en sık görülen ve kansere bağlı ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer alan malignitedir. GLOBOCAN verilerine göre, dünyada 2018 yılında yaklaşık 2,1 milyon (%11,6) yeni tanı akciğer kanseri vakası beklenmekte ve 1,8 milyon (%18,4) kişinin akciğer kanseri nedeniyle yaşamını kaybedeceği öngörülmektedir (1).

Akciğer kanserinin spesifik semptomlarının olmaması nedeniyle hastalar orta ya da geç evrelerde tanı almakta, %57 sinde tanı anında uzak metastaz saptanmaktadır. Son yıllarda gittikçe gelişen tanı yaklaşımları, tedavi seçenekleri ve cerrahi tekniklere rağmen prognozu kötü olup, bu hastaların çoğunun 5 yıllık sağ kalım oranı yaklaşık %18 civarında seyretmektedir (2).

Akciğer kanserleri, tedavi ve prognozları bakımından küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) (%10-20) ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) (%80-90) olarak sınıflandırılmaktadır. KHDAK'ları, yassı epitel hücreli akciğer karsinomu (YEHA), adenokarsinom (ADK) ve büyük hücreli karsinom (BHK) olmak üzere başlıca üç tiptir (3).

Akciğer kanserinde son dekatda hem patogenezi anlama hem de tedavi yaklaşımlarını belirlemede büyük gelişmeler yaşanmıştır. Akciğer karsinogenezi çok basamaklı bir süreç olup, pek çok genetik değişiklik tanımlanmıştır. Kanser hücrelerinde kanserin başlangıcından ve gelişiminden sorumlu olan mutasyon, amplifikasyon, intrakromozomal ya da interkromozomal translokasyonlar yolu ile bazı anahtar genlerin aktive olduğu bilinmektedir. Bu genetik değişikliklere “driver (sürücü)” mutasyonlar denilmektedir. Özellikle epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), Kirsten sıçan sarkoma viral onkogen (KRAS), anaplastik lenfoma kinaz (ALK) ve ROS proto-onkogen 1 (ROS1) gibi moleküler değişiklikler genel olarak akciğer kanseri için “driver” mutasyon kabul edilmekte ve bu mutasyonların neredeyse tümü ADK'da görülmektedir. Sürücü mutasyonlara/genetik değişikliklere sahip tümörler, oluşan gen ürünlerini hedefleyen tedavilere karşı oldukça hassastır. Hedefe yönelik ajanlara ek olarak PD-1 ve PD-

L1 yolağını hedef alan immünoterapötiklerin KHDAK'larının tedavisinde yer bulması son birkaç yılın en popüler onkolojik gelişmeleri arasındadır (4).

Akciğer kanserinde histolojik alt tipler hala tümör sınıflandırması ve tedavisinin temelinde olmasına rağmen, akciğer kanserinin genetik bir hastalık olduğunun kabul edilmesi, moleküler kriterlere göre kanser sınıflamalarını yeniden yapılandırmaya neden olmuştur. Özellikle ileri evre akciğer kanserinde, tümördeki spesifik histolojik ve moleküler özellikler, kişiye özel hedeflenmiş tedavilere (özellikle tirozin kinaz inhibitörleri (TKİ)) olan duyarlılık veya direnci belirlemede kritik öneme sahip olup hem tedavi yaklaşımını hem de prognozu önemli ölçüde etkilemektedir. Bu nedenle patoloğların KHDAK'nun spesifik patolojik alt tiplerinin tanısı daha da bir önem kazanmış ve en son 2015 yılında yayınlanan Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne ait yeni sınıflama sistemi rutin hasta takibinde kullanılmaya başlanmıştır (5-6).

KHDAK'nın %20-30 oranında, ikinci sıklıkta görülen histolojik alt tipi olan YEHK, bronş epitelinde skuamöz metaplazi/displazinin ilerlemesiyle gelişen, sigara ile ilişkili, genelde santral yerleşimli ve kavitasyon oluşturma özelliği bulunan tümörlerdir (7). Akciğer ADK'larında son yıllarda hedefe yönelik tedaviler ve immünoterapideki gelişmeler ile uzun süreli yanıt ve sağ kalım elde edilmiştir. Ancak YEHA' da tedavi seçenekleri daha sınırlı olup sitotoksik ajanlar kullanılmaktadır. Saptanan öncü mutasyonların bir kısmı ilaç geliştirme aşamasında olup, tümörde bu mutasyonların bakılması klinik pratiğe henüz girmemiştir. Günümüzde onaylanmış bir hedefe yönelik tedavi ajanı bulunmamaktadır (8-10).

YEHA' da prognozu ve bireyselleştirilmiş tedaviyi belirlemek için, büyüme faktörleri ve sinyal ileti yollarıyla ilgili genlerdeki amplifikasyonlar ve mutasyonlar günümüzde yoğun olarak araştırılmaktadır. PIK3CA (Fosfatidilinositol-4,5-bifosfat 3-kinaz katalitik alt birim alfa), FGFR1 (Fibroblast büyüme faktörü reseptörü-1), PTEN (Fosfotaz ve tensin homoloğu), SOX-2 (SRX (Cinsiyet belirleyici bölge Y)-box 2) ve DDR2 (Discodain domain reseptör 2) mutasyonları YEHA' da başlıca tanımlanmış hedef moleküller olup bu mutasyonları hedef alan ilaç çalışmaları devam etmektedir (8-10).

FGFR1 son zamanlarda popüler kanser driver genlerinden biri haline gelmiştir. İlk defa 2010 yılında, Alman bilim adamı Weiss ve ark. YEHAK spesmenlerinde, bu gende çok sayıda amplifikasyon olduğunu saptamışlardır (11). FGFR'ler 4 gen (FGFR1, FGFR2, FGFR3 ve FGFR4) tarafından kodlanan reseptör tirozin kinaz ailesine mensuptur. Fibroblast büyüme faktörleri (FGF) için hücre yüzey reseptörü görevi görmekle birlikte embriyonel gelişim, hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu ve migrasyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynarlar (12-13). FGFR1 kromozom 8p12'de lokalizedir. FGFR1'in aktivasyonu veya amplifikasyonu oral bölge ve özefagus yassı epitel hücreli kanserlerinde (YEHK), over kanserlerinde, mesane kanserlerinde, prostat kanserlerinde ve akciğer kanserlerinde saptanmıştır (13-14). Gittikçe artan klinik veriler, FGFR1 sinyalizasyonunun inhibe edilmesinin, hem in vivo hem de in vitro, anti-proliferatif ve/veya proapoptotik etkilerle tümör çapında anlamlı azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Bu da FGFR inhibitörlerinin FGFR1 amplifikasyonu bulunduran YEHAK'da etkili bir terapötik seçenek olabileceklerini destekler niteliktedir. Bununla ilgili pek çok devam eden çalışma mevcut olup çeşitli FGFR1 TKİ'leri klinik geliştirme aşamasındadır (8).

FGFR1 amplifikasyonunun YEHAK ile ilişkisi hakkında birçok araştırma yapılmasına rağmen, FGFR1'in net amplifikasyon oranı ve sağ kalıma etkisi henüz anlaşılamamıştır (15). Kimi çalışmalar FGFR1 amplifikasyonu bulunduran YEHAK hastalarının kötü prognoza sahip olduğu sonucuna varırken, kimi çalışmalar da FGFR1'in prognozla ilişkisiz olduğunu savunmaktadır (16). Patolojik bulguların, klinik özelliklerin ve immünohistokimyasal (İHK) bulguların daha kalabalık hasta popülasyonları üzerinde araştırılmasına ihtiyaç vardır. Biz çalışmamızda YEHAK tanısı almış 130 hastada FGFR1 amplifikasyonunun sıklığını belirleyip klinik parametrelerle karşılaştırarak, hasta sağkalımına etkisini ve prognostik önemini gözden geçirmek, İHK'sal bulguların FISH ile korelasyonunu değerlendirmek ve bu şekilde literatüre katkı sağlamayı amaçlamaktayız.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Epidemiyoloji

Akciğer kanseri, yirminci yüzyılın başlarında nadir bir hastalık iken, özellikle sigara kullanımının artmasına bağlı olarak insidansı giderek artış gösteren, mortalite ve morbidite yükü nedeni ile önemli bir halk sağlığı problemidir (17-18). Dünya genelinde akciğer kanseri, en sık görülen ve en sık ölüme neden olan kanserdir. Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu (International Agency for Research on Cancer-IARC) tarafından yayınlanmış olan 2018 yılı küresel kanser istatistiklerine göre akciğer kanseri yılda toplam 2.09 milyon yeni tanı almış olgu ile tüm kanserlerin 11,6'sını oluşturmakta ve 1.76 milyon (tüm kanser ölümlerinin %18,4 kadarı) kişinin ölümüne neden olmaktadır (1). DSÖ'nün belirlediği 2016 yılında ölüme neden olan en sık 10 neden içerisinde iskemik kalp hastalığı, inme, obstrüktif akciğer hastalığı, alt solunum yolu enfeksiyonları ve demanstan sonra 6. sırada akciğer kanseri yer almaktadır (19).

Günümüz verilerine göre akciğer kanseri erkeklerde en sık rastlanan kanser olup 1.36 milyon yeni olgu ile tüm kanserlerin %14,5'inden sorumludur. Yaşa standardize edilmiş insidans oranlarının en yüksek olduğu ülkeler sırasıyla Mikronezya (54,1/100.000), Polinezya (52/100.000), Orta ve Doğu Avrupa (49,35/100.000) ve Doğu Asya 'dır (45/100.000). Kadınlarda ise insidans oranları erkeklere göre genellikle daha düşüktür. Yıllık 725.352 yeni olgu (tüm kanserlerin %8,4) ile meme ve kolorektal kanserlerden sonra 3. sıklıkta görülmektedir. Kadınlarda en yüksek insidans oranları sırasıyla Kuzey Amerika (30,7/100.000), Kuzey Avrupa (26,9/100.000) ve Batı Avrupa (19,9/100.000) olarak bildirilmiştir (2, 18, 20).

Türkiye'de kanser, kardiyovasküler sistem hastalıklarının ardından en sık ikinci mortalite nedenini oluşturmaktadır (21). Akciğer kanseri tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de en sık görülen ve en sık ölüme neden olan kanser türüdür (22).

DSÖ'nün açıkladığı verilere göre ülkemizde 2018 yılında yaklaşık 34.703 (tüm kanserlerin %17'si) yeni olgu ve 33.683 (kansere bağlı ölümlerin % 30'u) kişinin akciğer kanseri nedeniyle yaşamını kaybedeceği beklenmektedir. Akciğer

kanseri ülkemizde; erkeklerde en sık, kadınlarda ise beşinci sıklıkta izlenmektedir. Erkeklerde tüm kanserlerin %24,7'sini, kadınlarda ise %5,8'ini oluşturmaktadır (22). Türkiye Sağlık Bakanlığı Kanseri Dairesi Başkanlığı tarafından yayınlanmış 2015 yılı kanser istatistiklerine göre yaşa göre standardize edildiğinde akciğer kanserinin insidansı erkeklerde 100.000'de 52,5, kadınlarda 100,000'de 9 olarak bildirilmiştir. 2011 yılı verileri ile karşılaştırıldığında insidansı erkeklerde 100.000'de 62,3'den 52,5'a gerilerken kadınlarda 10.000'de 7,8'den 9'a yükselmiştir (23).

Türk Toraks Derneği'nin 2009 yılında gerçekleştirdiği "Türkiye'nin akciğer kanseri haritası" projesinde her yıl Türkiye'de 29,314 yeni akciğer kanseri olgusu ortaya çıktığı hesaplanmıştır (24). Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) ölüm istatistiklerine göre, 2017 yılında toplam 24.750 kişi "Gırtlak ve soluk borusu / bronş / akciğerin kötü huylu tümörü" sebebiyle hayatını kaybetmiştir (21.018 erkek, 3.732 kadın) (25).

Akciğer kanseri histolojik alt tiplerinin görülme insidansı da yıllara göre değişim göstermektedir. Geçtiğimiz birkaç dekad içinde adenokarsinomların insidansı önemli oranda artarak en sık görülen KHDAK olarak yassı hücreli karsinomların yerini aldığı görülmektedir. Karsinomlar genelinde bakıldığında en sık izlenen alt tiplerin son yıllardaki oranları yassı hücreli karsinom için %20, adenokarsinom için %40, KHK için %13, büyük hücreli karsinom için %2 olarak belirtilmiştir (26). Ülkemizdeki 2015 yılı verilerine göre akciğer kanserlerinin %80,5'i KHDAK, %16,1'i küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve %3,4'ü ise diğer alt tiplerdir. KHDAK'nun %47,1'i ADK, %38,2'si YEHA ve %1,9'u BHK iken %12,7'sinde alt grup sınıflandırılması yapılamamıştır (22).

Amerika Birleşik Devletleri Sürveyans, Epidemiyoloji ve Sonuçları (The Surveillance, Epidemiology, and End Results-SEER) verilerine göre akciğer ve bronş kanserlerinin median tanı yaşının 70 olduğu bildirilmiştir. Olguların %33,4'lük yüzde ile en sık 65-74 yaş grubunda görüldüğü belirtilmiştir (27).

Dünyada 2020, 2030 ve 2040 yıllarında sırasıyla 2.2 milyon, 2.9 milyon ve 3.6 milyon yeni akciğer kanser hastası olacağı ve sırasıyla 1.9 milyon, 2.5 milyon ve 3.1 milyon kişinin akciğer kanseri nedeniyle yaşamını kaybedeceği tahmin edilmektedir (20).

2.2. Etiyoloji ve Patogenez

Akciğer kanseri multifaktöriyel bir hastalık olup etiyojisinde çevresel faktörler yanında genetik yatkınlık da rol oynamaktadır. Sigara, çevresel risk faktörlerin %80-90'ından sorumlu sayılırken, mesleki karsinojenlere maruz kalmak, radon maruziyeti, radyasyon maruziyeti, hava kirliliği ve pasif sigara içiciliği de diğer çevresel nedenler arasında gösterilmektedir (28-29). Ayrıca düşük sosyoekonomik düzeyi olan kişilerde, daha fazla sigara içilmesi, kötü diyet ve kötü çalışma koşullarıyla ilişkili olarak akciğer kanseri gelişme riski daha fazladır (30).

Sigara

Akciğer kanseri gelişiminde sigara en önemli risk faktörüdür. Sigara içme ve akciğer kanseri ilişkisi ilk olarak 1950'lerin başında tespit edilmiştir (29). Dünyada her yıl 7 milyondan fazla kişi sigara ile ilişkili akciğer kanseri nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Akciğer kanserinin %80'inden fazlası tütün maruziyeti olan kişilerde görülmekle birlikte, sigara içenlerin %20'sinden azında akciğer kanseri gelişmektedir. Erkeklerde %85, kadınlarda %47 oranında etiyojide sigara suçlanmaktadır (31-32).

Sigaranın, akciğer kanseri gelişme riskini, sigara içmeyenlere oranla 10-30 kat arttırdığı düşünülmektedir. Sigara içme süresi, başlama yaşı, içilen sigara tipi ve günlük tüketilen sigara miktarı, inhalasyon derecesi, içilen sigaranın katran ve nikotin miktarı ve filtresiz sigara kullanımının da risk üzerine etkisi olduğu gösterilmiştir. Kümülatif içicilik süresi de günlük içilen miktar ile kıyaslandığında daha büyük risk teşkil etmektedir ve ilk sigara içme yaşı akciğer kanseri gelişim riski açısından önem taşımaktadır (33). Sigarayı bırakan kişilerde akciğer kanseri gelişim riski giderek azalarak 15 yıl önceki durumuna iner ve hiç sigara içmemiş birine göre 2 kat artmış olarak kalır (30).

Sigara dumanında 4000'den fazla kimyasal madde bulunmaktadır ve bu kimyasal maddelerden en az 50 tanesinin karsinojen olduğu bilinmektedir (34). Sigarada bulunan major karsinojenler polisiklik aromatik hidrokarbonlar, N-nitrozaminler, aromatik aminler, benzen, vinil klorid, arsenik ve krom gibi diğer organik ve inorganik bileşiklerdir. PAH ve N-nitrozaminler karsinojenik olarak

aktif hale gelebilmek için metabolik aktivasyona ihtiyaç duyarlar. Bu bileşiklerin metabolik detoksifikasyonu mümkündür ve aktivasyon ile detoksifikasyon arasındaki bu denge kanser riskini etkilemektedir. Tütün dumanında radon ve onun bozunma ürünleri; bizmut, polonyum gibi radyoaktif materyaller de bulunmaktadır. Sigara dumanının karsinojenik etkisi, karsinojenlerin DNA'ya ulaşmasına, DNA'da hatalı kodlama ve mutasyon oluşturmaya bağlıdır. Tütün dumanındaki en potent ve mutajen karsinojenler olarak tanımlanan tütün spesifik N-nitrozamin (TSNA) çeşidi olup sigara içimi sırasında nikotinden oluşmaktadır. TSNA türü olan nitrozamin 4- (metilnitrozamin) - 1-(3piridil) - 1- butanon NNK'lar DNA'da mutasyon oluşturarak KRAS onkogenin aktivasyonuna neden olmaktadır. Sigara içen akciğer adenokanser olgularının %24'ünde KRAS mutasyonu saptanmıştır. Ayrıca benzopirenin de p53 tümör baskılayıcı genini mutasyona uğratarak akciğer kanseri gelişiminde etkili olduğu bulunmuştur (32, 34-35).

Akciğer kanseri gelişimi bakımından sadece sigara tüketimi değil, diğer tütün içeren sigarillo, pipo, puro, nargile, vb. maddelerin kullanımı da aynı riski taşımaktadır (36).

Sadece sigara içiciliği değil, çevresel sigara dumanına maruz kalan bireylerde de akciğer kanseri gelişme riski %20-30 daha fazladır. Çünkü etrafa yayılan sigara dumanında da tüm karsinojenler aynen bulunur ve sigara filtresinden de geçmediğinden çok daha yoğun miktarlardadır (37-38).

Küresel istatistiksel ölçümlere baktığımızda erkeklerdeki akciğer kanserlerinin %15'i, kadınlardaki akciğer kanserlerinin %53'ü hiç sigara içmemişlerde görülürken, dünya genelinde akciğer kanseri vakalarının %25'i hiç sigara içmemişlerde görülmektedir (39).

Akciğer kanserinin tüm histolojik tiplerinin insidansı sigara içimi ile artmaktadır. Sigara ile ilişkili başlıca histolojik tipler santral hava yolları yerleşimli küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve YEHAH'dur. Sigara içmeyenlerde ise ADK ve EGFR mutasyonu daha yüksek oranda görülmektedir (32, 40).

Mesleki ve Çevresel Maruziyet

Akciğer kanseri riskini artıran çok sayıda mesleki ve çevresel karsinojen bulunmaktadır. IARC tarafından tanımlanan başlıca karsinojenler asbest, radon, arsenik, bis-klorometil eter, iyonize radyasyon, PAH, krom, nikel ve vinil kloriddir. Akciğer kanser ölümlerinin erkeklerde yaklaşık %10 ve kadınlarda %5 kadarının sigara dışındaki bu grup karsinojenlere maruziyet ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bunların bir kısmı, sigara dumanı ile sinerjistik etki göstererek, bir kısmı da sigaradan bağımsız olarak akciğer kanseri riskini arttırabilmektedir. Bu karsinojenlere maruz kalım nedeniyle akciğer kanseri ile ilişkili meslek grupları arasında madencilik, cam-seramik üretimi, demir-çelik sanayi, otomotiv sanayi, kaynakçılık, benzin istasyonu işçiliği ve itfaiyeciler sayılabilir (32, 41).

Asbest

Madencilik, izolasyon, tersane, yapı malzemeleri, fren balatası yapımı, tekstil olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır. Akciğer kanserlerinin %3-4 kadarının asbest maruziyetine bağlı olarak ortaya çıktığı sanılmaktadır. Amfibol tipi daha büyük risk taşır. Maruziyet süresi, partikül boyutu ve yoğunluğu da kanser gelişiminde önemlidir. Sigara ile asbest maruziyeti sinerjistik etki göstermekte, akciğer kanseri riski 59 kata kadar çıkabilmektedir (32).

Radon

Toprak, kaya ve yer altı sularında değişken konsantrasyonlarda bulunan, Uranyum-238 ve Radyum-226'nın doğal yıkım ürünü olan inert bir gazdır. Radonun yıkılması esnasında ortaya çıkan alfa partikülleri solunum yolu epitel hücrelerine hasar vererek akciğer kanseri riskini arttırabilmektedir. Tütün kullanımı ile birlikte radon maruziyetinde akciğer kanseri risk artışı daha da artmaktadır (32).

Çevresel Etki

Hava kirliliği akciğer kanserlerinin %1-2 kadarından sorumlu tutulmaktadır. Hava kirliliği ile akciğer kanseri gelişimi farklı mekanizmalarla

ortaya çıkmaktadır. Fosil yakıtlarından açığa çıkan polisiklik aromatik, hidrokarbonlar, arsenik-nikel ve krom gibi ağır metaller karsinojen özellik taşır. Havadaki kükürt dioksit ve azot dioksit gibi partiküller de maruziyet süresi ile ilişkili olarak karsinojen olarak saptanmıştır. Gelişmiş ülkelerde pasif duman maruziyeti ve gelişmekte olan ülkelerde yemek yapımında ve ısınmada kullanılan kömür ve biyolojik yakıtlar akciğer kanseri için potansiyel risk oluşturur. Kapalı ortamda kömür kullanımının akciğer kanseri riskinde toplamda 2,15 kat artış getirdiği belirlenmiştir. Şehirlerde yaşayanlarda kırsal kesimlere göre akciğer kanseri gelişme riski daha yüksek görülmektedir (42-43).

Eşlik eden akciğer hastalığı varlığı

Kronik inflamasyon ve firozis ile ilişkili birçok akciğer hastalığının akciğer kanseri riskinde artışa neden olduğu saptanmıştır. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) esas olarak sigara içmekten kaynaklanmaktadır. KOAH'ın kendisi de sigara içimi dışında en yaygın bağımsız risk faktörüdür ve akciğer kanseri riskini 6 ila 13 kat arttırmaktadır (30, 42).

Akciğer dokusunda fibrozis ile seyreden ve skar oluşumuna neden olan tüberküloz, sarkoidoz ve sistemik skleroz gibi hastalıklarda inflamasyon ve fibrozis tekrarlayan hücrel hasara neden olarak akciğer kanserine neden olabilmektedir. Ayrıca bu hastalıklar için kullanılan immunsupresif ilaçlar da akciğer kanseri riskini artırır. Skar zemininde özellikle akciğer adenokarsinomu gelişebilmektedir. Alfa 1 antitripsin eksikliğinde akciğer kanseri riskinin 2 kat arttığı gösterilmiştir (45-46).

Radyoterapi

Akciğer dışı maligniteler nedeniyle toraksa radyoterapi alan kişilerde ikincil primer akciğer kanseri gelişme insidansı artmaktadır. Özellikle meme kanseri ve lenfoma nedeniyle toraksa radyoterapi alan hastalarda akciğer kanseri gelişme riskinin normal kişilere göre arttığı belirlenmiştir (42,47).

Diyet

Diyet farklılıkları, benzer risk faktörleri (sigara ve diğer maruziyetler) olan kişilerde akciğer kanseri oluşumundaki heterojenliği açıklayan nedenlerden biri olarak kabul edilir. Diyetteki beta-karoten, C vitamini ve alfa-tokoferol dahil olmak üzere düşük konsantrasyonlardaki antioksidanlar ile akciğer kanseri gelişimini ilişkilendiren raporlar bulunmakla birlikte, vitamin takviyesinin kemoprotektif etkilerini araştıran çalışmalar bunu desteklememektedir. Dahası, akciğer kanseri için yüksek risk faktörleri olan kişilerde (sigara ve mesleki maruziyet gibi) beta-karoten takviyesinin akciğer kanseri riskini arttırdığına çalışmalar bulunmaktadır (48-49).

Genetik Faktörler

Birinci derece akrabalarında akciğer kanser öyküsü olan kişilerde akciğer kanser gelişim riski 2 kat daha fazladır. Ailesinde erken yaşlarda akciğer kanseri görülen kişilerde risk artışı daha belirgindir. Karsinojen metabolizmasında görevli genlerdeki polimorfik varyasyonların ve DNA tamir mekanizmalarındaki farklılıkların akciğer kanserine yatkınlığı arttırdığı düşünülmektedir. P450 enzim sistemindeki (özellikle CYP1A1) belirli genetik polimorfizmler ve kromozom kırılabilirliği akciğer kanseri gelişimi ile ilişkilidir (50-51).

İleri Yaş

Çoğu kanserde olduğu gibi, artan yaş akciğer kanseri için önemli bir risk faktörüdür. Çoğu akciğer kanseri 65-74 yaş arası kişilerde tanı almaktadır (27).

Viral Enfeksiyonlar

Human Papilloma virüsünün (tip 16 ve 18) özellikle YEHA etyopatogenezinde rol aldığı ve Epstein Barr Virüs (EBV) ile nadir bir akciğer kanseri olan lenfoepitelyoma benzeri karsinom arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır. Ayrıca HIV enfeksiyonu olan kişilerde akciğer kanseri riskinin arttığı gösterilmiştir (52-54).

2.3. Klinik Bulgular

Tanı anında hastaların %90'ından fazlası tümörün lokal, bölgesel, metastatik veya sistemik etkileri nedeniyle semptomatiktir. Akciğer kanserinde klinik belirti ve bulgular, primer tümörün türü ve lokalizasyonuna, lokal yayılımın yaygınlığına, ekstratorasik yayılıma ve paraneoplastik sendrom varlığına göre değişkenlik gösterir. Akciğer kanserine bağlı belirti ve bulgular Tablo 2.1'de özetlenmiştir (55-56).

Tablo 2.1 Akciğer Kanserinde Semptom ve Klinik Bulgular

Lokal hastalık bulguları
Öksürük : Santral yerleşimli tümörlerin bronşial irritasyonu Hemoptizi : Santral yerleşimli tümörlerde mukozal ülserasyon bronşial damar rüptürü Dispne: Endobronşial tümöre bağlı atelektazi, kitlenin büyüyerek büyük hava yollarına, ana damarlara ya da kalbe bası yapması, artan plevral efüzyon Göğüs ağrısı: Plevral efüzyon Wheezing : Hava yollarına bası veya tıkanıklık
Lokal ileri hastalık bulguları
Rekürren laringeal sinir felcine bağlı ses kısıklığı Frenik sinir paralizisine bağlı hemidiyafagma yüksekliği ve paradoksik hareket Göğüs duvarı ağrısı Mediastinal lenf nodlarının özefagusa basısına bağlı disfaji Trakeanın tümör tarafından invazyonuna veya iki taraflı vokal kord paralizisine bağlı stridor Vena cava superior'un dıştan basısı ve basıya eşlik eden trombüse bağlı Superior Vena Kava Sendromu (KHAK'da daha sık) Plevral efüzyon Perikardial efüzyon Superior sulkus yerleşimli tümörlerde Pancoast sendromu
Ekstratorasik yayılımına bağlı semptom ve bulgular
Santral sinir sistemi tutulumuna bağlı baş ağrısı, bulantı, kusma, nöbetler İskelet sistemi tutulumuna bağlı kemik ağrısı Karaciğer ve Adrenal tutulumuna bağlı bulgular Lenf nodları tutulumunda (en sık supraklavikular) lenfadenopatiler
Paraneoplastik sendromlar
Endokrin: Cushing sendromu , hiperkalsemi ,uygunsuz ADH sendromu Nörolojik: periferik nöropati, Lambert-Eaton myastenik sendromu, ensefalomyelit, kortikal serebellar dejenerasyon Metabolik: laktik asidoz, hipotrisemi İskelet: parmaklarda çomaklaşma, hipertrofik osteoartropati Renal: glomerülonefrit, nefrotik sendrom Cilt: hipertrikoz, lanuginosa, eritema akrokeratoz (Bazex hastalığı), eritrodermi (eksfolyatif dermatit), akantozis nigrikans Hematolojik: anemi, lökositoz, eozinofili, lökomoid reaksiyon, trombositoz, trombositopenik purpura Koagülopatiler: dissemine intravasküler koagülasyon, tromboflebit, trombotik non-bakteriyel endokardit Sistemik: ateş, anoreksi, kaşeksi, ortostatik hipotansiyon, hipertansiyon Kollagen Vasküler: dermatomyozit, polimiyozit, vaskülit

2.4. Histopatolojik sınıflama

Akciğer tümörlerinde histopatolojik inceleme, sınıflandırma ve evrelendirme doğru tedavinin yönlendirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Geçtiğimiz birkaç on yıl boyunca, KHAK ve KHDAK olarak gruplamak hastalar için uygun tedaviyi belirlemek için klinik açıdan yeterliydi. Son zamanlarda moleküler biyolojinin ve teknolojinin gelişimi, yöntemlerin çeşitlenmesi, kanser oluşum mekanizmalarının daha iyi anlaşılması ile birlikte KHDAK'larının tedavisinde bireysel tedaviler gündeme gelmiş, tümörün histolojik tipi, alt tipi ve moleküler profili önem kazanmıştır (57).

Küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında görülen dört temel terapötik gelişim şunlardır: Epidermal büyüme faktörü reseptörünün (EGFR) tirozin kinaz domainindeki aktive edici mutasyonlar, esas olarak ADK hastalarında görülmekte, mutasyonu gösteren hastaların tedavilerinde erlotinib ve gefitinib gibi TKİ'leri kullanılmaktadır. Pemetrexed ADK'lı hastalarda YEHAH hastalarına göre daha etkilidir. Bevacizumab ölümcül olabilen pulmoner kanama riski nedeniyle YEHAH hastalarında kullanılmamaktadır. Anaplastik lenfoma kinaz (ALK) yeniden düzenlemesi tespit edilen ADK hastaları, Crizotinib tedavisine yanıt vermektedirler.

Belirtilen bu tedavi değişimleri, hastalar için en uygun tedaviyi belirlemenin ancak doğru histolojik tanı sonrasında planlanabileceğini göstermiştir. Spesifik histolojik tipler ile tedavi arasındaki ilişki özellikle ADK'ların diğer KHDAK hastalarından, özellikle de YEHAH'dan ayrımını gerektirmektedir (56). 2011 yılında Uluslararası Akciğer Kanseri Çalışma Grubu (IASCL), Amerikan Toraks Derneği (ATS), Avrupa Solunum Derneği (ERS) tarozellikle ADK'lar için ortak terminoloji ve tanı kriterleri sunan, kısıtlı miktardaki sitolojiler ya da biyopsi örnekleri ile tanı alacak, rezeke edilemeyecek tümör dokularında yapılacak immünohistokimyasal ve moleküler çalışmaları da kapsayan yeni ADK sınıflama klavuzu yayınlanmıştır. DSÖ 2015 yılında bu klavuza göre akciğer tümörlerinin sınıflamasında değişikliğe gitmiştir (26, 59).

Tablo 2.2 Akciğer tümörlerinin DSÖ 2015 sınıflandırması (5)

EPİTELYAL TÜMÖRLER Adenokarsinom - Lepidik adenokarsinom - Asiner adenokarsinom - Papiller adenokarsinom - Mikropapiller adenokarsinom - Solid adenokarsinom - İnvaziv müsinöz adenokarsinom - Mikst invaziv müsinöz ve non-müsinöz adenokarsinom - Kolloid adenokarsinom - Fetal adenokarsinom - Enterik adenokarsinom - Minimal invaziv adenokarsinom - Non-müsinöz - Müsinöz - Preinvaziv lezyonlar - Atipik adenomatöz hiperplazi - Adenokarsinoma in situ - Non-müsinöz - Müsinöz Skuamöz hücreli karsinom - Keratinize skuamöz hücreli karsinom - Non-keratinize skuamöz hücreli karsinom - Bazaloid skuamöz hücreli karsinom - Preinvaziv lezyon - Skuamöz hücreli karsinoma in situ Nöroendokrin tümörler - Küçük hücreli karsinom - Kombine küçük hücreli karsinom - Büyük hücreli nöroendokrin karsinom - Kombine büyük hücreli nöroendokrin karsinom - Karsinoid tümör - Tipik karsinoid - Atipik karsinoid - Preinvaziv lezyon - Difüz idiyopatik pulmoner nöroendokrin hücre hiperplazisi Büyük hücreli karsinom Adenoskuamöz karsinom Sarkomatoid karsinom - Pleomorfik karsinom - İgisi hücreli karsinom - Dev hücreli karsinom - Karsinosarkom - Pulmoner blastom Diğer ve sınıflandırılmayan karsinomlar - Lenfoepitelyoma-benzeri karsinom - Nut karsinomu Tükruk bezi tipi tümörler - Mukoepidermoid karsinom - Adenoid kistik karsinom - Epitelyal myoepitelyal karsinom - Pleomorfik adenom	Papillomlar - Skuamöz hücreli papillom - Egzofitik - İnverted - Glandüler papillom - Mikst skuamöz hücreli ve glandüler papillom Adenomlar - Sklerozan pnömositom - Alveolar adenom - Papiller adenom - Müsinöz kist adenom - Müsinöz gland adenomu MEZENKİMAL TÜMÖRLER - Pulmoner hamartom - Kondrom - PEComatöz tümörler - Lenfanjiomyomatozis - PEComa benign - Şeffaf hücreli tümör - PEComa malign - Konjenital peribronşial myofibroblastik tümör - Difüz pulmoner lenfanjiomatosis - İnflamatuvar myofibroblastik tümör - Epiteloid hemanjiendothelyoma - Plöropulmoner blastom - Sinovial sarkom - Pulmoner arter intimal sarkom - EWSR-CERB1 translokasyonu gösteren pulmoner mikroid sarkom - Myoepitelyal tümör - Myoepitelyoma - Myoepitelyal karsinom LENFOHİSTİYOSİTİK TÜMÖRLER - Mukoza ilişkili lenfoid dokunun ektranodal marjinal zon lenfoması (MALT lenfoma) - Diffüz büyük B hücreli lenfoma - Lenfomatoid granülomatosis - İntravasküler büyük B hücreli lenfoma - Pulmoner langerhans hücreli histiyositozis - Erdheim-Chester hastalığı EKTOPIK ORJİNLİ TÜMÖRLER - Germ hücreli tümörler - Teratom, matür - Teratom, immatür - İntrapulmoner timoma - Melanom - Menenjiom, sınıflandırılmayan METASTATİK TÜMÖRLER
---	--

2.5. Yassı Epitel Hücreli Akciğer Karsinomu

KHDAK'ları tüm akciğer kanseri olgularının %80-85 kadarını oluşturmakta, YEHA, ADK ve BHK olarak üç ana gruba ayrılmaktadır. YEHA, KHDAK vakalarının % 20-30'unu temsil etmektedir (60-61). Sigara içme alışkanlıklarındaki değişikliğe bağlı olarak sıklığı azalmakla birlikte YEHA, ADK'dan sonraki en sık histolojik alt tiptir (32). Akciğer tümörlerinin erkeklerde %44, kadınlarda %25 kadarını oluşturan malign epitelyal tümördür. Erkeklerde daha sıktır ve sigara kullanımı ile ilişkilidir (60, 62).

YEHA'nın, solunum epitelinin uzun bir süre boyunca inhale karsinojenlere doğrudan maruz kalması sonucunda bronşial epitel hücrelerinde bazal hücre hiperplazisi, yassı epitel hücre metaplazisi, displazi ve karsinoma in situ süreci ile geliştiği düşünülmektedir (61, 63).

Olguların üçte ikisi ana bronş ya da segmental bronşlar içerisinde, santral lokalizasyondadır (Şekil 2.1). Endobronşial tümör büyümesi, distalde kalan akciğer dokusunda bronşiektazi, obstruktif pnömoni ve atelektazi gibi sekonder değişikliklere neden olur (64).



Şekil 2.1. YEHA makroskopik örneği

Periferik hatta subplevral olarak da gelişebilen ekspansif nodüler bir büyüme gösterebilir ve ilerlemiş evrelerde göğüs duvarını, mediasteni ve diyaframı tutabilir. Bazen kavitasyon ve yaygın santral nekroz alanları gösterebilir. Erken evrelerde değişken derecelerde submukozal infiltrasyon gösterip ya bronş mukozası boyunca uzanır ya da polipoid lezyonlar oluşturur. Zamanla santral lokalizasyondaki tümör peribronşial yumuşak dokuya, akciğer parankimine ve komşu lenf nodlarına ilerler (64).

YEHAİ'ları balgam veya bronşial fırçalama gibi eksfoliyatif sitoloji ile tanı alma olasılığı en çok olan primer akciğer tümörüdür. Diferansiasyon derecesine bağlı olarak hücresel özellikleri değişkenlik gösterir. İyi diferansiye olgularda sıkı tabakalar ve gruplar yapan, hiperkromatik nükleuslu, orta ya da geniş, parlak turuncu, refraktil sitoplazmalı, keratinize malign hücreler izlenir. Zeminde apoptotik ve nekrotik debris, yoğun inflamasyon eşlik edebilir. Kötü diferansiye olgularda ise keratinizasyon görülmez, belirgin nükleoluslu, açık kromatin yapısı gösteren nükleuslara sahip, kötü diferansiye adenokarsinom ile örtüşen hücresel özellikler izlenir (62, 64).

Keratinize solid hücre adaları, tek hücre keratinizasyonu ve hücreler arası bağlantılar oluşturması en belirgin histopatolojik özellikleridir. Bu bulgular diferansiasyonun derecesine göre değişmektedir. İyi diferansiye tümörlerde belirgin olup kötü/az diferansiye tümörlerde fokaldır veya yoktur (64).

YEHAİ'da 2004 sınıflamasında tanımlanan papiller, berrak hücreli, küçük hücreli alt tipleri kaldırılmıştır. Yeni 2015 WHO sınıflaması ile birlikte keratinize, non-keratinize ve bazaloid YEHAİ olarak tiplendirme yapılmaktadır. Keratinize YEHAİ tanısı vermek için herhangi bir oranda keratinizasyon varlığı yeterlidir. Bazaloid tip demek için ise rezeke edilmiş materyalde tümörün yarısından fazlasının bazaloid gelişim paterni göstermesi gerekir. Preinvaziv lezyon olarak sadece karsinoma in situ sınıflamada yer almaktadır (6, 26).

Bazaloid YEHAİ' un daha kötü prognozlu olduğuna ilişkin çalışmalar olmakla birlikte alt tiplerin prognostik veya moleküler açıdan anlamlı olduğuna dair henüz yeterli kanıt bulunmamaktadır. Tek hücre invazyonu, tümör tomurcuklanması ve nükleer çapın da önemini ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır (62). Ayrıca özellikle periferik yerleşimli YEHAİ'da tümörün

histolojik gelişim paterninin (hava boşluğunu dolduran tip, ekspansif tip ve mikst tip) de prognostik olabileceği yönünde çalışmalar yapılmıştır (66-67).

Bu tümörler İHK' sal olarak p40 (en spesifik ve sensitif belirteç), p63 ve CK5/6 ile diffüz pozitiflik gösterir. ADK olgularının yaklaşık üçte birinde p63 pozitifliği izlenmektedir. Ayrıca YEHAH'larında CK7 ile %30 oranında pozitiflik görülebilmektedir. Non-keratinize YEHAH'da TTF-1 ile fokal, zayıf pozitiflik saptanabilir. Bunun dışında tipik bir YEHAH' da fokal intrasitoplazmik münsin pozitifliği de görülebilir (26, 68).

YEHAH, mediasteni infiltrate ederse timik yassı hücreli karsinom ile karışabilir. Organoid yapılanma, CD5 ve CD117 pozitifliği gösterme eğiliminde olan timik YEHAH'nun tanısında radyolojik ve cerrahi bulgularla korelasyon önemlidir (64, 69). Papiller tipte iyi diferansiye YEHAH'nu papillomdan ayırımında özellikle küçük biyopsilerde invazyonu saptamak zordur. Berrak hücre değişikliği renal hücreli karsinom metastazını düşündürebilir. Başka bir bölgeden kaynaklı YEHAH metastazını primer YEHAH'dan ayırmada, in situ alanların görülmediği durumda, immühohistokimyasal olarak ayırım pek mümkün olmamakla birlikte başta klinik öykü, HPV testi ya da p16 ile immünohistokimyasal inceleme yardımcı olabilir. Periferik YEHAH alveolar pnömositleri hapsederek adenoskuamöz karsinomu taklit edebilir. Diffüz alveolar hasarda görülen sitolojik atipinin de eşlik ettiği yüzey epitelyum yassı epitelyum hücre metaplazisi, bronşial mukozanın nekrotizan sialometaplazisi gibi reaktif değişiklikler YEHAH'nu taklit edebilir(6, 70).

Bazaloid YEHAH

Periferik palizatlanma ve küçük hücrelerin lobüler paternde dizilim gösterdiği, az diferansiye malign epitelyal tümör olarak tanımlanan bazaloid YEHAH'da tümör hücrelerinde belirgin yassı epitelyum hücre morfolojisi görülmeksizin immünohistokimyasal olarak YEHAH belirteçleri ile pozitif boyanma izlenir. Keratinize ve nonkeratinize yassı epitel hücre komponenti bulunan bir tümörde bazaloid komponent %50' den fazla ise bazaloid YEHAH olarak isimlendirilir. Komedo tip nekroz, hyalinize veya mukoid stroma izlenir.

Mitotik oranı ve Ki67 proliferasyon indeksi (%50-80) yüksektir. Palizatlanma ve rozet benzeri yapılanmaları ile büyük hücreli nöroendokrin karsinom (BHNEK) ile, küçük tümör hücrelerinden oluşuyor ve özellikle de ezilme artefaktı gösteren biyopsi ise KHAK ile karışabilir. Ayırıcı tanıda nöroendokrin beliteçlerin diffüz boyanması ve TTF-1 ile boyanma BHNEK ve KHAK lehine kabul edilmelidir. Nadir görülmeleri ve sınırlı veriye rağmen prognozlarının diğer KHDAK'larından daha kötü olduğu düşünülmektedir (6, 71).

2.6. Akciğer kanserlerinde Evreleme

Akciğer kanseri evrelemesinde tümör (T) özelliklerinin, lenf nodu (N) tutulumunun ve metastaz (M) durumlarının değerlendirildiği TNM evreleme sistemi kullanılmaktadır. IASLC tarafından önerilen ve UICC (Uluslararası Kanser Savaş Örgütü), AJCC (Amerikan kanser komitesi) tarafından kabul gören 8. TNM evreleme sistemi Ocak 2018'den itibaren kullanılmaya başlanmıştır.

Sekizinci TNM evrelemesinde 5 cm' ye kadar tümör çapındaki her cm başına değişim daha önemli hale gelmiş, tümör çapı her T evresinde tanımlayıcı olarak yer almıştır. Minimal invazif adenokarsinomun T1a (mi) olarak eklenmiştir. Mediastinal plevra invazyonu T tanımlayıcısı olarak kullanılmamaktadır. Ana bronş invazyonu, parsiyel veya total atelektazi T2 olarak evrelenirken, diafragma invazyonu kötü prognoz göstermesi nedeniyle T4 olarak kabul edilmiştir. Mediastinal plevra invazyonu T tanımlayıcısı olarak kullanılmamaktadır. N evrelemesi aynı şekilde devam etmektedir. Tek uzak organda tek metastazı olan hastaların prognozunun tek veya çok organda çoklu metastazı olan hastalara göre daha iyi prognoza sahip oldukları görülerek yeni evrelemede M evresinde metastatik grup üç kategoride tanımlanmıştır (72-73). Sekizinci TNM evreleme sistemi Tablo 2.3 ve 2.4'de verilmiştir (74).

Tablo 2.3 Akciğer tümörlerinde 8. Evreleme Sisteminin T, N ve M Tanımlayıcıları (74)

T-Primer Tümör	
T_x	Tümörün değerlendirilemediği veya malign hücrelerin balgam ya da bronşiyal yıkama sıvısında gösterildiği ancak tümörün bronkoskopi veya görüntüleme yöntemleri ile saptanamadığı durumlar
T₀	Primer tümör kanıtı yok
T_{is}	Karsinoma in situ
T₁	Normal akciğer veya viseral plevra ile çevrili, en geniş çapı ≤ 3 cm tümör
T_{1a(mi)}	Minimal invaziv adenokarsinom
T_{1a}	Tümörün en geniş çapı ≤1 cm
T_{1b}	Tümörün en geniş çapı >1 cm, ≤2 cm
T_{1c}	Tümörün en geniş çapı >2 cm, ≤3 cm
T₂	Tümörün en geniş çapı >3 cm, ≤5 cm veya şu özelliklere sahip tümör Karinaya uzaklığına veya invazyonuna bakılmaksızın ana bronş invazyonu Viseral plevra invazyonu Hiler bölgeye uzanan atelektazi (lobar veya total) veya obstrüktif pnömoni
T_{2a}	Tümörün en geniş çapı >3 cm, ≤4 cm
T_{2b}	Tümörün en geniş çapı >4 cm, ≤5 cm
T₃	Tümörün en geniş çapı >5cm, ≤7 cm veya aynı lobda tümör nodülü(leri) olması veya aşağıdaki yapılardan birine direkt invazyon: - Göğüs duvarı invazyonu (parietal plevra ve superior sulkus tümörleri dahil), frenik sinir, parietal perikard
T₄	Tümörün geniş çapı >7cm veya ipsilateral farklı bir lobda tümör nodülü(leri) olması veya aşağıdaki yapılardan birine direkt invazyon: - Diyafram , mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, rekürren laringeal sinir, özofagus, vertebra ve karina
N-Bölgesel Lenf Nodu Tutulumu	
N_x	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemedi.
N₀	Bölgesel lenf nodu metastazı yok.
N₁	İpsilateral peribronşiyal ve/veya ipsilateral hiler lenf nodlarına ve/veya intrapulmoner lenf nodlarına metastaz veya direkt invazyon
N₂	İpsilateral mediastinal ve/veya subkarinal lenf nodlarına metastaz
N₃	Kontralateral mediastinal, kontralateral hiler, ipsilateral veya kontralateral skalen veya supraklavikular lenf nodlarına metastaz
M-Uzak Metastaz	
M₀	Uzak metastaz yok
M₁	Uzak metastaz var
M_{1a}	Karşı taraf akciğerde ayrı tümör nodülü(leri), plevral veya perikardiyal nodüller veya malign plevral veya perikardiyal efüzyon
M_{1b}	Tek ekstratorasik organda tek metastaz
M_{1c}	Tek veya birçok organda birden çok metastaz

Not: TNM evrelemesinde 7. Edisyona göre değişiklik olanlar koyu(bold) olarak belirtilmiştir.

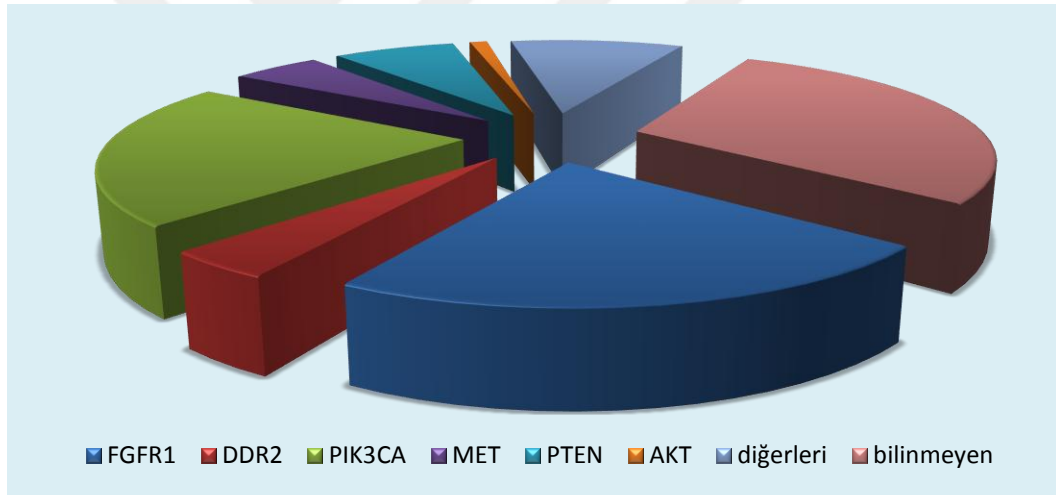
Tablo 2.4 Akciğer tümörlerinin 8. TNM Evrelemesi (74)

T veya M tanımlayıcısı		N Tanımlayıcısı			
		N0	N1	N2	N3
T1	Alt grup T1a	IA1	IIB	IIIA	IIIB
	T1b	IA2	IIB	IIIA	IIIB
	T1c	IA3	IIB	IIIA	IIIB
T2	T2a	IB	IIB	IIIA	IIIB
	T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB
T3	T3	IIB	IIIA	IIIB	IIIC
T4	T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC
M1	M1a	IVA	IVA	IVA	IVA
	M1b	IVA	IVA	IVA	IVA
	M1c	IVB	IVB	IVB	IVB

2.7. Genetik

Son yıllarda, KHDAK'nin moleküler patogenezi hakkında bilginin artması ile akciğer kanserlerinin sınıflandırmasında ve tedavi seçiminde gelişmeler olmuştur. Özellikle Akciğer ADK'larında tümör gelişiminde rol oynayan driver mutasyonlar tanımlanmıştır (75). EGFR'deki mutasyonlar veya ALK ve ROS1 geninin yeniden düzenlenmeleri ile özellikle tirozin kinazların onkojenik aktivasyonunun belirlenmesi, hastalar için spesifik moleküler tedavilerin geliştirilmesine neden olmuştur. İleri evre KHDAK'da özellikle de ADK hastalarında EGFR tirozin kinaz inhibitörü (örn., gefitinib, erlotinib veya afatinib) veya ALK inhibitörü (örn., crizotinib) gibi hedeflenmiş ajanlar artık klinik pratikte rutin olarak kullanılmaktadır. Böylece kemoterapiye göre daha iyi yanıt, daha iyi progresyonsuz sağ kalım süresi ve daha iyi yaşam kalitesi sağlanabilmektedir (76-77). Ne yazık ki bu gelişmeler ADK ile sınırlı olup, hedeflenebilir mutasyonların nadiren tespit edildiği YEHAK tanısı alan hastalar için tedavi seçenekleri sınırlı kalmaktadır (78). Bu hedefe yönelik tedavilerin eksikliğini gidermek için Kanser Genom Atlası Araştırma Ağı (TCGA)

tarafından gerçekleştirilen 178 olguda büyük bir yeni nesil sekanslama analizi (NGS) ile YEHAH'nun detaylı moleküler profili 2012 yılında yayınlanmıştır. YEHAH'da somatik mutasyon gelişimi kronik tütün maruziyeti ve diğer birçok karsinojen etkisine bağlı olarak karmaşık genomik değişikliklerle karakterizedir. YEHAH örnekleri normal pulmoner doku ile karşılaştırılmış, 360 ekzon mutasyonu, 165 genomik yeniden düzenleme ve tümör başına 323 kopya sayısı değişikliği ile çok sayıda genomik ve epigenomik değişime uğradığı tespit edilmiştir (61, 79). Bu genlerdeki değişimler, hücre sağ kalımı ve proliferasyonu, hücre döngüsünün ilerlemesi, metastatik yayılım, genetik instabilite ve oksidatif strese yanıt üzerindeki etkileri ile onkolojik dönüşümü ve ilerlemeyi teşvik ettiği düşünülmektedir (75). YEHAH'da tanımlanan, hedeflenebilir moleküler değişiklikler şunlardır (Şekil 2.2);



Şekil 2.2. YEHAH'da tanımlanan, hedeflenebilir moleküler değişiklikler

DDR2 (Discoidin Domain Reseptör 2)

Kollajene bağlanan ve hücre proliferasyonu ve yaşamasının düzenlenmesinde rol alan membrana bağlı tirozin kinaz reseptörüdür. DDR2 mutasyonları skuamöz hücreli kanserlerin %4'ünde bulunmaktadır. Bir çalışmada, DDR2'nin upregülasyonunun, YEHAH hastalarında uzun süreli hastalıksız ve genel sağ kalımı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. DDR2 mutasyonu ile gerçekleşen moleküler aktivasyon bir multikinaz inhibitörü olan dasatinib ile inhibe edilmektedir (9, 61, 75).

MET (Mezenkimal Epidermal Transisyon Faktörü)

Hepatosit büyüme faktörü reseptörü (HGFR) üzerinden tirozin kinaz yolağı ile etkinlik gösteren bir transmembran reseptördür. Birçok tümörün oluşumu, progresyonu, anjiogenez, metastaz ve diğer kanser tedavilerinde dirençte de kritik rol oynayan bir onkogendir. MET aktivasyonu, artmış protein ekspresyonu, amplifikasyon ve mutasyonları içerir. Yüksek miktarda reseptör ekspresyonu bağımsız kötü prognostik faktör olmakla birlikte, EGFR mutant küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde tirozin kinaz inhibitörlerine kazanılmış rezistandan da sorumludur. Somatik EGFR mutasyonu ve MET amplifikasyonu diğerlerinden farklı olarak birbirini dışlayan değil, bir arada görülebilen mutasyonlardır. Son dönem çalışmalarda KHDAK'da da MET gen overekspresyonu, amplifikasyonun kötü prognozla ilişkili olduğu ve bu hasta gruplarının ALK, ROS1 rearanjmanlarında da kullanılan Krizotinib tedavisine yanıt verdiğine dair veriler mevcuttur. Son olarak MET ekzon 14 bölgesinde kayıba sahip hastalarda MET inhibitörlerine yanıt alındığını gösteren çalışmalar ortaya konmuştur (80-82).

PI3K (Fosfotidilinozitol 3-Kinaz)

PI3K proteinin ana katalitik alt ünitesi p110 α izoformudur ve 3q26.3 kromozom bölgesinde bulunan PIK3CA ile kodlanır. Bu gene ait gen çoğalmaları, delesyonları ve daha sıklıkla somatik missense mutasyonlar tanımlanmıştır. Çeşitli büyüme faktörlerine yanıt olarak PI3K-AKT-mTOR, hücre büyümesi, proliferasyon, farklılaşma, motilite ve sağ kalım gibi birçok hücre fonksiyona katılır. PI3K/AKT/mTOR yolağındaki anormalliklerin YEHAH'da ADK'ya kıyasla daha sık olduğunu gösterilmiştir (75, 83).

PTEN (Fosfataz ve Tensin Homologu)

Kromozom 10q23 üzerinde bulunan bir tümör baskılayıcı gen olan PTEN, PI3K/AKT/mTOR sinyal yolağını baskılayan bir lipit fosfatazı kodlar. PTEN kaybı PI3K-AKT sinyalini aktive eder. PTEN'in somatik PTEN delesyonları, mutasyonları ve epigenetik mekanizmalarla inaktivasyonu birçok kanserde bulunur. KHDAK hastalarında hem ADK hem de YEHAH histolojik tiplerinde

PTEN ekspresyonunun azalması veya kaybı bildirilmiştir. Akciğer kanserlerinin yaklaşık % 5'inde meydana gelen PTEN mutasyonları ADK histolojik tipinden çok YEHAİ'u ile önemli ölçüde ilişkilidir. PTEN kaybını gösteren akciğer kanseri olan hastalar, PI3K yolunun inhibitörlerine daha duyarlı olabilir (61, 84).

SOX2 (Cinsiyet Belirleyici Bölge Y-Box 2)

SOX2 kromozom 3q üzerinde bulunur. Akciğer organogenezine katılır. Kök hücre fonksiyonunun düzenlenmesinde ve akciğer epitelinin gelişiminde önemli bir rol oynayan transkripsiyonel faktördür. SOX2'nin aşırı ifadesi kanser hücrelerinde büyümeyi ve invazyonu tetiklerken, baskılanması hücre büyümesini ve metastatik potansiyeli inhibe etmektedir (84-85).

AKT1 (v-Akt Mürin Timoma Viral Onkogen Homolog 1)

Kromozom 14q32 üzerinde bulunan AKT1'in E17K somatik mutasyonu, sürekli olarak protein kinazı aktive eder. Bu mutasyonun YEHAİ'nun yaklaşık% 1'inde mevcut olduğu ve diğer sürücü mutasyonları ile örtüşmediği bilinmektedir (61).

TP53 Mutasyonu

Bir tümör baskılayıcı gen olan TP53, kromozom 17p13'de bulunur ve esas olarak hücre döngüsünü durdurma, apoptoz ve DNA onarımı ile ilgili genlerin transkripsiyonunu düzenleyen bir transkripsiyon faktörü olarak işlev gören bir proteini kodlar (61). TP53'ün inaktivasyonu, akciğer kanserindeki en önemli genetik anormalliklerden biridir. TP53 mutasyonları, primer olarak KHAK'de (%70-80) gözlenir, KHDAİ'de görülme oranı %50'dir, ADK'ya göre YEHAİ' da daha sıktır. Genellikle sigara içimi ya da sigara dumanına maruziyetle birliktedir. Bazı kemoterapotikler DNA hasarına neden oldukları ve sonuçta p53 proteinini aktive ettikleri için TP53 genindeki mutasyonlar bu tedaviye yanıtı negatif yönde etkileyebilir. Ayrıca, akciğer kanseri hastalarında TP53 mutasyonları anlamlı derecede kötü prognoz ile ilişkilidir (86). MDM2, N terminalini aktive eden alanını bloke ederek P53'ü negatif olarak düzenleyen bir proteindir (87).

MicroRNA (miRNA)

miRNA'lar post-transkripsiyonel düzeyde gen ekspresyonunu negatif yönde düzenleyen kodlanmamış RNA bölümleridir. Bazı miRNA'ların, KHDAK olgularında karsinogenezi regüle ettiği bilinmektedir. Akciğer kanseri ile sağlam komşu doku arasındaki miRNA ekspresyonunun farklılığı çalışmalarla gösterilmiştir. Ayrıca prognoz, yaşam süresi, tedaviye yanıt göstergesi olarak bir kaç çalışmada histolojik alt gruplarla bağlantısı araştırılmıştır (88).

İmmün Kontrol Noktaları ve Kanser İmmünoterapisi

Akciğer kanserinde tümör immünolojisinde yer alan pek çok hedef bulunmaktadır. Klinik çalışmaların en yoğun olduğu hedefler T-lenfosit ilişkili antijen 4 (CTLA-4), Programlı hücre ölümü reseptörü-1 (PD-1) ve ligandı PD-L1'dir. Normal immün yanıtta, antijen sunan hücrelerce (APC) alınıp işlenip lenf düğümlerine ulaştırılan antijen, T hücrelerine sunulur. APC üzerindeki B7 ile Thücre üzerindeki CD28 de etkileşir ise, T hücre aktivasyonu başlar. T hücreler üzerinde eksprese edilen CD28 homoloğu CTLA-4, B7 ligandı ile bağlandığında immün sistem için bir çeşit fren görevi görür. Benzer şekilde aktif lenfositlerde eksprese edilen PD-1 ile çeşitli tümörlerce eksprese edilen PD-L1 etkileşimi de tümör bölgesinde T hücre inaktivasyonu ile sonuçlanır. İmmün kontrol nokta proteinleri normal fizyolojide otoimmünite karşıtı ve inflamasyonda yer almakta, neoplazm sürecinde ise bu proteinlerin disfonksiyonu tümörün immün sistemden kaçmasına neden olmaktadır (89-90).

2.8. FGFR1

FGF ve FGFR Yapısı

FGF'ler, FGFR reseptörlerine bağlanan homolog polipeptid ligand ailesidir ve insanlarda 22 üyesi tespit edilmiştir. FGF'ler ligand bozunmasını önleyen ve aynı zamanda FGFR ile kompleks oluşumunu stabilize eden heparin sülfat proteoglikan (HSPG) bağlanma bölgesi bulundurur (91).

FGFR1, kromozom 8p üzerinde mevcut olan bir gen tarafından kodlanırken; FGFR2, FGFR3 ve FGFR4 sırasıyla kromozom 10q, kromozom 4p ve kromozom 5q üzerinde bulunan genler tarafından kodlanır (92). FGFR'ler (FGFR 1, 2, 3 ve 4) diğer tirozin kinaz aktivitesine sahip reseptörler gibi ligand bağlayan ekstrasellüler bölge, tek geçişli bir transmembran bölgesi ve tirozin kinaz aktivitesi gösteren ve karboksilik asit kuyruğu içeren intrasellüler bölgeden oluşur. Ekstrasellüler bölge üç immünoglobulin benzeri alan (Ig I, II ve III) içerir. Ig-I, bağlanma afinitesinden sorumludur; Ig-II, FGF için bağlanma bölgesini oluşturur ve Ig-III ligand bağlanma seçiciliği için çok önemlidir. FGFR 1, 2 ve 3'ün Ig-III alanındaki C terminalin alternatif ayrılması sonucunda oluşan farklı FGF ligandlarına bağlanma spesifitesi gösteren izoformları bulunmaktadır. Bunlar arasında FGFR IIIb epitelyal ve IIIc ise mezenkimal izoformlarıdır. Ayrıca ekstrasellüler kısımda, HSPG ve FGFR etkileşimi için gerekli asidik kutu, HSPG bağlanma alanı ve hücrel adezyon molekülleri ve hücre dışı matriks ile etkileşimden sorumlu olan başka bir bölge de vardır. Transmembran bölgesi, reseptör yapısının stabilizatörü olarak işlev görür ve ligand bağımlı aktivasyonda gereklidir. Jukstamembran bölgesi, PKC ve FRS2a gibi sinyal veren efektörler/modülatörler için bağlanma bölgeleri içerir. Ayrıca tirozin kinaz aktivitesi olmayan beşinci bir FGFR (FGFRL1) vardır (92-94).

FGF / FGFR Sinyali ve Fonksiyonları

Ligand-reseptör bağlanması üzerine, FGFR dimerize olur ve FRS2a'yı fosforile eder. Sırasıyla GRB2 ve SOS1 aktive olur ve sinyal yollarının (RAS / MAPK ve PI3K / AKT / mTOR) aktivasyonuna yol açar. Bu sinyal yollarının PLC γ /Ca²⁺ ile birlikte aktivasyonu, hücre sağ kalımını, motiliteyi ve invazivliği,

FGFR1 Gen Amplifikasyonu

FGFR1 geni kromozom 8p12' de lokalizedir. Weiss ve arkadaşları YEHAH'da FISH ile %22 oranında FGFR1 amplifikasyonunu (232 akciğer kanseri örneğinin 155' inde) saptamışlardır. Dutt ve arkadaşları, YEHAH' larının % 21'inde ve akciğer adenokarsinomlarının % 3'ünde tek nükleotid polimorfizm dizi analizi ile FGFR1 amplifikasyonunu tanımlamışlardır. Her iki çalışmada da FGFR1 amplifikasyonu mevcut olan tümörlerde hücre büyümesinin FGFR1'e bağlı olduğunu göstermiştir. FGFR inhibitörü PD173074'ün, akciğer kanseri hücrelerinde büyümeyi inhibe edip, apoptozu uyardığını , FGFR1 inhibisyonunun tümörün küçülmesine yol açtığı saptanmıştır (11, 98).

FGFR1 amplifikasyonu sigara içimi ve dozu ile korelasyon gösterme eğilimindedir. Mevcut sigara içicilerinde daha önce içici veya hiç sigara içmeyenlere göre daha yüksek bir frekansa sahiptir (99-100).

Kim ve arkadaşları, rezeksiyon materyallerinde yüksek FGFR1 gen amplifikasyonu bulunduran hastaların genel sağ kalım ve hastalıksız sağ kalımlarının daha kısa olduğunu göstermişlerdir. Çok değişkenli analizler ile de FGFR1 gen amplifikasyonunun bağımsız bir negatif prognostik faktör olduğu diğer çalışmalarla da doğrulanmıştır (14, 99).

YEHAH'lu hastaları içeren bir meta-analizde FGFR1 amplifikasyonu %19 oranında saptanmış ve sigara içme durumu ve lenf nodu metastazı ile anlamlı derecede korele olduğu, fakat genel sağ kalımı etkilemediği gösterilmiştir (8) .

Akciğer karsinomunun farklı histolojik tiplerinde FGFR1 amplifikasyon oranlarının bakıldığı bir çalışmada YEHAH' da (% 20,7), BHK (% 13) ve ADK' ya (% 2,2) göre daha yüksek FGFR1 amplifikasyonu saptanmıştır (101).

Ayrıca erken evre tümörlerde FGFR1 amplifasyon durumunun belirlendiği bir çalışma ile tümör gelişiminin başlangıç fazı sırasında FGFR1 amplifikasyonunun önemli bir rolü olduğu düşünülmüştür (102).

Son zamanlarda, FGFR1 amplifikasyonunun tümörojenik etkisinin çoklu faktörlere bağlı olduğu gösterilmiştir. Yakın zamanda yapılan bir çalışma, FGFR1-amplifiye YEHAH'da FGFR inhibisyonuna olan duyarlılığını etkileyebilecek genomik heterojenliğe dikkat çekmiş, 8p12'nin (FGFR1)

amplikonun 11q13 (CCND1, FGF4 ve FGF19) ile birlikte kümelenmiş olduğu gösterilmiştir. Bu birlikte meydana gelen olay, FGFR inhibisyonuna daha yüksek bir duyarlılık ile ilişkili görünmektedir. Dahası, FGFR1 ile amplifiye edilmiş hücrelerde yüksek seviyedeki c-MYC ekspresyonu, hem in vitro hem de in vivo olarak daha yüksek onkojenik transformasyon, hücre-otonom sinyali ve daha yüksek FGFR inhibitör duyarlılığına neden olmuştur (94, 103).



3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Etik Kurul

Bu çalışmanın protokolü Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na sunulurak, 20 Temmuz 2016 tarihinde 424 numaralı karar ile etik kurul onayı alınmıştır. Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TTU-2016-2026 numaralı bilimsel araştırma projesi olarak desteklenmiştir.

3.2. Hasta Seçimi ve Hazırlık

Çalışma planlanıp etik kurul izni alındıktan sonra 2005-2015 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda incelenerek YEHA tanısı almış 138 olgu değerlendirmeye alındı. Hasta dosya numaraları kullanılarak hastane Otomasyon Sistemleri olan MIAMED (2014 yılı Temmuz ayından günümüze) ve MEDİ-PİS (2014 yılı Temmuz ayı öncesi) programlarından öncelikle hastaların tanıları teyit edildi.

Çalışma popülasyonunda yer alan hastalara ait demografik, klinik ve patolojik verilerin toplanması Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Otomasyon Sistemleri (MEDİ-PİS ve MIAMED) ve Tıbbi Onkoloji Anabilim Dalı arşivindeki hasta dosyaları kullanılarak yapıldı. Hastaların tanı aldığı yaş, cinsiyet gibi demografik özellikleri, sigara içme durumu (aktif içici, sigara içmiş ve bırakmış, hiç içmemiş), sigara paket/ yılı, tanı tarihleri, tanı verilen tetkik ve doku, başvuru semptomları, tümör lokalizasyonu, tanı anındaki evreleri, komorbid hastalıklar, ECOG performans durumu, ikincil kanser varlığı, ailede kanser hastalığı öyküsü, varsa hastaya uygulanan cerrahi yöntem, radyoterapi ve kemoterapi gibi tedavi yöntemleri, kullanılan tedavilerin tipi (adjuvan ve neoadjuvan gibi), varsa metastaz bölgeleri, izlemde gelişen nüks varlığı ve zamanı, izlemde gelişen uzak metastaz varlığı ve lokalizasyonu, hastanın son kontrol tarihleri, tümör çapı, lenf nodu tutulumu, plevral invazyon, lenfovasküler invazyon gibi özellikleri kaydedildi.

Hastaların evrelendirmesi hastane otomasyon sistemi ve hasta takip dosyaları incelenerek AJCC/UICC' nin 8. TNM Evreleme sistemine göre tekrar değerlendirilip, güncel hale getirildi. Tüm hastalar TC kimlik numaraları ile Sağlık Bakanlığı'na bağlı Ölüm Bildirim Sistemini üzerinden sorgulatılarak ölen hastalar tespit edildi ve ölüm tarihleri kaydedildi. İlk tanı anından ölüme kadar geçen süre genel sağ kalım olarak değerlendirildi.

Hastalara ait tüm bu veriler analiz edilmek üzere SPSS veritabanına kodlanarak kaydedildi.

Hastaların parafin blokları ve preparatları Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden çıkarılarak tekrar incelendi. Kalan olgulara ait Hematoksilen-Eozin (H&E) boyalı preparatlardan nekroz içermeyen, daha geniş tümör alanı bulunduran kesitler ve bunlara ait parafin bloklar seçildi. Tümörün differansiyasyonu yeniden gözden geçirilerek iyi, orta ve kötü diferansiye şeklinde tanımlandı.

Çalışmamız dahilindeki 130 hastaya İHK'sal inceleme, 123 hastaya da FISH moleküler inceleme yapıldı. Yedi hastaya yeterli tümör hücresi (<100 tümör hücresi) içermediği için FISH testi uygulanamadı.

3.3. Floresan İn-situ Hibridizasyon (FISH) Yöntemi

FISH yöntemi için ZytoLight® SPEC FGFR1/CEN8 Dual Color Probe, Z-2072-200 ve ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit, Z-2028-20 kullanılmıştır. FGFR1 amplifikasyonunu belirlemek amacıyla 123 parafin bloğun her birine aşağıdaki prosedüre göre boyama işlemi yapılmıştır.

- Mikrotom cihazı kullanarak 4 mikronluk kesitler pozitif şarjlı lama alınır.
- Lamlar 70 °C de ayarlı etüvde 20 dakika bekletilir.
- Deparafinizasyon aşaması: Ksilolde 10 dakika bekletildi. Bu işlem 2 kez daha tekrarlanır. %100, %85, %70 lik alkol serilerinde 5 dakika bekletilir.
- Lamlar 5 dakika boyunca distile suda bekletilir.
- Daha sonra preparatlar, önceden 90 °C' ye ısıtılmış Pretreatment solüsyonunda 20 dakika bekletilir.
- Süre sonunda 5 dakika distile suda yıkanır.

- Pepsin solüsyonunda 37 °C de 20 dakika bekletilir.
- 5 dakika 1x Salin Sodyum Sitratta(SSC) bekletilir.
- Süre sonunda 5 dakika distile su ile yıkanır.
- %100, %85, %70' lik alkol serilerinde 5 dakika bekletilir.
- Lamlar 2-5 dakika kadar havada kurumaya bırakılır.
- Lam üzerindeki tümör alanına 10 mikrolitre FGFR1 genine spesifik prob (ZytoLight® SPEC FGFR1/CEN8 Dual Color Probe, Z-2072-200) damlatılarak 22x22 lamel ile hava kabarcığı kalmayacak şekilde kapatılır.
- Ruber cement ile lamellerin etrafı çevrelenir.
- Lamlar Hybrite cihazına yerleştirilip, 75 °C de 10 dakika denatürasyon yapılır.
- 37 °C de ayarlı etüvde karanlık ortamda gece boyu inkübasyona bırakılır.
- Gece boyu inkübasyondan sonra ertesi gün, lamların üzerindeki rubber cement çıkarılır
- Üç seri yıkama solüsyonu hazırlanır.
- Lamlar su banyosunda 37 °C' ye ısıtılır.
- 5 dakika üç seri yıkama solüsyonunda bekletilerek yıkama yapılır.
- %100, %85, %70' lik alkol serilerinde 5 dakika bekletilir.
- Lamlar oda ısısında 2 dakika kadar havada kurumaya bırakılır.
- Lam üzerine 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) solüsyonu damlatılarak lamelle kapatılır.
- Lamlar değerlendirme anına kadar karanlık alanda -20 °C' de buzdolabında bekletilir.

FISH ile Amplifikasyonun Değerlendirilmesi

Floresan mikroskopta , her bir dokuda tümör dışı hücre nükleusları sayılmamaya dikkat edilerek en az 20 tümör hücre nükleusu değerlendirilmiştir. Prob dizaynında, kromozom 8' in alfa satellit bölgesi için spesifik CEN8 probu turuncu florofofor ile ve 8p11.23-p11.2' de lokalize FGFR1 genine spesifik FGFR1 probu yeşil florofofor ile direkt işaretlidir. Normal interfaz nükleusunda; 2 turuncu ve 2 yeşil sinyal olması beklenilmektedir. FGFR1 gen lokusunun amplifiye olduğu nükleuslarda ise; yeşil sinyalin çoklu kopyaları veya yeşil sinyal

kümelerinin varlığı olarak gözlenecektir. Analiz yapılan 20 interfaz nükleusunun; yeşil sinyal sayısının toplamının, turuncu sinyal sayısının toplamına bölüldüğünde çıkan değer 2' den küçük ise “amplifikasyon yok”, 2' ye eşit veya büyük ise “amplifikasyon var” olarak değerlendirilmiştir.

3.4. FGFR1 İHK İnceleme Prosedürü ve Değerlendirilmesi

İHK çalışılacak olan blokların her birinden 4 mikronluk kesitler pozitif şarjlı lama alındı. İmmünohistokimya boyaması, Dako otomatik immünohistokimya boyama cihazında gerçekleştirildi. Cihazdaki işlem basamakları aşağıdaki gibidir;

- Deparafinizasyon: Cihazda 25 °C’ de ClearifyCelaring Agent ile devaks işlemi gerçekleşir. İki aşamalı devaks işlemi yapılır. Distile suda 15 dakika bekletilir.
- Retriveal aşaması: EnV FLEX TRS, High solüsyonu içerisinde 97 °C’ de 30 dakika kaynatma aşaması gerçekleşir. Süre sonunda distile su içerisinde bekletilir.
- Boyama aşaması: Anti FGFR1 (ab10646; Abcam, Cambridge, UK) 1/1000 dilüsyonda hazırlanır. 10 dakika primer antikor ile muamele gerçekleşir.
- Yıkama aşaması: Washbuffer da 2 dakika bekletilir. Bu işlem cihaz tarafından 10 kez tekrarlanır.
- Endojen enzim bloklama: EnV FLEX Peroksidaz-Blockingreagent ile 3 dakika inkübasyon yapılır.
- Yıkama aşaması: Washbuffer da 2 dakika bekletilir. Bu işlem cihaz tarafından 10 kez tekrarlanır.
- Sekonder reagent ile muamele: EnV FLEX/HRP ile 20 dakika inkübasyon yapılır.
- Yıkama aşaması: Washbuffer da 2 dakika bekletilir. Ve bu işlem cihaz tarafından 10 kez tekrarlanır
- Yıkama aşaması: Distile suda 31 saniye bekletilir.
- Yıkama aşaması: Washbuffer da 2 dakika bekletilir. Bu işlem cihaz tarafından 10 kez tekrarlanır.

- Substrate chromogen: EnV FLEX SubstrateWorking Solution ile 5 dakika inkübasyon yapılır.
- Yıkama aşaması: Washbuffer da 2 dakika bekletilir. Bu işlem cihaz tarafından 10 kez tekrarlanır.
- Yıkama aşaması: Distile suda 31 saniye bekletilir.
- Yıkama aşaması: Washbuffer da 2 dakika bekletilir. Bu işlem cihaz tarafından 10 kez tekrarlanır.
- Counterstaining: Hematoksilen ile 3 dakika inkübasyon yapılır.
- Yıkama Aşaması: Distile suda 2 dakika inkübasyon yapılır. Bu işlem cihaz tarafından 10 kez tekrarlanır.
- Yıkama aşaması: Washbuffer da 2 dakika bekletilir. Bu işlem cihaz tarafından 10 kez tekrarlanır.
- Kapatma: Preparatlar %70, %85 ve %100 alkol serilerinden geçirilir. İki seri Ksilol serilerinde bekletildikten sonra entellan ile preparatlar kapatılır.

İHK değerlendirme

İmmünohistokimyasal olarak boyanan preparatlar, bir akciğer patolojisinde uzman (GÖ) ve bir genel patolog (DBY) tarafından ışık mikroskobu altında değerlendirildi. Tümör hücrelerindeki sitoplazmik veya membranöz boyanma paterni anlamlı kabul edilerek boyanmanın yaygınlığı ve yoğunluğu ayrı ayrı değerlendirildi.

Tümör hücrelerinde boyanma yoğunluğu; boyanma yok= 0 puan, zayıf boyanma=1 puan, orta düzey boyanma =2 puan ve kuvvetli boyanma=3 puan olarak belirlendi.

Boyanan tümör hücrelerinin yaygınlığı % 0-100 arasında değerlendirildi.

Yaygınlık için belirlenen yüzde (%) değerleri ile yoğunluk için verilen puanlar çarpılarak H skorları elde edildi.

$$\begin{aligned}
 &0 \times \text{negatif hücrelerin yüzdesi} \\
 &+ \\
 &1 \times \text{zayıf yoğunlukta boyanan hücrelerin yüzdesi} \\
 &+ \\
 &2 \times \text{orta yoğunlukta boyanan hücrelerin yüzdesi} \\
 &+ \\
 &3 \times \text{kuvvetli yoğunlukta boyanan hücrelerin yüzdesi}
 \end{aligned}$$

H Skoru =

İHK'sal boyamalarda internal pozitif kontrol olarak bronş epiteli, dış pozitif kontrol olarak umblikal korddaki allantoik kanal artığı kullanıldı.

3.5. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen bulguların istatistik analizleri için SPSS 18 (SPSS Inc. Released 2009. PASW Statistics for Windows, Version 18.0. Chicago: SPSS Inc.) programı kullanıldı. Veriler değerlendirilirken FISH yöntemi altın standart olarak kabul edildi. Örneklemi tanımlamak için sürekli değişkenler ortalama±standart sapma, kategorik değişkenler ise sayı ve frekans dağılımları (yüzde) ile belirtildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelendi. Kategorik değişkenlerin yüzdelerinin farkı “Pearson Chi-Square” testi ile analiz edildi ve beklenen sıklıkların %20’ den fazlasının 5’ten küçük olması durumunda “Fisher’s Exact Test” kullanıldı. Parametrik test varsayımlarının sağlandığı durumlarda bağımsız iki grup ortalamalarının farkı “Student t Test” ile, parametrik test varsayımlarının sağlanmadığı durumlarda ise bu testin parametrik olmayan alternatifi “Mann-Whitney U Test” ile incelendi. Parametrik test varsayımlarının sağlandığı durumlarda ikiden fazla bağımsız grup ortalamalarının farkı “One Way ANOVA Analysis” ile, parametrik test varsayımlarının sağlanmadığı durumlarda ise bu testin parametrik olmayan alternatifi “Kruskal Wallis Test” ile incelendi. İki grup arasındaki ilişkinin belirlenmesi için “Spearman’s ρ korelasyon analizi” kullanıldı. Değişkenlerin sağ kalım eğrileri arasındaki farklar log rank testi” kullanılarak belirlendi. Tanıdan beş ay, bir yıl ve üç yıl sonraki sağ kalımı hesaplamak için sağ kalım tablosu kullanıldı. Yapılan değerlendirme sonucunda 0,05’ten daha düşük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ve test sonuçları %95 güven aralığında değerlendirilerek tablolara eklendi.

4. BULGULAR

4.1. Genel Klinik ve Patolojik Bulgular

Çalışmaya dahil ettiğimiz 130 YEHAH tanılı olgunun 126'sı (%96,9) erkek, 4'ü (% 3,1) kadındır. Hastaların tanı anındaki yaş aralığı 32-84 yıl olup, yaş ortalaması $61,86 \pm 9,54$ 'dür.

Sigara kullanımına bakıldığında 5 hasta (%3,8) hiç sigara içmemiş; 34 hasta (% 26,1) daha önce sigara içmiş ve bırakmış; 82 hasta (%63,1) ise aktif sigara içicisidir. Hastaların % 6,9'unun sigara kullanım bilgisine ulaşılamamıştır. Sigarayı bırakan hastalardan verisine ulaşılan 31 hastanın sigara bırakma süreleri 1 ay ile 18 yıl arasında değişmektedir. Paket yılı verisine ulaşılan 114 hastanın ortalama paket yılı 55'dir.

İncelenen ve tanı verilen örneklerin 70 tanesi (% 53,8) biyopsi, 60 tanesi (%46,2) ise rezeksiyon materyalidir. Çalışmaya alınan materyallerin dağılımı Tablo 4.1.'te verilmiştir.

Tablo 4.1. Tanı verilen tetkiklerin dağılımı

Tanı verilen tetkik	Kişi sayısı (n)	Yüzde (%)
Bronkoskopik biyopsi	57	43,8
Akciğer tru-cut biyopsi	6	4,6
Lenf nodu biyopsisi	7	5,4
Wedge rezeksiyon	10	7,7
Segmentektomi	3	2,3
Lobektomi	33	25,4
Pnöminektomi	14	10,8

Tümör yerleşim yerine göre olguların dağılımı Tablo 4.2' de verilmiştir. Tümör, 14 hastada (%10,8) sağ santral, 30 hastada (%23,1) sağ akciğer üst lob, 9 hastada (%6,9) sağ akciğer orta lob, 15 hastada (%11,5) sağ akciğer alt lob, 24 hastada (%18,5) sol santral, 15 hastada (%11,5) sol akciğer üst lob, 21 hastada

(%16,2) sol akciğer alt lob, 1 hastada (%0,8) karina, 1 hastada da (%0,8) her iki akciğerde görülmüştür.

Tablo 4.2. Tümör lokalizasyonlarının dağılımı

Tümör yeri		Sayı	Yüzde (%)
Sağ santral		14	10,8
Sağ üst lob	santral	26	20
	periferik	4	3,1
Sağ alt lob	santral	12	9,2
	periferik	3	2,3
Sağ orta lob		9	6,9
Sol santral		24	18,5
Sol üst lob	santral	12	9,2
	periferik	3	2,3
Sol alt lob	santral	17	13,1
	periferik	4	3,1
Karina		1	0,8
Bilateral akciğer		1	0,8

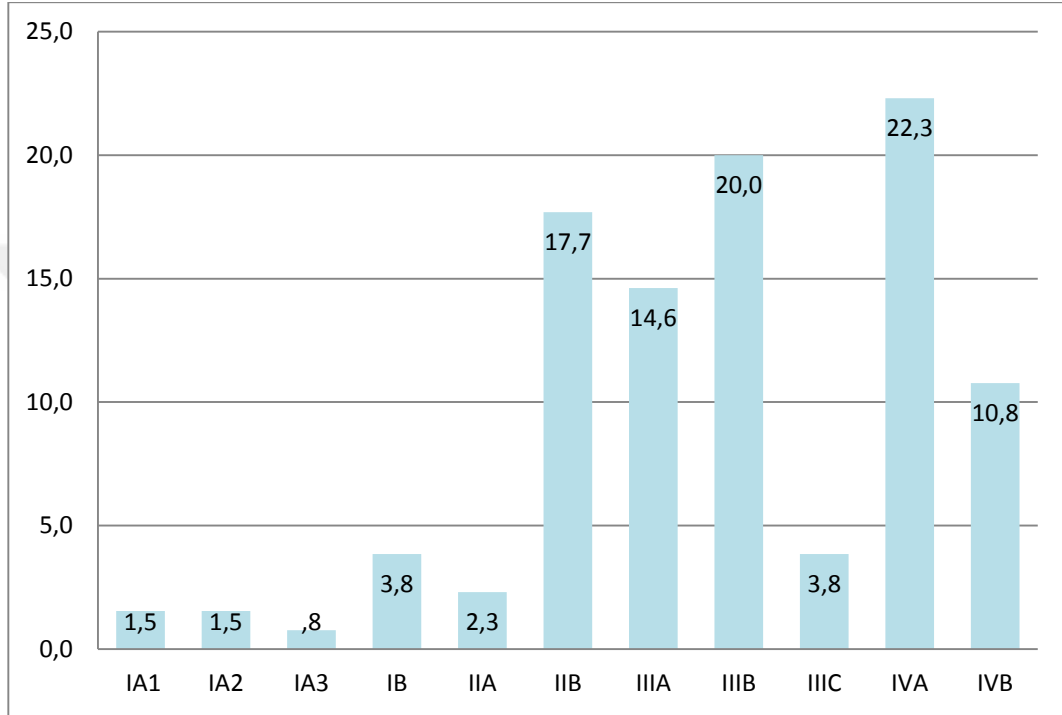
Hastaların en sık başvuru semptomları öksürük, nefes darlığı, hemoptizi, kilo kaybı, halsizlik olarak saptanmıştır. Tanı anında %20,2 olguda ECOG PS 0, %58,1 olguda 1 ve %19,4 olguda 2, %2,3 olguda ise 3 olarak tespit edilmiştir.

Ek hastalık açısından bakıldığında 86 hastada (%66,2) ek hastalık mevcut iken, 38 hastada (%29,2) ek hastalık bulunmamaktadır. Altı hastanın ek hastalık açısından klinik verisine ulaşamamıştır. En sık eşlik eden ek hastalıklar sırasıyla hipertansiyon, KOAH, KAH ve Tip 2 DM' dir. Otuz altı hastada (%27,6) birden fazla ek hastalık mevcuttur.

İkincil kanser varlığına bakıldığında 16 hastada (%12,3) ikincil bir kanser bulunmaktadır. Altı hastanın ikincil kanser açısından klinik verisine ulaşamamıştır. Ailesinde kanser öyküsü bulunan 45 hasta (%34,6) mevcut olup bunların 22 tanesinde (%16,9) akciğer kanseri öyküsü vardır.

Hastaların tümör evrelerine bakıldığında, 1 hastada eksik veri nedeniyle evreleme yapılamamıştır. Kalan 129 hastanın tanı anındaki evre dağılımı; 2 hasta

evre IA1 (%1,5), 2 hasta evre IA2 (%1,5), 1 hasta evre IA3 (%0,8), 5 hasta evre IB (%3,8), 3 hasta evre IIA (%2,3), 23 hasta evre IIB (%17,7), 19 hasta evre IIIA (%14,6), 26 hasta evre IIIB (%20), 5 hasta evre IIIC (%3,8), 29 hasta evre IVA (%22,3), 14 hasta evre IVB (%10,8) 'dir. Evre dağılımı Şekil 4.1'de görülmektedir.



Şekil 4.1 Hastaların tanı anındaki evrelerine göre dağılımı

AJJC 8. TNM evreleme sistemine göre; T1 evresinde 12 olgu, T2 evresinde 29 olgu, T3 evresinde 25 olgu ve T4 evresinde 62 olgu saptanmıştır. İki hastada eksik veri nedeni ile T evresi değerlendirilememiştir. Hastaların T evresine göre dağılımları Tablo 4.3' de verilmiştir.

Lenf nodu tutulumuna göre evrelerine bakıldığında 36 hasta N0 (%27,7), 27 hasta N1 (%20,8), 41 hasta N2 (%31,5) ve 24 hasta N3 (%18,5) olarak değerlendirilmiştir. İki hastanın lenf nodu tutulumu açısından klinik verisine ulaşamamıştır.

Hastaların 43'ü (%33,1) tanı anında metastatik olarak izlenmiştir. Daha sonraki izlemlerinde 23 hastada daha metastaz ortaya çıkmış olup metastatik hasta sayısı 66'ya (%50,8) yükselmiştir. Tanı anındaki M evrelerine bakıldığında 86

hasta M0 (%66,2), 18 hasta M1a (%13,8), 11 hasta M1b (%8,5) ve 14 hasta M1c (%10,5) olarak değerlendirilmiştir . Bir hastanın metastaz açısından klinik verisine ulaşamamıştır. M1a grubundaki hastaların kendi içindeki dağılımlarına bakıldığında 18 hastanın 3'ünde (%16,7) plevral nodül, 12'sinde (%66,7) karşı akciğer tutulumu, 2 'sinde (%11,1) malign plevral efüzyon ve 1'inde (%5,6) hem plevral nodül hem de karşı akciğer tutulumu saptanmıştır.

Tablo 4.3. T evresine göre hastaların dağılımı

T evresi	Sayı	Yüzde (%)
T1a	2	1,5
T1b	2	1,5
T1c	8	6,2
T2a	18	13,8
T2b	11	8,5
T3	25	19,2
T4	62	47,7
Bilinmiyor	2	1,5

Tümör çapı 50 hastada rezeksiyon materyalinden, 78 hastada ise görüntüleme yöntemlerinden belirlenmiştir. Beş hastanın tümör çapı verisine ulaşamamıştır. Tümör çapı en küçük 0,3 cm, en büyük 15 cm olup, ortalama $5,13 \pm 2,35$ cm'dir. Tümör çapı istatistiksel analiz için 4 kategoride gruplandırılmış olup dağılımları tablo 4.4' te verilmiştir.

Tablo 4.4. Tümör çapına göre hastaların dağılımı

Tümör çapı	Sayı	Yüzde (%)
1. ≤ 3 cm	24	18,5
2. 3,1-5 cm	48	36,9
3. 5,1-7 cm	29	22,3
4. > 7 cm	24	18,5
Bilinmiyor	5	3,8

Cerrahi olan 59 hasta (%45,4) mevcuttur. Bu hastaların 50 tanesi tedaviden önce, 9 tanesi tedaviden sonra cerrahi operasyon geçirmiştir. Cerrahi operasyon dağılımları Tablo 4.4’ te verilmiştir.

Tablo 4.5. Cerrahi olan ve olmayan hastaların dağılımı

Cerrahi operasyon	Sayı	Yüzde (%)
Yok	71	54,7
Wedge rezeksiyon	5	3,8
Segmentektomi	3	2,3
Lobektomi	30	23,1
Bilobektomi	5	3,8
Pnöminektomi	16	12,3

Çalışmaya dahil edilen hastaların aldığı tedavilere bakıldığında; 42 hastaya kemoterapi (%32,3), 77 hasta kemoradyoterapi (eş zamanlı veya ardışık) (%59,2), 6 hastaya (%4,6) radyoterapi tedavisi uygulanmış, 5 hasta (%3,9) ise cerrahi dışında hiçbir tedavi almamıştır. Hastaların aldıkları tedavilere göre dağılımı Tablo 4.5’de verilmiştir.

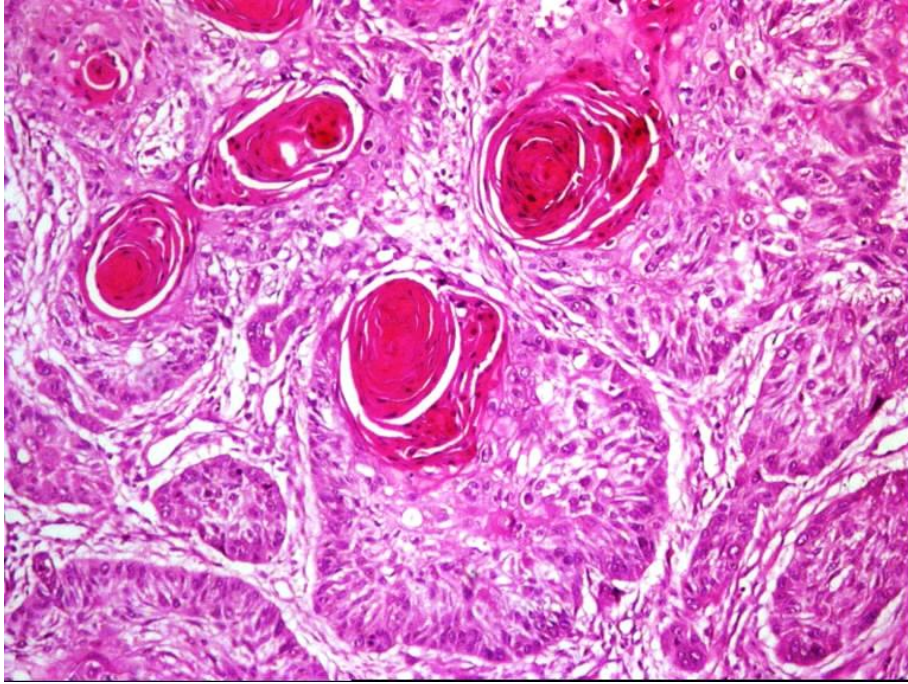
Tablo 4.6. Çalışmadaki hastaların aldıkları tedavilerin dağılımı

Tedavi yöntemi	Sayı	Yüzde (%)
Sadece cerrahi	5	3,8
İndüksiyon kemoterapi	9	6,9
Adjuvan kemoterapi	22	16,9
Adjuvan radyoterapi	1	0,8
Adjuvan kemoradyoterapi	22	16,9
Definitif kemoterapi	16	12,3
Definitif radyoterapi	1	0,8
Definitif kemoradyoterapi	50	38,5
Palyatif radyoterapi	4	3,1

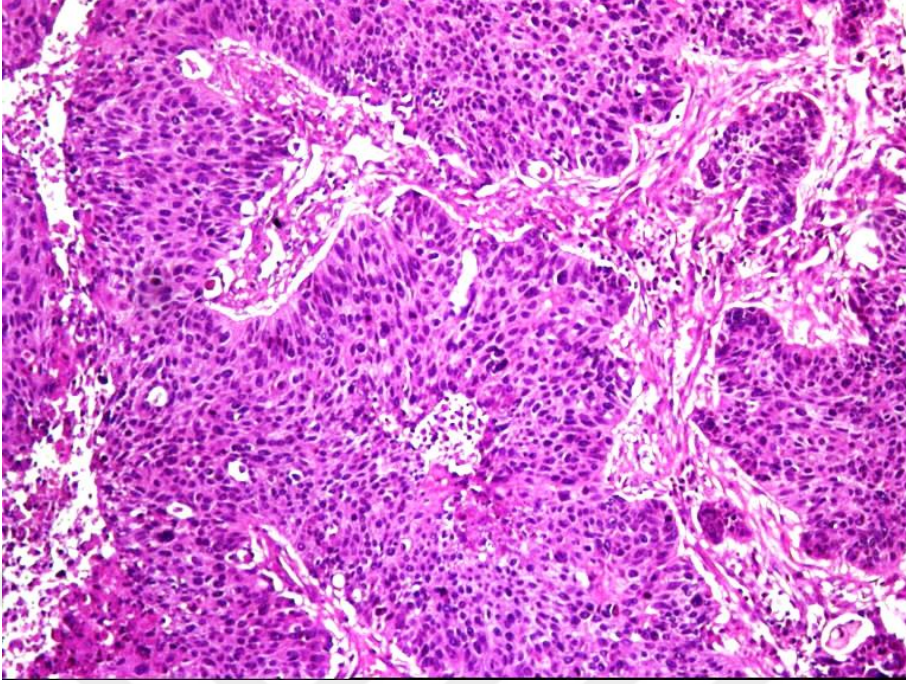
Çalışmaya dahil edilen hastalardan 11 tanesi (%8,5) kemoterapi (KT) almamıştır. Bir hastanın kemoterapi alıp almadığı belirsizdir. KT alan 119 hastanın kaç sıra tedavi aldığı incelendiğinde 54 hastaya (%41,5) 1 sıra KT, 34 hastaya (%26,2) 2 sıra KT, 16 hastaya (% 12,3) 3 sıra KT, 8 hastaya (%6,2) 4 sıra KT, 6 hastaya (%4,6) 5 sıra KT tedavisi uygulanmıştır.

Tümör diferansiasyon derecesinin dağılımına bakıldığında 19 hastada (% 14,6) iyi, 72 hastada (% 55,4) orta ve 36 hastada (% 27,7) kötü derecede diferansiasyon saptanmıştır. Üç hasta ise (% 2,3) bazaloid YEHAK tipinde olup diferansiasyon ile ilgili istatistiksel analizlerde kötü derecede diferansiye alt grubuna dahil edilmiştir.

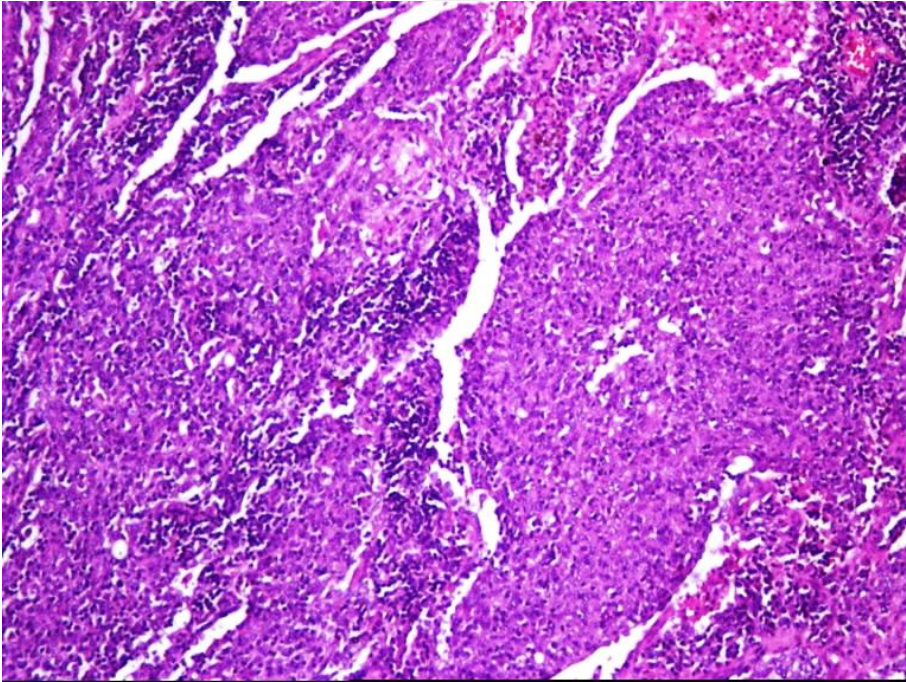
Diferansiasyon derecesine göre iyi, orta, kötü diferansiye olan ve bazaloid tip olguların histopatolojik görünimleri aşağıdaki gibidir (Şekil 4.2-5).



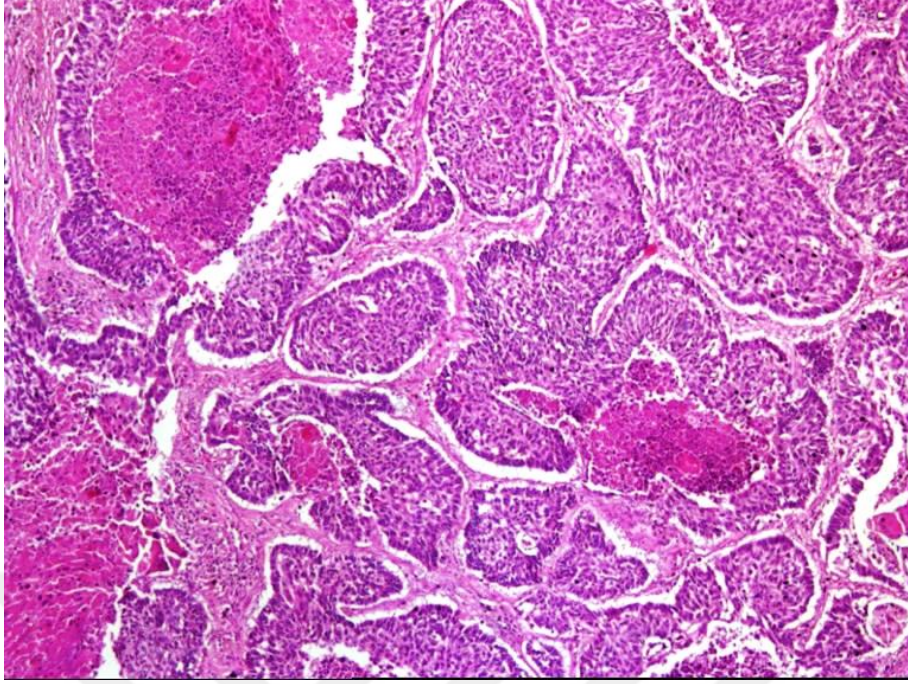
Şekil 4.2. İyi derecede diferansiye YEHAK (H&E x100).



Şekil 4.3. Orta derecede diferansiye YEHAK (H&E x100)



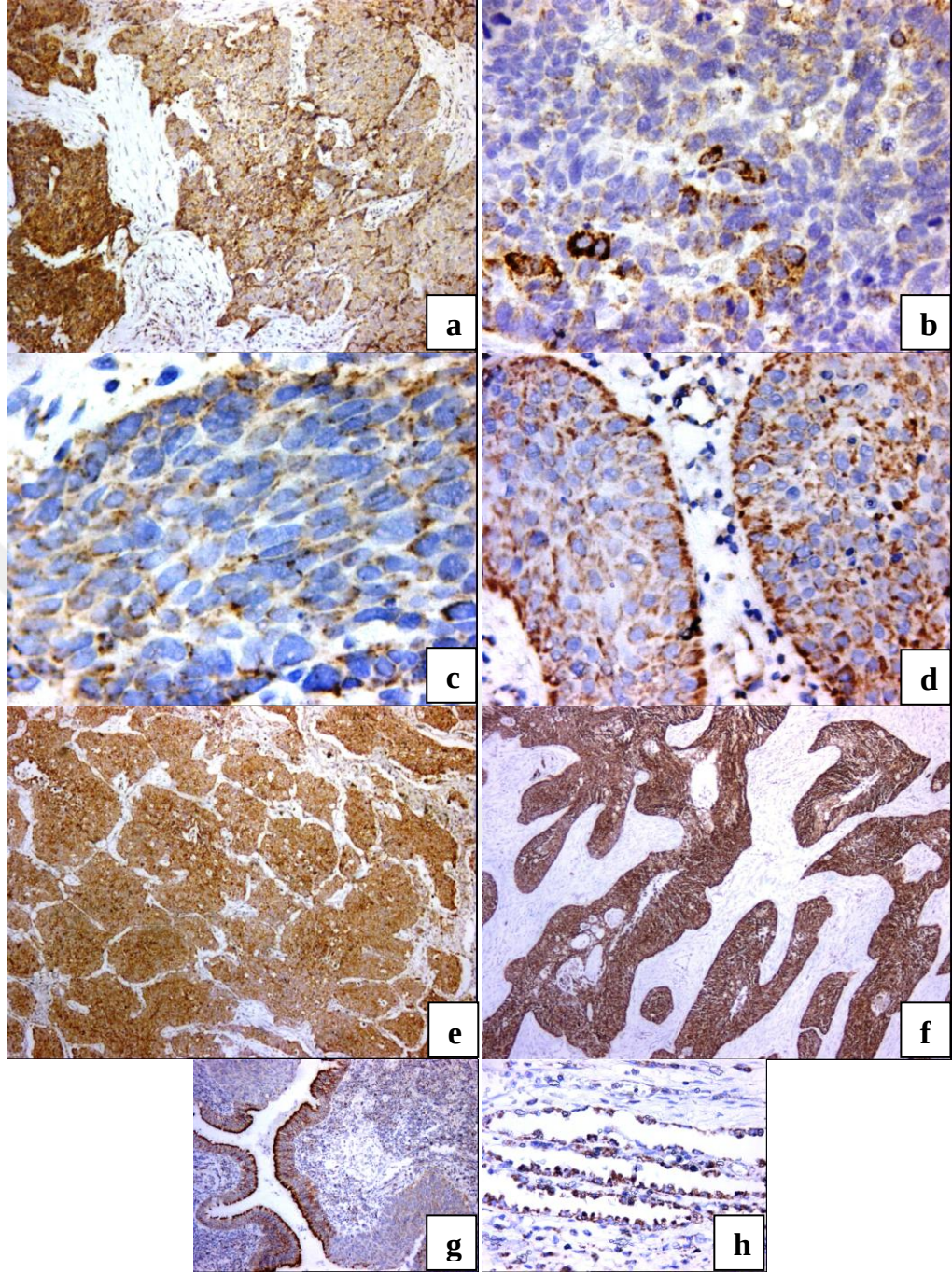
Şekil 4.4. Kötü derecede diferansiye akciğer YEHAK (H&E x100).



Şekil 4.5. Bazoloid tipte YEHA (H&E x100)

4.2. İHK'sal Bulguların Klinikopatolojik Parametrelerle İlişkisi

İmmünohistokimyasal çalışmada FGFR1 ekspresyonu tüm olgularda saptanmıştır. Ancak aynı tümör dokusunda farklı alanlarda FGFR1'in boyanma yoğunluğu değişiklik göstermektedir. Bu nedenle her bir olgu için tümör dokusunun tüm alanlarındaki boyanma yoğunluğu ve yaygınlığı ayrı ayrı belirlenmiş, H skoru elde edilmiştir. H skoru minimum 5, maksimum 300 olarak değerlendirilmiştir. FGFR1 H skoru ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki incelenmiştir. Şekil 4.5'da YEHA tümörlerinde FGFR1 ekspresyonunun immünohistokimyasal boyanması sonucu elde edilen ışık mikroskopik görüntüleri verilmiştir.



Şekil 4.6. YEHAK' da FGFR1 ekspresyonu

- a. Aynı tümör kesiti içinde +2(sağ) ve +3 (sol) yoğunlukta FGFR1 ekspresyonu (x50)
- b. Aynı tümör kesiti içinde hiç boyanmayan ve farklı yoğunlukta FGFR1 ekspresyonu gösteren alanlar (x50)
- c. +1 yoğunlukta FGFR1 ekspresyonu (x630)
- d. +2 yoğunlukta FGFR1 ekspresyonu (x400)
- e. +3 yoğunlukta FGFR1 ekspresyonu (x50)
- f. Bazaloid YEHA' da +3 yoğunlukta FGFR1 ekspresyonu (x50)
- g. Bronş epitelinde +3 yoğunlukta boyanma (x100) (kontrol)
- h. Pnömositlerde FGFR1 boyanması (x400)

FGFR1 H skoru açısından yapılan istatistiksel değerlendirmede kadın ve erkek cinsiyet arasındaki fark sınırdadır ($p=0,051$).

FGFR1 H skoru ile olguların AJCC 8. TNM evrelemesine göre, T evresi ($p=0,265$), N evresi ($p=0,874$), M evresi ($p=0,169$) ve Evre ($p=0,634$) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir.

FGFR1 H skoru ile yaş ($p=0,274$), tümör boyutu ($p=0,733$), sigara kullanım öyküsü (aktif içici veya sigarayı bırakmış/ hiç içmemiş) ($p=0,560$), sigara paket yılı ($p=0,397$) arasında da istatistiksel anlamlı bir fark izlenmemiştir.

FISH ile FGFR1 amplifikasyonu bulunduran tümörlerde FGFR1 H skoru daha yüksek saptanmıştır ($p=0,017$). FGFR1 amplifikasyon durumuna göre ortalama FGFR1 H skor değeri Tablo 4.7’de verilmiştir.

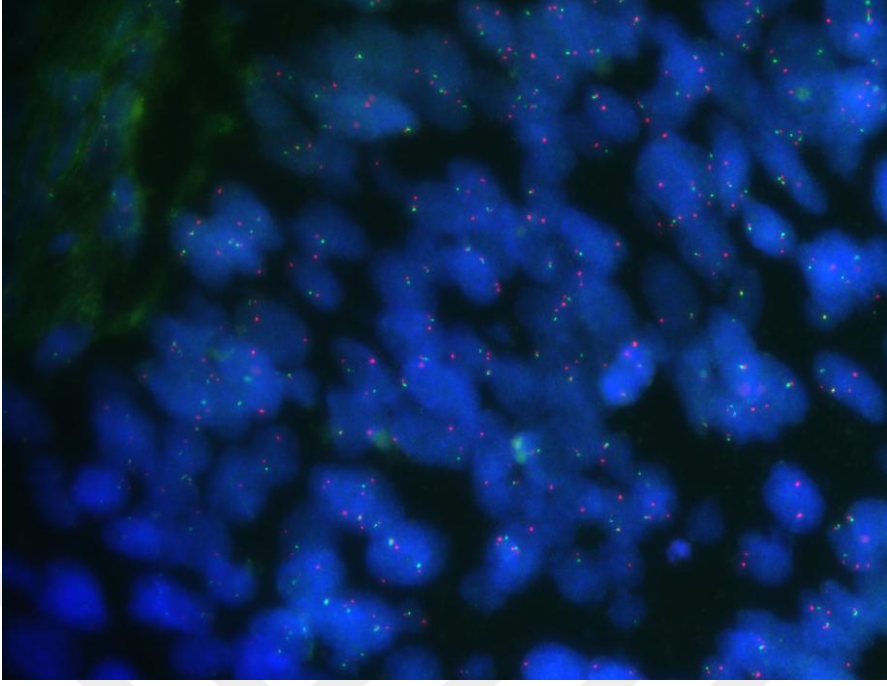
Tablo 4.7. FGFR1 H skoru ve FGFR1 amplifikasyon ilişkisi

FGFR1 amplifikasyonu	FGFR1 H skoru		P değeri
	Ortalama	Standart sapma	
var	199,355	82,429	0,017
yok	156,576	84,691	

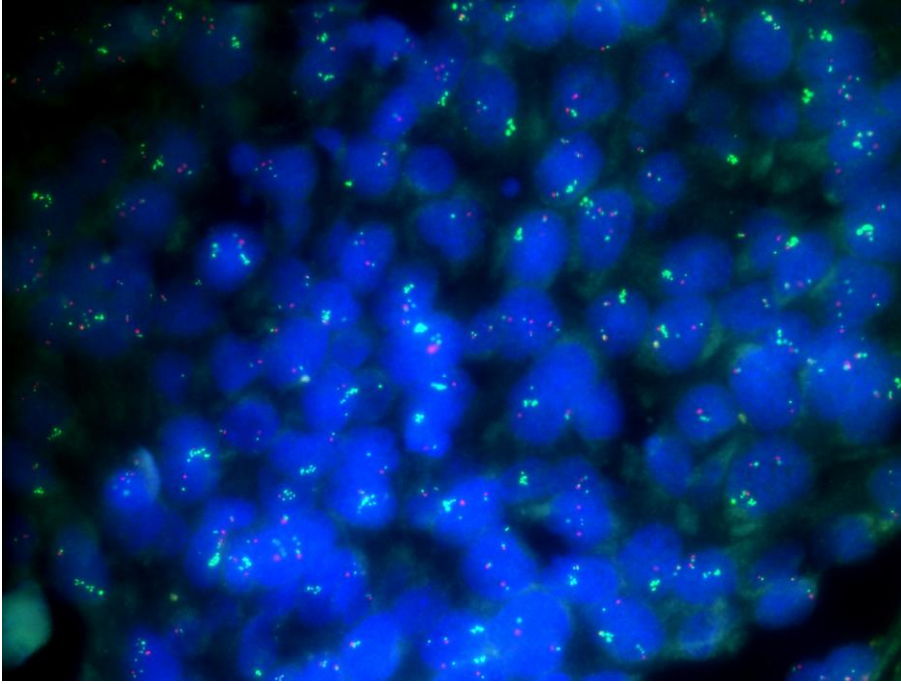
4.3. FGFR1 Amplifikasyonunun Klinikopatolojik Parametrelerle İlişkisi

Çalışmaya dahil edilen 130 hastanın 7’ sinde (%5,4) tümör hücre sayısının yetersiz olması nedeniyle FISH testi uygulanamamış, FGFR1 amplifikasyonu belirlenememiştir. Geriye kalan 123 hastada FISH ile amplifikasyon “pozitif” 31 hasta (%25,2), “negatif” 92 (%74,7) hasta tespit edilmiştir.

Normal hücre sinyal paterninde 2 turuncu ve 2 yeşil sinyal olması beklenilmektedir (Şekil 4.6). FGFR1 gen lokusunun amplifiye olduğu nükleuslarda ise; yeşil sinyalin çoklu kopyaları veya yeşil sinyal kümelerinin varlığı görülmektedir (Şekil 4.7).

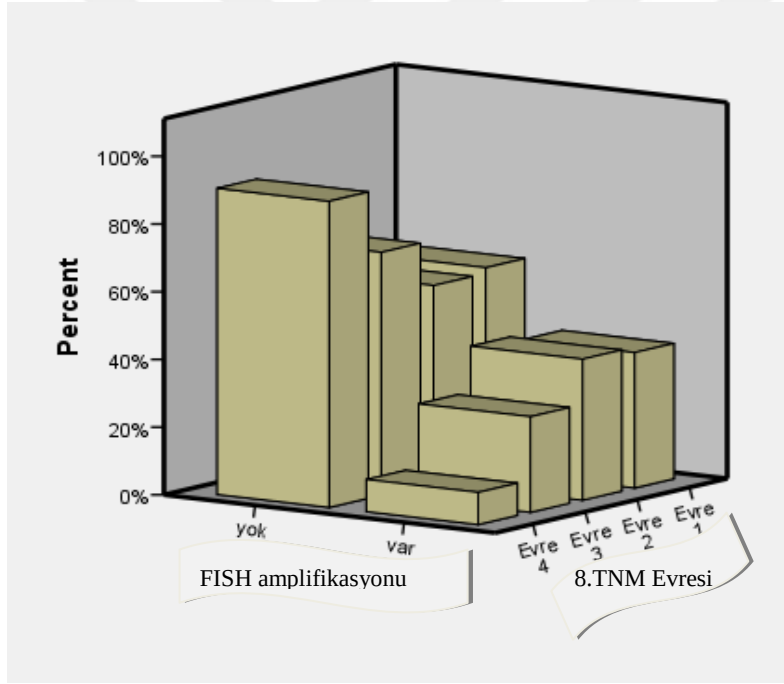


Şekil 4.7. FISH ile FGFR1 amplifikasyonu “yok”



Şekil 4.8. FISH ile FGFR1 amplifikasyonu “var”

FGFR1 amplifikasyon varlığı ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki incelenmiştir. FGFR 1 amplifikasyonu “var” ve “yok” grupları arasındaki dağılım Tablo 4.8’de gösterilmiştir. Gruplar arasında cinsiyet ($p=0,992$), yaş ($p=0,584$), sigara kullanım öyküsü (aktif içici veya sigarayı bırakmış/ hiç içmemiş), sigara paket yılı ($p=0,156$), tanı anındaki T evresi ($p=0,121$), N evresi ($p=0,384$), tümör boyutu ($p=0,762$), tümör diferansiasyon derecesi ($p=0,111$) arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamamıştır. FGFR1 ampifikasyonu “var” olan olgularda FGFR1 H skoru daha yüksek saptanmıştır ($p=0,017$). Ayrıca FGFR1 amplifikasyon varlığı tanı anında erken evrede (Evre I ve II) ($p=0,013$) olan ve metastaz saptanmayan (M0) olgularda ($p=0,02$) daha sık izlenmektedir. TNM evre ve FGFR1 amplifikasyon durum dağılımı Şekil 4.8’de gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Evre ve FGFR1 amplifikasyon durum dağılımı

Tablo 4.8. FGFR1 amplifikasyon durumuna göre klinikopatolojik parametreler

Parametreler			Toplam	FGFR1 Amplifikasyonu				p değeri
				Var		Yok		
				sayı	%	sayı	%	
Tanı yaşı (ortalama±standart sapma)				62,80± 6,61		61,92±10,36	0,584	
Cinsiyet	Erkek		119	30	25,2	89	74,8	0,992
	Kadın		4	1	25	3	75	
Sigara	Aktif içici		75	18	24	57	76	0,625
	Bırakmış / hiç içmemiş		39	11	28,2	28	71,8	
Diferansiasyon		iyi	15	1	6,7	14	93,3	0,111
		orta	70	17	24,3	53	75,7	
		kötü	38	13	34,2	25	65,8	
Evre	Erken	I	10	4	40	6	60	0,013
		II	24	10	41,7	14	58,3	
	İleri	III	46	13	28,3	33	71,7	
		IV	42	4	9,5	38	90,5	
T	T1		12	1	8,3	11	91,7	0,121
	T2		27	11	40,7	16	59,3	
	T3		25	7	28	18	72	
	T4		57	12	21,1	45	78,9	
N	N0		36	10	27,8	26	72,2	0,384
	N1		35	19	54,3	16	45,7	
	N2		39	9	23,1	30	76,9	
	N3		21	3	14,3	18	85,7	
M	0		80	27	33,7	53	66,3	0,02
	1a		18	2	11,1	16	88,9	
	1b		11	0	0	11	100	
	1c		13	2	15,4	11	84,6	
Tümör çapı (cm)	1 (≤ 3)		24	4	16,7	20	83,3	0,762
	2 (3,1-5)		45	14	31,1	31	68,9	
	3 (5,1-7)		26	7	26,9	19	73,1	
	4 (> 7)		23	6	26,1	17	73,9	
H skor ±Standart Sapma				199,35±82,42		156,57±84,69		0,017

4.4. Sağ kalımın Klinikopatolojik Parametrelerle İlişkisi

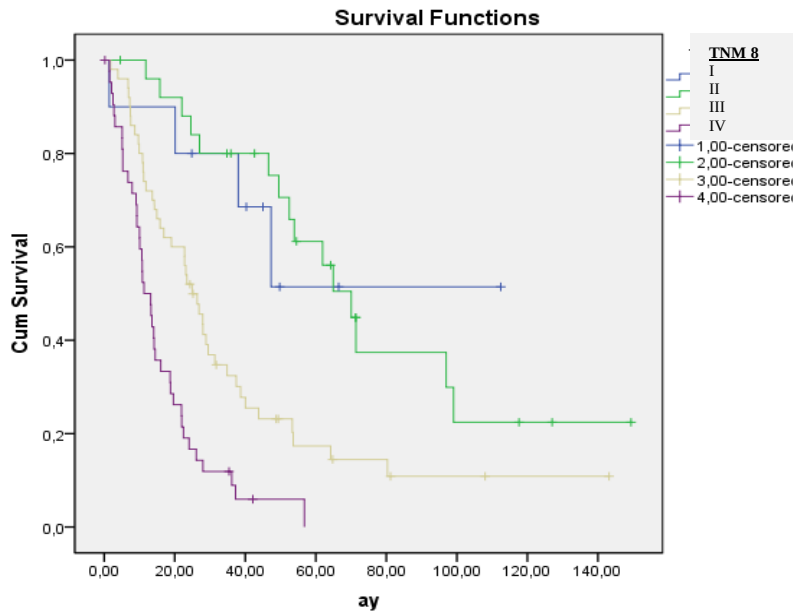
Çalışmaya dahil olan hastaların genel olarak ortalama sağ kalımı $42,58 \pm 4,36$ aydır. Cinsiyetler arası yapılan karşılaştırmalarda kadınlarda ortalama sağ kalım süresi $50,99 \pm 25,59$ ay, erkeklerde ise $42,50 \pm 4,49$ olup istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamaktadır ($p=0,16$).

Tanı konulduktan sonra tüm hastaların ilk 5 ay içinde hayatta kalma oranı %92 iken 1 yıl içinde hayatta kalma oranı %71'e ve 3 yıl içinde %39'a düşmektedir. Hastaların 101 (% 77,7) tanesinin 1-99 ay arasında değişen sürelerde yaşamını kaybettiği saptanmıştır.

Çalışmaya alınan hastalarda beklendiği üzere evrelere göre belirgin sağ kalım farkı izlenmiştir. Evre I'de ortalama sağ kalım $72,45 \pm 15,10$, Evre II'de $77,81 \pm 10,26$, Evre III'de $38,77 \pm 6,20$, Evre IV'te $16,05 \pm 2,14$ aydır. ($p<0,01$) (Şekil 4.9).

Tanı anındaki N evresine göre genel sağ kalım oranları incelendiğinde N0 evresinde ortalama sağ kalım $56,68 \pm 8,58$ ay iken N3 evresinde $16,23 \pm 2,23$ aya düşmektedir. N evresi arttıkça genel sağ kalım azalmaktadır ($p < 0,01$).

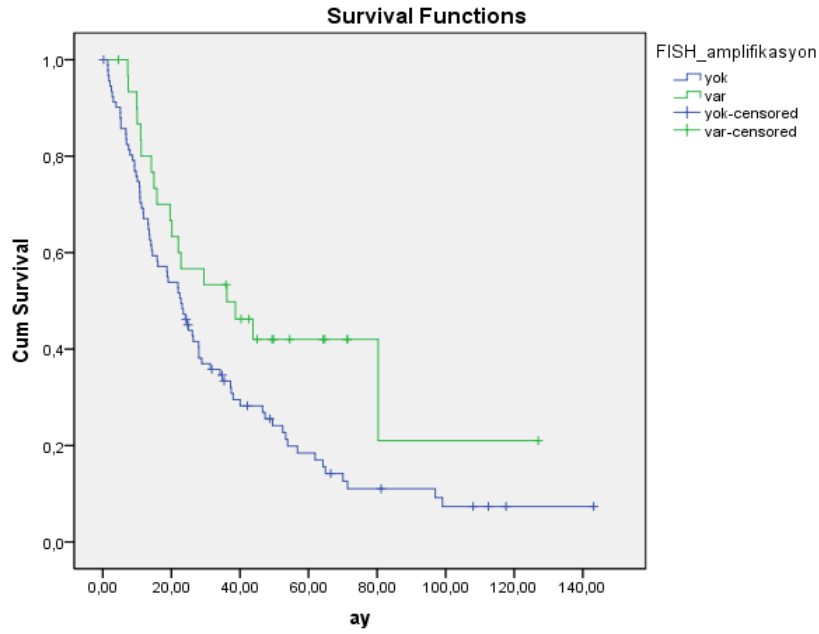
Tanı anında metastatik olan hastalarda istatistiksel olarak belirgin şekilde sağ kalımda azalma izlenmiştir ($p<0,001$)



Şekil 4.10. Evreye göre hastaların genel sağ kalım grafiği

Tümör diferansiasyon derecesi ($p= 0,343$) , tümör boyutu ($p=0,63$) ile genel sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p= 0,343$).

FGFR1 amplifikasyonu ile genel sağ kalım arasında anlamlı bir korelasyon vardır ($p 0,025$). FGFR1 amplifikasyonu “var” olan 31 hastanın ortalama sağ kalım süresi $55,25 \pm 10,43$ ay iken, “yok” olanlarda $35,76 \pm 4,2$ aydır (Şekil 4.10).



Şekil 4.11. FGFR1 amplifikasyon durumuna göre genel sağ kalım grafiği

5. TARTIŞMA

Akciğer kanseri dünya çapında en yaygın kanserdir ve kansere bağlı mortalitenin önde gelen nedenidir. Spesifik semptomlarının olmaması nedeniyle, çoğu akciğer kanseri hastası ileri veya metastatik evrelerde tanı almaktadır. Akciğer kanserinde tanısal yaklaşımlar ve tedavi seçeneklerinde son yıllarda büyük ölçüde ilerlemeler olmasına rağmen, çoğu akciğer kanseri hastası hala kötü prognoza sahiptir ve 5 yıllık sağ kalım oranları % 15 civarındadır. Akciğer kanserinde prognoz ile ilgili faktörleri araştırmak, tedavi seçiminde ve hasta sağ kalım oranının artmasında büyük bir öneme sahiptir (104).

KHDAK tüm akciğer kanserlerinin % 85'ini oluşturmaktadır. YEHA , ADK, adenoskuamöz hücreli karsinom ve BHK, KHDAK'larının ana histolojik alt tipleridir (105).

EGFR mutasyonu ve ALK ve ROS1 yeniden düzenlemeleri gibi onkojenik değişikliklerin tanımlanması ve hedeflenmesi ile KHDAK'da tedavi yaklaşımı değişmiştir. Akciğer tümörlerinde genomik profillerin ve histolojik alt tiplerin önemi artmıştır. Bununla birlikte, ADK ile karşılaştırıldığında, YEHA'da sadece birkaç terapötik hedeflenebilir genom değişikliği bulunmuştur (106).

YEHA, ADK'dan sonra %20-30 oranında en sık görülen ikinci KHDAK alt tipidir. YEHA sigara içimi ile yakın ilişkilidir ve erkeklerde daha sık izlenir (105). Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak 130 hastanın 126'sı erkek hastalardan oluşmakta ve hastaların %89,2'sinde sigara kullanım öyküsü bulunmaktadır.

YEHA daha çok santral lokalizasyon gösterir. Bununla birlikte, periferik YEHA prevalansı da artmaktadır (107). Bizim çalışmamızda da olguların çoğunda tümör santral lokalizasyonda olup, hastaların %10,8'inde periferik lokalizasyondadır.

YEHA'da yeni tanınmış moleküler hedeflerden biri fibroblast büyüme faktörü reseptörü (FGFR) genidir. FGFR farklı doku tiplerinde hücresel proliferasyon, farklılaşma ve sağ kalımı düzenlemede rol oynayan ve mutasyona uğradığında onkojenik potansiyele sahip olabilen tirozin kinaz reseptörleridir.

FGFR1'in aktivasyonu gen amplifikasyonu, translokasyon veya aktive edici mutasyonlar olmak üzere temel olarak üç ana mekanizma ile gerçekleşir

(104, 108-110). Myeloproliferatif hastalıklarda ve glioblastomların bir kısmında FGFR1 translokasyonu , nadir olmakla birlikte melanomlarda FGFR1 mutasyonu ve baş-boyun, akciğer, meme ve ürotelyal kanserlerde de FGFR1 amplifikasyonu farklı çalışmalarda bildirilen FGFR1 gen değişiklikleridir (110).

Son yıllarda, YEHAK'da tümör DNA'sında tanımlanabilir driver mutasyonlar içinde, 8p12 amplikonun neden olduğu fibroblast büyüme faktörü reseptörü 1 (FGFR1) amplifikasyonu en sık görülen değişikliklerdir ve özellikle sigara kullanım öyküsü olan hastalarda gösterilmiştir (106).

2010 yılında Weiss ve ark.'ları YEHAK'da %22 oranında FGFR1 amplifikasyonunu göstermişlerdir ve çoğunu aktif sigara içicisi olan hastalar oluşturmaktadır (11).

YEHAK'larından oluşan 13 çalışmanın incelendiği bir metaanalizde çalışmalar arasında yöntem, tanımlama ve etnik farklılıklar bulunmakla birlikte FGFR1 amplifikasyonu %19 oranında saptanmıştır (8).

YEHAK odaklı üç farklı çalışmada FGFR1 amplifikasyon oranları sırası ile % 13,0 (34/262), % 18,2 (22/121) ve % 16,0 (37/226) bulunmuştur (99, 111-112). 2016 yılında yapılan bir metaanaliz sonucunda KHDAK olgularının %8,7-20,0'ında FGFR1 amplifikasyonu bildirilmiştir. FGFR1 amplifikasyonu, YEHAK'larında (%9,7–28,3) ADK'lara (%0–15,0) göre daha sık olarak saptanmıştır (104). Biz çalışmamızda YEHAK' da %25,2 oranında FGFR1 amplifikasyonu saptadık.

FGFR amplifikasyonunu belirlemede çalışmalarda kullanılan temel test FISH olmakla birlikte RT-PCR, SNP ve CS-ISH diğer kullanılan yöntemlerdir. FISH testi, parafine gömülü doku ile gerçekleştirilebilir, amplifikasyon tespiti için yüksek hassasiyete sahiptir, duyarlılık ve özgüllüğü yüksektir ve sonuçları objektif olarak yorumlanabilir bir metoddur. Bu özellikleri ile de gen amplifikasyon tespitinde altın standart kabul edilmektedir. Ancak FGFR1 amplifikasyonunu saptamak için tanımlanmış standart değerlendirme kriterleri bulunmamaktadır. Çalışılan hasta popülasyonundaki farklılıklar yanı sıra çalışmalardaki FGFR1 amplifikasyon oranlarındaki farklılığın temel nedenlerinden biri de bu kriterlerin çalışmalar arasındaki değişkenliğidir. Çalışmamızda FGFR1 amplifikasyonunu belirlemek için tümörlerdeki FGFR1

geni kopya sayısını taramak üzere standart test olarak kabul edilen FISH testi uygulanmıştır. Değerlendirmemizde FGFR1 amplifikasyonu “var” demek için, duyarlılık ve özgüllüğü daha yüksek olarak saptanan *FGFR1/CEN8 oranının* 2 ve üzerinde olması kriter olarak belirlenmiştir. Bunların dışında literatürde şimdiye kadar FISH ile FGFR1 amplifikasyonunun belirlenmesinde farklı kriterler kullanılmıştır. Örneğin Sousa ve ark.nın çalışmasında FGFR1/CEN8 oranı $\geq 2,0$ (113); Seo ve ark.çalışmasında FGFR1 gen kopya sayısı $\geq 6,2$ (14); Toschi ve ark.nın çalışmasında FGFR1 gen kopya sayısı ≥ 4 /hücre (114); Kim ve ark.nın çalışmasında FGFR1 gen kopya sayısı >9 (99); Craddock ve ark.nın çalışmasında FGFR1 gen kopya sayısı ≥ 5 /hücre (111); Pros ve ark.nın çalışmasında FGFR1 gen kopya sayısı ≥ 12 (115); Shildhaus ve ark.nın çalışmasında FGFR1/CEN8 oranı ≥ 2.0 veya FGFR1 gen kopya sayısı ≥ 6 /hücre veya $\geq 15\%$ tümör hücresinde FGFR1 sinyali veya $\geq 10\%$ büyük kümelenmeler (110); Heist ve ark. nın çalışmasında FGFR1/CEN8 oranı ≥ 2.2 (112); Weiss ve ark.nın çalışmasında ise FGFR1 gen kopya sayısı >9 (11) ise amplifikasyon varlığı yönünde değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda protein ekspresyonu, IHK’sal FGFR1 ekspresyonu ile değerlendirilmiştir. FGFR ekspresyonu aynı tümör kesiti içinde farklı alanlarda farklı yoğunlukta boyanma göstermiş, bu durum YEHA’lardaki intratümöral heterojeniteye bağlanmıştır. FGFR1 ekspresyonunu belirlemede en doğru oranı verebilmek için her tümör için H skoru belirlenmiştir. Boyanmayan alanlar olmasına rağmen hiçbir hastada genel tümör kesitinde H skoru sıfır olarak değerlendirilmemiştir. FGFR1 H skoru ile klinikopatolojik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon görülmemiştir.

FISH ile FGFR amplifikasyonu gösteren sadece 31 hasta mevcuttur ve amplifikasyon gösteren hastalarda anlamlı bir şekilde H skoru daha yüksek değerlerde saptanmıştır. Kim ve ark.’ları da FGFR1 amplifikasyonu ve mRNA / protein ekspresyonu arasında güçlü bir korelasyon olduğunu göstermişlerdir (99).

Çalışmamızda ALK ve EGFR gibi diğer biyobelirteçler üzerinde yapılan çalışmalarda ve Wyness ve ark.nın TKİ duyarlılığı üzerine yaptığı çalışmada protein ekspresyonu, mRNA ekspresyonu ve gen kopya amplifikasyonu arasında farklılıklar tespit edilmiştir (116-117). Bu çalışmalarda FISH testinin, protein

ekspresyonunda değişikliklere neden olabilen nokta mutasyonları, füzyonlar ve kromozomal translokasyonlar gibi FGFR1 geninin diğer değişikliklerini tespit etmede yetersiz olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda FGFR1 amplifikasyonu ile H skoru koreledir, ancak FGFR1 ekspresyonu hemen tüm hastalarda görölmesine rağmen FGFR1 amplifikasyonu sadece % 25,2 oranında izlenmiştir.

Baş ve boyun bölgesi yassı epitel hücreli karsinomlarında yapılan bir çalışmada FGFR1 kopya sayıları, mRNA ve protein ekspresyon durumu belirlenip, FGFR inhibitörü olan BGJ398'e karşı duyarlılıklarına bakılmıştır. FGFR1 gen amplifikasyonu ile mRNA ve protein ekspresyon arasında korelasyon görölmemiştir. İlginç bir şekilde, protein ekspresyonu ve mRNA seviyeleri yüksek olanların BGJ398'e daha duyarlı olduğu gözlenmiştir (118).

Freier ve ark.'ları çalışmalarında oral yassı epitel hücreli kanserlerde % 17.4' oranında FGFR1 amplifikasyon oranı tanımlanmış, ancak FGFR1 kopya sayısı ve protein aşırı ekspresyonu arasında bir ilişki bulunmamıştır (119). Pros ve ark.'ları da akciğer kanserinde, FGFR1 amplifikasyonu ve aşırı ekspresyon arasındaki korelasyonu yetersiz bulmuştur (115).

YEHAİ'u sigara kullanımı ve maruz kalınan doz ile direkt ilişkili bir kanserdir. Hastalarımızın çoğu aktif sigara içicisidir ve sigara kullanmayan sadece 5 hasta bulunmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda FGFR 1 gen amplifikasyonu sigara kullanıp kullanmama durumuna göre değerlendirilememiştir. Sigaraya maruz kalınan süre göz önüne alınarak sigarayı bırakmış ve hiç sigara içmemişler ile aktif sigara içicilerini karşılaştırdığımızda da anlamlı bir fark görölmemiştir. Hastaları sigara kullanım dozu açısından değerlendirdiğimizde ise FGFR1 amplifikasyonu sigara paket yılı ile de ilişkisizdir. Bir metaanaliz çalışmasında FGFR1 amplifikasyonu, aktif sigara içenlerin % 13.3-29.0'ında, eski sigara içicilerinin % 2.5-23.0'ında ve hiç sigara içmeyenlerin% 0-22.2'sinde ortaya çıkmıştır (104). Kim ve ark.'ları (99), Craddock ve ark.'ları(111) ve Russell ve ark.'ları (120) FGFR1 amplifikasyonu sıklığının, aktif sigara içenlerde, eskiden sigara içen ve hiç sigara içmeyenlerden daha yüksek olduğunu, kullanılan sigara dozunun da FGFR1 amplifikasyonu ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Sigaranın FGFR1 gen değişikliklerine sebep olduğu, sigara ve FGFR1'in birbirinden bağımsız etki gösterdiği ya da beraber tümör gelişiminde tetikleyici olduğu düşünölmekle birlikte bu alanda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır(102).

FGFR geninde amplifikasyonları da içeren değişiklikler YEHAH dışında gastrik, meme, baş ve boyun yassı hücreli kanserleri, over kanseri ve ürotelyal kanser de dahil olmak üzere birçok epitelyal malignitede saptanmıştır (95, 121). FGFR1 gen amplifikasyonunun meme kanserinde (122) ve ürotelyal kanserde(123) kötü prognozla ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır.

YEHAH' da FGFR1 gen amplifikasyonunun prognostik değerini araştıran çalışmalardan birçoğu FGFR1 gen amplifikasyonunun sağ kalımı etkilemediği, hatta sağ kalımı azalttığı sonucuna varmıştır. Ancak bu çalışmaların çoğunda hasta alt gruplarına göre değerlendirme yapılmamıştır (8, 13, 16, 124).

Tran ve ark.'larının çalışmasında FGFR1 amplifikasyonu gösteren olguların genel sağ kalım sürelerinin daha uzun olduğu saptanmıştır (125). Bizim çalışmamızda da FGFR1 amplifikasyonu gösteren olgularda genel sağ kalım süresi $55,25 \pm 10,43$ ay i, “yok” olanlarda ise $35,76 \pm 4,2$ ay olarak saptanmıştır. çalışmamızda FGFR1 amplifikasyonu erken evre ve tanı anında metastatik olmayan hastalarda daha sık oranlardadır.

YEHAH tanısı alan 101 hastada yapılan yeni bir çalışmada FGFR1 amplifikasyonu %22 oranında saptanmış, ileri evrede (Evre III-IV) FGFR1 gen amplifikasyonu taşıyan hastaların genel sağ kalımı anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada kadınlarda , FGFR1 amplifikasyonu, daha uzun sağ kalım süreleri ile de ilişki olarak değerlendirilmiş ve FGFR1'in kadınlar ve özellikle ileri evre hastalarda iyi bir prognostik belirteç olduğu düşünölmüştür (126). Benzer bir sonuç Heist ve arkadaşları tarafından da saptanmış, çalışmalarında FGFR1 gen amplifikasyonu taşıyan ileri evredeki hastaların daha iyi bir sağ kalım gösterdiğini belirlemişlerdir (112).

FGFR1 gen amplifikasyonunun olumlu prognostik etkisinin altında yatan mekanizma bilinmemektedir: FGFR1 gen amplifikasyonu, Heist ve ark. ve Kim ve ark.larının belirttiği gibi tümör proliferasyonunu doğrudan etkileyebilir veya radyoterapi veya kemoterapiye daha iyi bir yanıt ile ilişkili olabilir. FGFR1 gen amplifikasyonunun doğrudan tümör büyümesini etkileyip etkilemediğini veya

kemoterapiye daha etkili bir yanıt oluşturup oluşturmadığını değerlendirmek için ek çalışmalar gereklidir.

Çalışmamızda kadın hasta sayısı dört olup FGFR1 amplifikasyonu sadece bir hastada saptanmıştır. Bu nedenle amplifikasyon ve cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Cihoric ve ark. (102) , Russell ve ark.(120) ve Craddock ve ark.'larının(111) yaptıkları çalışmada FGFR1 amplifikasyonunu erkek hastalarda (sırasıyla % 14,8,% 17,1 ve 22,1), kadın hastalardan (sırasıyla % 5.9 , % 8.5 ve 11,4) daha sık oranda bulunmuştur. YEHAK'nun erkek ve sigara içen hastalarda daha fazla görüldüğü bilinmekle birlikte, FGFR1 amplifikasyonu ve cinsiyet arasında korelasyonu değerlendirmek için daha fazla hasta popülasyonu içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yapılan çalışmalarda ve metaanalizlerde tümör diferansiasyon derecesi ile FGFR1 amplifikasyonu arasında anlamlı bir farklılık grlmemiştir(8, 127-128). Çalışmamızda da FGFR1 amplifikasyon oranı tümör diferansiasyon derecesinden bağımsızdır . Üç hasta bazoloid alt tipte YEHAK tanılı olup, bu hastalardaki FGFR1 ile hemen tüm alanlarda orta ve şiddetli yoğunlukta ve homojen dağılım gösteren ekspresyon dikkati çekmiştir. Ayrıca bu hastalardan 2 tanesinde FISH ile FGFR1 amplifikasyonu saptanmıştır. Sadece 3 hasta olduğu için istatistiksel analizlerde ayrı kategoride değerlendirilememiş, kötü derecede diferansiye tümörlere dahil edilmiştir. Bazoloid tipte YEHAK' nu klasik YEHAK'dan farklı histomolekler yapı göstermektedir. Sitotoksik kemoterapiye intrinsik direnç geliştirmesi ve kötü prognoz göstermesinde de bu biyolojik farklılıklarının etkili olduğu gösterilmiştir (129). Basaloid tip YEHAK'u FGFR1'in değerlendirildiği çalışmalarda hiç yok veya çok az sayıda olup FGFR1 amplifikasyon ve ekspresyon oranları, farklılıkları bilinmemektedir. İlerideki çalışmalarda basaloid tipin de ayrıca ve daha fazla hasta popülasyonunda değerlendirilmesi, FGFR1 hedefli tedavi seçiminde yol gösterici olacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Akciğer kanseri dünyada en sık görülen ve en sık mortaliteye neden olan kanser türüdür. Akciğer kanseri gelişimi çok basamaklı bir süreç olup, birçok genetik değişiklik tanımlanmıştır. Genetik değişikliklere, sürücü mutasyonlara sahip tümörler, oluşan gen ürünlerini hedefleyen tedavilere karşı oldukça hassastır.

Son yıllarda hedefe yönelik tedaviler ve immünoterapideki gelişmeler ile ADK'larda uzun süreli yanıt ve sağ kalım elde edilmiştir. Ancak YEHAH'da tedavi seçenekleri sınırlıdır olup sitotoksik ajanlar kullanılmaktadır. Saptanan öncü mutasyonların bir kısmı ilaç geliştirme aşamasında olup, tümörde bu mutasyonların bakılması klinik pratiğe henüz girmemiştir.

Son zamanlarda popüler kanser driver genlerinden biri haline FGFR1 kromozom 8p11.23'de lokalizedir. FGFR1' in aktivasyonu veya amplifikasyonu oral bölge ve özefagus yassı epitel hücreli kanserlerinde, over, mesane, prostat ve akciğer kanserlerinde saptanmıştır. Preklinik çalışmalar FGFR1 sinyalizasyonun inhibe edilmesinin anti-proliferatif ve proapoptotik etkilerle tümör çapında anlamlı azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Bu da FGFR inhibitörlerinin FGFR1 amplifikasyonu bulunduran YEHAH'da etkili bir terapötik seçenek olabileceğini destekler niteliktedir.

FGFR1 inhibitör tedavisine aday olabilecek hasta popülasyonunun en doğru şekilde seçilmesi, bu alandaki tedavinin geleceğini belirleyecektir. Bununla ilgili pek çok devam eden çalışma mevcut olup çeşitli FGFR1 tirozin kinaz inhibitörleri (TKİ) klinik geliştirme aşamasındadır.

YEHAH hastalarında FGFR1 amplifikasyonunun değerlendirilmesine yönelik bir çok çalışma yapılmasına rağmen, FGFR1'in net amplifikasyon oranı ve sağ kalıma etkisi henüz anlaşılamamıştır. Çalışmaların bir kısmı FGFR1 amplifikasyon gösteren YEHAH'lu hastaların kötü prognoza sahip olduğunu bir kısmı da FGFR1'in prognozla ilişkisiz olduğunu savunmaktadır. Bizim çalışmamızda FGFR1 amplifikasyon oranı %25,2 oranında saptanmış olup , daha çok erken evre (evre I ve II) ve tanı esnasında metastatik olmayan (M0) YEHAH hastalarında amplifikasyon oranı yüksek bulunmuştur. İHK'sal FGFR1 ekspresyonu H skoru, amplifikasyon gösteren hastalarda yüksek olmakla birlikte

kl nikopatolojik hiçbir parametre ile H skoru arasında anlamlı korelasyon saptanamamıştır. Ayrıca bazaloloid tipte YEHA  tanılı 3 hastada İHK'sal FGFR1 ile hemen tüm alanlarda yüksek oranda ekspresyon dikkati çekmiş ve bu hastalardan 2 tanesinde FISH ile FGFR1 amplifikasyonu saptanmıştır. Bazoloid tipte YEHA 'nın farklı histomolek ler yapısının kemoterapiye direnç geliştirmesi ve prognozunun daha kötü olması ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (129). Basaloid tip YEHA 'unda FGFR1'in değerlendirildiği çalışmalar yok denecek kadar az olup FGFR1 amplifikasyon ve ekspresyon oranları, farklılıkları bilinmemektedir. Çalışmalarda basoloid tipin de ayrıca ve daha fazla hasta populasyonunda değerlendirilmesi gerekmektedir.

Çalışmamızda YEHA 'da tedavide hedef olabilecek FGFR1 amplifikasyonunun prevalansı ve prognostik  onemini, FGFR1 İHK'sal bulguların FISH ile korelasyonunu değerlendirerek amplifikasyonu ne oranda yansıttığını ve FGFR1 amplifikasyonu ile YEHA 'un klinik özellikleri arasındaki ilişkiyi saptamaya çalıştık.

FGFR1 amplifikasyonunu değerlendirmeye yönelik yapılan çalışmalardaki tutarsız sonuçlar, çalışmalardaki örneklem sayılarının değişken olması, farklı hastalık aşamalarında olan hastaları içermesi, kullanılan yöntem ve değerlendirme kriterlerinin farklılığından kaynaklanıyor olabilir. Daha büyük ve çok merkezli çalışmalar ve standardize edilmiş değerlendirme kriterleri FGFR1 amplifikasyonunun prognostik  onemini belirlemeye, hedefe yönelik tedavide doğru hasta seçimine yardımcı olacaktır.

7. ÖZET

Yassı epitel hücreli akciğer karsinomlarında immünohistokimya ve floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemleriyle FGFR1'in değerlendirilmesi

Akciğer kanseri, kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenidir. Akciğer kanserinde hastaların sağ kalımları ve prognozları üzerinde etkili olabilecek klinik, patolojik ve genetik birçok faktör bulunmaktadır. Fibroblast büyüme faktörü reseptörü 1 (FGFR1) amplifikasyonu, son zamanlarda çeşitli kanser türlerinde tanımlanan bir genomik aberrasyondur, özellikle YEHA' da potansiyel olarak uygun bir hedef olarak tanımlanmıştır. YEHA' da FGFR1'in amplifikasyon oranları ve prognostik faktörleri tartışmalıdır.

Çalışmamızda kendi toplumumuzda FGFR1 amplifikasyonunun prevalansını belirlemek, FGFR1 amplifikasyonu ile YEHA'nun klinikopatolojik özellikleri arasında bir ilişki kurmak ve prognostik önemini saptamanın yanısıra immünohistokimyasal (İHK) FGFR1 ekspresyonu ve Floresans insitu hibridizasyon (FISH) analizi ile FGFR1 amplifikasyonu arasındaki uyum oranını değerlendirmeyi amaçladık. Çalışmamıza 130 YEHA hastası dahil edilmiştir. Hastaların demografik bilgileri, tanı anındaki tümör evre, lenf nodu tutulumu (N) ve metastaz (M) durumu, diferansiasyonu, son görülme tarihleri, ölen hastaların ölüm tarihi gibi bilgileri kaydedilmiştir. FISH değerlendirmesi için yeterli tümör hücresi bulunan 123 hasta değerlendirmeye alınmıştır. Bu hastaların FISH ile FGFR1 amplifikasyonu ve İHK ile FGFR1 ekspresyon durumları incelenmiştir.

FGFR1'in FISH bazlı amplifikasyonu, YEHA hastalarında %25,2 oranında tanımlanmıştır. Bu çalışmada FGFR1 amplifikasyonunun erken evrede ve tanıda metastatik olmayan hastalarda daha sık ortaya çıktığı, amplifikasyon gösteren olguların genel sağ kalımının daha yüksek olduğu saptanmıştır. Sigara kullanım miktarı, diferansiasyon, lenf nodu metastazı, yaş, cinsiyet, tümör çapı ile ilişki saptanmamıştır. İHK'sal FGFR1'in yüksek ekspresyonunun FGFR1 amplifikasyonu ile korele olduğu görülmüştür. Ayrıca bazaloid tip YEHA' u olan 3 hastada FGFR1 ekspresyonu şiddeti ve yüzdesi daha yüksek olup bunların 2'si FGFR1 amplifikasyonu bulundurmaktadır.

Klinik çalışmalarda bir dizi FGFR inhibitörü şu anda analiz edilmektedir. Verilerimiz FGFR1'in sadece öngörücü veya prognostik bir belirteç olarak değil, aynı zamanda tümör terapisi için de bir hedef olabileceğini göstermektedir. FGFR1'in FISH ve IHK'sal ekspresyonunun kombine analizi, bu yeni tedavi seçeneklerinden yararlanabilecek hastaları seçmek için kriterleri tanımlamaya yardımcı olabilir.

Anahtar kelimeler: FGFR1, yassı epitel hücreli akciğer karsinomu, amplifikasyon



8. ABSTRACT

Evaluation of FGFR1 by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization (FISH) in squamous cell lung carcinomas

Lung cancer is the leading cause of cancers related deaths. There are many clinical, pathological and genetic factors that may be effective on the survival and prognosis of patients in lung cancer. Fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) amplification has recently been described as a genomic aberration identified in various types of cancers, specifically defined as a potentially appropriate target in lung squamous cell carcinoma (SCC). The amplification ratios and prognostic factors of FGFR1 in lung SCC are controversial.

In our study, we aimed to determine the prevalence of FGFR1 amplification in our population, to evaluate the association between FGFR1 amplification and clinicopathological parameters of lung SCC and to determine its prognostic significance, as well as the correlation between immunohistochemical FGFR1 expression rate and FGFR1 gene amplification status (by fluorescence in situ hybridization). In our study, 130 patients with lung SCC were included. Demographic information of the patients, tumor stage, lymph node involvement (N) and metastasis (M) status at the time of diagnosis, differentiation, last seen dates, death date of the patients were recorded. A total of 123 patients with adequate tumor cells were evaluated for FISH evaluation. FGFR1 amplification with FISH and FGFR1 expression with IHC status of the patients were examined.

FISH-based amplification of FGFR1 has been defined as 25.2 % in patients with lung SCC. In this study, it was found that FGFR1 amplification was more common in early stage and non-metastatic patients in diagnosis and the overall survival rate was higher in the amplification cases. No relationship was found with the amount of smoking, differentiation, lymph node metastasis, age, gender, and tumor diameter. The high expression of IHC FGFR1 was found to correlate with FGFR1 amplification. In addition, in three patients with basoidal type SCC, FGFR1 expression severity and percentage are higher and in two of these patients have FGFR1 amplification.

A number of FGFR inhibitors are currently being analyzed in clinical trials. Our data suggest that FGFR1 can be not only a predictive or prognostic marker, but also a target for tumor therapy. The combined analysis of FISH and IHC expression of FGFR1 can help to identify criteria for selecting patients who can benefit from these new treatment options.

Key Words: FGFR1, squamous cell lung carcinoma, amplification



9. KAYNAKLAR

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA: a cancer journal for clinicians. 2018.
2. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. CA Cancer J Clin. 2018 Jan;68(1):7-30.
3. Girard L, Rodriguez-Canales J, Behrens C, Thompson DM, Botros IW, Tang H, et al. An expression signature as an aid to the histologic classification of non-small cell lung cancer. Clinical Cancer Research. 2016;clincanres. 2900.015.
4. Waxman ES, Fossella FV. Biomarkers/Molecular Targets, Immunotherapy, and Treatments for Non-Small Cell Lung Cancer. Journal of the advanced practitioner in oncology. 2016;7(5):514.
5. Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx A, Nicholson AG. Introduction to the 2015 World Health Organization classification of tumors of the lung, pleura, thymus, and heart. Journal of thoracic oncology. 2015;10(9):1240-2.
6. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JH, Beasley MB, et al. The 2015 World Health Organization classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification. Journal of thoracic oncology. 2015;10(9):1243-60.
7. Singh AP, Adrianzen Herrera D, Zhang Y, Perez-Soler R, Cheng H. Mouse models in squamous cell lung cancer: impact for drug discovery. Expert opinion on drug discovery. 2018;13(4):347-58.
8. Jiang T, Gao G, Fan G, Li M, Zhou C. FGFR1 amplification in lung squamous cell carcinoma: a systematic review with meta-analysis. Lung cancer. 2015;87(1):1-7.
9. Rooney M, Devarakonda S, Govindan R. Genomics of squamous cell lung cancer. The oncologist. 2013;18(6):707-16.

10. Villaruz LC, Burns TF, Socinski MA. Do oncogenic drivers exist in squamous cell carcinoma of the lung? *Oncology* (Williston Park, NY). 2013;27(9):906.
11. Weiss J, Sos ML, Seidel D, Peifer M, Zander T, Heuckmann JM, et al. Frequent and focal FGFR1 amplification associates with therapeutically tractable FGFR1 dependency in squamous cell lung cancer. *Science translational medicine*. 2010;2(62):62ra93-62ra93.
12. Pathways M. Fibroblast Growth Factor Signaling: A New Therapeutic Opportunity in Cancer Brooks, A. Nigel; Kilgour, Elaine; Smith, Paul D. *Clinical Cancer Research*. 2012;18(7):1855-62.
13. Wang Y, Gao W, Xu J, Chen X, Yang Y, Zhu Y, et al. The role of FGFR1 gene amplification as a poor prognostic factor in squamous cell lung cancer: a meta-analysis of published data. *BioMed research international*. 2015;2015.
14. Seo AN, Jin Y, Lee HJ, Sun P-L, Kim H, Jheon S, et al. FGFR1 amplification is associated with poor prognosis and smoking in non-small-cell lung cancer. *Virchows Archiv*. 2014;465(5):547-58.
15. Xie F-J, Lu H-Y, Zheng Q-Q, Qin J, Gao Y, Zhang Y-P, et al. The clinical pathological characteristics and prognosis of FGFR1 gene amplification in non-small-cell lung cancer: a meta-analysis. *OncoTargets and therapy*. 2016;9:171.
16. Yang W, Yao Y-W, Zeng J-L, Liang W-J, Wang L, Bai C-Q, et al. Prognostic value of FGFR1 gene copy number in patients with non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Journal of thoracic disease*. 2014;6(6):803.
17. Loeb LA, Emster VL, Warner KE, Abbotts J, Laszlo J. Smoking and lung cancer: an overview. *Cancer Research*. 1984;44(12 Part 1):5940-58.
18. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2015;65(1):5-29.

19. World Health Organization. The top 10 causes of death Fact sheet N°310 The 10 leading causes of death by broad income group. 10 Eylül 2018, Erişim adresi: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>
20. World Health Organization. Cancer today. Erişim tarihi 10 Eylül 2018, Erişim adresi: <https://gco.iarc.fr/today/home>
21. Türkiye İstatistik Kurumu. Erişim tarihi: 10 Eylül 2018, Erişim adresi: http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1083.
22. World Health Organization. Cancer today. Erişim tarihi: 10 Eylül 2018, Erişim adresi: <http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/792-turkey-fact-sheets.pdf>.
23. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Kurumu. Türkiye kanser istatistikleri 2015, Ankara. Erişim tarihi: 10 Eylül 2018, Erişim adresi: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2015.pdf.
24. Akciğer Kanseri Yol Haritası. Türk Toraks Derneği. 2016 Şubat. Erişim tarihi: 10 Eylül 2018, Erişim adresi: <http://www.toraks.org.tr/userfiles/file/YOLHARITASI.pdf>
25. Türkiye İstatistik Kurumu. Erişim tarihi: 10 Eylül 2018, Erişim adresi: <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=27620>.
26. Travis WD BE, Burke AP, Marx A, Nicholson AG, editor. WHO Classification of Tumors of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. Lyon:IARC2015.
27. Cancer Stat Facts: Lung and Bronchus Cancer. Erişim tarihi: 10 Eylül 2018, Erişim adresi: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/lungb.html>.
28. General OotS. The Health Effects of Active Smoking: A Report of the Surgeon General. Washington, DC: US GPO. 2004.
29. Schwartz AG. Genetic predisposition to lung cancer. Chest. 2004;125(5):86S.
30. Ou S-HI, Ziogas A, Zell JA. Prognostic factors for survival in extensive stage small cell lung cancer (ED-SCLC): the importance of smoking

- history, socioeconomic and marital statuses, and ethnicity. *Journal of Thoracic Oncology*. 2009;4(1):37-43.
31. Organization WH. WHO report on the global tobacco epidemic, 2017: monitoring tobacco use and prevention policies: executive summary. 2017.
 32. Cruz CSD, Tanoue LT, Matthay RA. Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention. *Clinics in chest medicine*. 2011;32(4):605-44.
 33. Leone FT, Evers-Casey S, Toll BA, Vachani A. Treatment of tobacco use in lung cancer: diagnosis and management of lung cancer: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2013;143(5):e61S-e77S.
 34. Smith C, Perfetti T, Rumple M, Rodgman A, Doolittle D. "IARC group 2A Carcinogens" reported in cigarette mainstream smoke. *Food and Chemical Toxicology*. 2000;38(4):371-83.
 35. Smith C, Perfetti T, Rumple M, Rodgman A, Doolittle D. "IARC Group 2B carcinogens" reported in cigarette mainstream smoke. *Food and Chemical Toxicology*. 2001;39(2):183-205.
 36. Boffetta P, Pershagen Gr, Jöckel K-H, Forastiere F, Gaborieau V, Heinrich J, et al. Cigar and pipe smoking and lung cancer risk: a multicenter study from Europe. *Journal of the National Cancer Institute*. 1999;91(8):697-701.
 37. Alberg AJ, Samet JM. Epidemiology of lung cancer. *Chest*. 2003;123(1):21S-49S.
 38. Rostmus P. Epidemiology of Lung Cancer. *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders*. USA The McGraw-Hill Companies; 1998.
 39. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2005;55(2):74-108.
 40. Bastian LA, Gray KE, DeRycke E, Mirza S, Gierisch JM, Haskell SG, et al. Differences in active and passive smoking exposures and lung cancer incidence between veterans and non-veterans in the Women's Health Initiative. *The Gerontologist*. 2016;56(Suppl_1):S102-S11.

41. Driscoll T, Nelson DI, Steenland K, Leigh J, Concha-Barrientos M, Fingerhut M, et al. The global burden of disease due to occupational carcinogens. *American journal of industrial medicine*. 2005;48(6):419-31.
42. Huang Y-J, Huang T-W, Lin F-H, Chung C-H, Tsao C-H, Chien W-C. Radiation therapy for invasive breast cancer increases the risk of second primary lung cancer: a nationwide population-based cohort analysis. *Journal of thoracic oncology*. 2017;12(5):782-90.
43. Alberg AJ, Brock MV, Ford JG, Samet JM, Spivack SD. Epidemiology of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2013;143(5):e1S-e29S.
44. Mannino DM, Midthun DE. Cigarette smoking and other possible risk factors for lung cancer.
45. Yang P, Sun Z, Krowka MJ, Aubry M-C, Bamlet WR, Wampfler JA, et al. Alpha1-antitrypsin deficiency carriers, tobacco smoke, chronic obstructive pulmonary disease, and lung cancer risk. *Archives of internal medicine*. 2008;168(10):1097-103.
46. Bobba RK, Holly JS, Loy T, Perry MC. Scar carcinoma of the lung: a historical perspective. *Clinical lung cancer*. 2011;12(3):148-54.
47. Lorigan P, Radford J, Howell A, Thatcher N. Lung cancer after treatment for Hodgkin's lymphoma: a systematic review. *The lancet oncology*. 2005;6(10):773-9.
48. Tanvetyanon T, Bepler G. Beta-carotene in multivitamins and the possible risk of lung cancer among smokers versus former smokers: a meta-analysis and evaluation of national brands. *Cancer*. 2008;113(1):150-7.
49. Yong L-C, Brown CC, Schatzkin A, Dresser CM, Slesinski MJ, Cox CS, et al. Intake of vitamins E, C, and A and risk of lung cancer the NHANES I epidemiologic followup study. *American journal of epidemiology*. 1997;146(3):231-43.

50. Vineis P, Anttila S, Benhamou S, Spinola M, Hirvonen A, Kiyohara C, et al. Evidence of gene–gene interactions in lung carcinogenesis in a large pooled analysis. *Carcinogenesis*. 2007;28(9):1902-5.
51. Matakidou A, Eisen T, Houlston R. Systematic review of the relationship between family history and lung cancer risk. *British journal of cancer*. 2005;93(7):825.
52. Zhai K, Ding J, Shi H-Z. HPV and lung cancer risk: a meta-analysis. *Journal of Clinical Virology*. 2015;63:84-90.
53. Hou W, Fu J, Ge Y, Du J, Hua S. Incidence and risk of lung cancer in HIV-infected patients. *Journal of cancer research and clinical oncology*. 2013;139(11):1781-94.
54. Castro CY, Ostrowski ML, Barrios R, Green LK, Popper HH, Powell S, et al. Relationship between Epstein-Barr virus and lymphoepithelioma-like carcinoma of the lung: a clinicopathologic study of 6 cases and review of the literature. *Human pathology*. 2001;32(8):863-72.
55. Ganie FA, Wani ML, Lone H, Wani SN, Hussain SA. Carcinoma lung: Clinical presentation, diagnosis, and its surgical management. *The Journal of Association of Chest Physicians*. 2013;1(2):38.
56. Akciğer ve Plevra Maligniteleri Çalışma Grubu. Akciğer kanseri tanı ve tedavi rehberi. *Toraks Dergisi* 2006;7(130):1-35.
57. Yılmazbayhan ED. Akciğer Kanserinde Patolojik Tanı. *Türkiye Klinikleri Journal of Pulmonary Medicine Special Topics*. 2014;7(1):20-8.
58. Kadota K, Nitadori J-i, Rekhtman N, Jones DR, Adusumilli PS, Travis WD. Reevaluation and reclassification of resected lung carcinomas originally diagnosed as squamous cell carcinoma using immunohistochemical analysis. *The American journal of surgical pathology*. 2015;39(9):1170.
59. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, Geisinger KR, Yatabe Y, et al. International association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international

- multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *Journal of thoracic oncology*. 2011;6(2):244-85.
60. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins temel patoloji: Nobel Tıp Kitabevleri; 2014.
 61. Felip E. New perspectives in squamous cell carcinoma of the lung. *Medicographia*. 2015;37:256-62.
 62. Rosai J. Rosai and Ackerman's surgical pathology e-book: Elsevier Health Sciences; 2011.
 63. Kadara H, Scheet P, Wistuba II, Spira AE. Early events in the molecular pathogenesis of lung cancer. *Cancer prevention research*. 2016;9(7):518-27.
 64. Hoda SA, D'alfonso TM. Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology. LWW; 2015.
 65. Kadota K, Miyai Y, Katsuki N, Kushida Y, Matsunaga T, Okuda M, et al. A grading system combining tumor budding and nuclear diameter predicts prognosis in resected lung squamous cell carcinoma. *The American journal of surgical pathology*. 2017;41(6):750-60.
 66. Funai K, Yokose T, Ishii G-i, Araki K, Yoshida J, Nishimura M, et al. Clinicopathologic characteristics of peripheral squamous cell carcinoma of the lung. *The American journal of surgical pathology*. 2003;27(7):978-84.
 67. Yousem SA. Peripheral squamous cell carcinoma of lung: patterns of growth with particular focus on airspace filling. *Human pathology*. 2009;40(6):861-7.
 68. Rossi G, Pelosi G, Barbareschi M, Graziano P, Cavazza A, Papotti M. Subtyping Non-Small Cell Lung Cancer: Relevant Issues and Operative Recommendations for the Best Pathology Practice. *International journal of surgical pathology*. 2013;21(4):326-36.
 69. Husain A. Thoracic Pathology: Elsevier Health Sciences; 2012.
 70. Ogino S, Franks TJ, Yong M, Koss MN. Extensive squamous metaplasia with cytologic atypia in diffuse alveolar damage mimicking squamous cell carcinoma: a report of 2 cases. *Human pathology*. 2002;33(10):1052-4.

71. Moro D, Brichon PY, Brambilla E, Veale D, Labat F, Brambilla C. Basaloid bronchial carcinoma. A histologic group with a poor prognosis. *Cancer*. 1994;73(11):2734-9.
72. Detterbeck FC, Boffa DJ, Kim AW, Tanoue LT. The eighth edition lung cancer stage classification. *Chest*. 2017;151(1):193-203.
73. Köksal D, Aksu F. Review of the Proposals in the Forthcoming 8th TNM Classification of Lung Cancer. *Europe*. 2016;46:49.
74. Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, Rami-Porta R, Asamura H, Eberhardt WE, et al. The IASLC lung cancer staging project: proposals for revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (eighth) edition of the TNM classification for lung cancer. *Journal of thoracic oncology*. 2016;11(1):39-51.
75. Soldera SV, Leighl NB. Update on the treatment of metastatic squamous non-small cell lung cancer in new era of personalized medicine. *Frontiers in oncology*. 2017;7:50.
76. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, Sugawara S, Oizumi S, Isobe H, et al. Gefitinib or chemotherapy for non–small-cell lung cancer with mutated EGFR. *New England Journal of Medicine*. 2010;362(25):2380-8.
77. Shaw AT, Kim D-W, Nakagawa K, Seto T, Crinó L, Ahn M-J, et al. Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer. *New England Journal of Medicine*. 2013;368(25):2385-94.
78. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, Chitale DA, Dacic S, Giaccone G, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *Journal of thoracic oncology*. 2013;8(7):823-59.
79. Network CGAR. Comprehensive genomic characterization of squamous cell lung cancers. *Nature*. 2012;489(7417):519.
80. Kanseri A. VII. Ulusal Akciğer Kanseri Kongresi.

81. Shim HS, Choi Y-L, Kim L, Chang S, Kim W-S, Roh MS, et al. Molecular Testing of Lung Cancers. *Journal of pathology and translational medicine*. 2017;51(3):242.
82. Korpanty GJ, Graham DM, Vincent MD, Leighl NB. Biomarkers that currently affect clinical practice in lung cancer: EGFR, ALK, MET, ROS-1, and KRAS. *Frontiers in oncology*. 2014;4:204.
83. Leukam MJ, Villaflor VM. Advances in molecular and immunologic targeted therapies for squamous cell carcinoma of the lung. *Translational Cancer Research*. 2015;4(4):403-14.
84. Heist RS, Sequist LV, Engelman JA. Genetic changes in squamous cell lung cancer: a review. *Journal of thoracic oncology*. 2012;7(5):924-33.
85. Perez-Moreno P, Brambilla E, Thomas R, Soria J-C. Squamous cell carcinoma of the lung: molecular subtypes and therapeutic opportunities. *Clinical Cancer Research*. 2012;18(9):2443-51.
86. Kırkıl G. Akciğer Kanserinde Karsinogenez. *Türkiye Klinikleri Journal of Thoracic Surgery Special Topics*. 2017;8(1):7-13.
87. Kubbutat MH, Jones SN, Vousden KH. Regulation of p53 stability by Mdm2. *Nature*. 1997;387(6630):299.
88. Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, Seike M, Kumamoto K, Yi M, et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell*. 2006;9(3):189-98.
89. Postow MA, Callahan MK, Wolchok JD. Immune checkpoint blockade in cancer therapy. *Journal of clinical oncology*. 2015;33(17):1974.
90. Creelan BC. Update on immune checkpoint inhibitors in lung cancer. *Cancer Control*. 2014;21(1):80-9.
91. Wesche J, Haglund K, Haugsten EM. Fibroblast growth factors and their receptors in cancer. *Biochemical Journal*. 2011;437(2):199-213.
92. Desai A, Adjei AA. FGFR signaling as a target for lung cancer therapy. *Journal of thoracic oncology*. 2016;11(1):9-20.

93. Porta R, Borea R, Coelho A, Khan S, Araújo A, Reclusa P, et al. FGFR a promising druggable target in cancer: Molecular biology and new drugs. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2017;113:256-67.
94. Tiseo M, Gelsomino F, Alfieri R, Cavazzoni A, Bozzetti C, De Giorgi AM, et al. FGFR as potential target in the treatment of squamous non small cell lung cancer. *Cancer treatment reviews*. 2015;41(6):527-39.
95. Turner N, Grose R. Fibroblast growth factor signalling: from development to cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2010;10(2):116.
96. Yashiro M, Matsuoka T. Fibroblast growth factor receptor signaling as therapeutic targets in gastric cancer. *World journal of gastroenterology*. 2016;22(8):2415.
97. Dienstmann R, Rodon J, Prat A, Perez-Garcia J, Adamo B, Felip E, et al. Genomic aberrations in the FGFR pathway: opportunities for targeted therapies in solid tumors. *Annals of oncology*. 2013;25(3):552-63.
98. Dutt A, Ramos AH, Hammerman PS, Mermel C, Cho J, Sharifnia T, et al. Inhibitor-sensitive FGFR1 amplification in human non-small cell lung cancer. *PLoS One*. 2011;6(6):e20351.
99. Kim HR, Kim DJ, Kang DR, Lee JG, Lim SM, Lee CY, et al. Fibroblast growth factor receptor 1 gene amplification is associated with poor survival and cigarette smoking dosage in patients with resected squamous cell lung cancer. *Journal of clinical oncology*. 2012;31(6):731-7.
100. Rooney C, Geh C, Williams V, Heuckmann JM, Menon R, Schneider P, et al. Characterization of FGFR1 locus in sqNSCLC reveals a broad and heterogeneous amplicon. *PLoS One*. 2016;11(2):e0149628.
101. Helsten T, Elkin S, Arthur E, Tomson BN, Carter J, Kurzrock R. The FGFR landscape in cancer: analysis of 4,853 tumors by next-generation sequencing. *Clinical Cancer Research*. 2016;22(1):259-67.
102. Cihoric N, Savic S, Schneider S, Ackermann I, Bichsel-Naef M, Schmid R, et al. Prognostic role of FGFR1 amplification in early-stage non-small cell lung cancer. *British journal of cancer*. 2014;110(12):2914.

103. Malchers F, Dietlein F, Schöttle J, Lu X, Nogova L, Albus K, et al. Cell-autonomous and non-cell-autonomous mechanisms of transformation by amplified FGFR1 in lung cancer. *Cancer discovery*. 2014;4(2):246-57.
104. Miao J-L, Liu R-J, Zhou J-H, Meng S-H. Fibroblast growth factor receptor 1 gene amplification in nonsmall cell lung cancer. *Chinese medical journal*. 2016;129(23):2868.
105. Zhang Y, Zheng D, Li Y, Pan Y, Sun Y, Chen H. Comprehensive investigation of clinicopathologic features, oncogenic driver mutations and immunohistochemical markers in peripheral lung squamous cell carcinoma. *Journal of thoracic disease*. 2017;9(11):4434.
106. Wang K, Ji W, Yu Y, Li Z, Niu X, Xia W, et al. FGFR1-ERK1/2-SOX2 axis promotes cell proliferation, epithelial-mesenchymal transition, and metastasis in FGFR1-amplified lung cancer. *Oncogene*. 2018:1.
107. Sakurai H, Asamura H, Watanabe S-i, Suzuki K, Tsuchiya R. Clinicopathologic features of peripheral squamous cell carcinoma of the lung. *The Annals of thoracic surgery*. 2004;78(1):222-7.
108. Kim H, Kang H, Shim H, Kim E, Kim J, Kim D, et al. Co-clinical trials demonstrate predictive biomarkers for dovitinib, an FGFR inhibitor, in lung squamous cell carcinoma. *Annals of Oncology*. 2017;28(6):1250-9.
109. Shum E, Wang F, Kim S, Perez-Soler R, Cheng H. Investigational therapies for squamous cell lung cancer: from animal studies to phase II trials. *Expert opinion on investigational drugs*. 2017;26(4):415-26.
110. Schildhaus H-U, Nogova L, Wolf J, Buettner R. FGFR1 amplifications in squamous cell carcinomas of the lung: diagnostic and therapeutic implications. *Translational lung cancer research*. 2013;2(2):92.
111. Craddock KJ, Ludkovski O, Sykes J, Shepherd FA, Tsao M-S. Prognostic value of fibroblast growth factor receptor 1 gene locus amplification in resected lung squamous cell carcinoma. *Journal of Thoracic Oncology*. 2013;8(11):1371-7.

112. Heist RS, Mino-Kenudson M, Sequist LV, Tammireddy S, Morrissey L, Christiani DC, et al. FGFR1 amplification in squamous cell carcinoma of the lung. *Journal of Thoracic Oncology*. 2012;7(12):1775-80.
113. Sousa V, Reis D, Silva M, Alarcão AM, Ladeirinha AF, d'Aguiar MJ, et al. Amplification of FGFR1 gene and expression of FGFR1 protein is found in different histological types of lung carcinoma. *Virchows Archiv*. 2016;469(2):173-82.
114. Toschi L, Finocchiaro G, Nguyen TT, Skokan MC, Giordano L, Gianoncelli L, et al. Increased SOX2 gene copy number is associated with FGFR1 and PIK3CA gene gain in non-small cell lung cancer and predicts improved survival in early stage disease. *PloS one*. 2014;9(4):e95303.
115. Pros E, Lantuejoul S, Sanchez-Verde L, Castillo SD, Bonastre E, Suarez-Gauthier A, et al. Determining the profiles and parameters for gene amplification testing of growth factor receptors in lung cancer. *International journal of cancer*. 2013;133(4):898-907.
116. Wynes MW, Hinz TK, Gao D, Martini M, Marek L, Ware KE, et al. FGFR1 mRNA and protein expression, not gene copy number, predict FGFR TKI sensitivity across all lung cancer histologies. *Clinical cancer research*. 2014;clincanres. 3060.2013.
117. Hirsch FR, Varella-Garcia M, Bunn Jr PA, Di Maria MV, Veve R, Bremnes RM, et al. Epidermal growth factor receptor in non-small-cell lung carcinomas: correlation between gene copy number and protein expression and impact on prognosis. *Journal of clinical oncology*. 2003;21(20):3798-807.
118. von Mässenhausen A, Franzen A, Heasley L, Perner S. FGFR1 as a novel prognostic and predictive biomarker in squamous cell cancers of the lung and the head and neck area. *Annals of translational medicine*. 2013;1(3).
119. Freier K, Schwaenen C, Sticht C, Flechtenmacher C, Mühling J, Hofele C, et al. Recurrent FGFR1 amplification and high FGFR1 protein expression in oral squamous cell carcinoma (OSCC). *Oral oncology*. 2007;43(1):60-6.

120. Russell PA, Yu Y, Young RJ, Conron M, Wainer Z, Alam N, et al. Prevalence, morphology, and natural history of FGFR1-amplified lung cancer, including squamous cell carcinoma, detected by FISH and SISH. *Modern Pathology*. 2014;27(12):1621.
121. Xie Z, Cheng D, Luo L, Shen G, Pan S, Pan Y, et al. Design, synthesis and biological evaluation of 4-bromo-N-(3, 5-dimethoxyphenyl) benzamide derivatives as novel FGFR1 inhibitors for treatment of non-small cell lung cancer. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*. 2018;33(1):905-19.
122. Shi Y-J, Tsang JY, Ni Y-B, Chan S-K, Chan K-F, Tse GM. FGFR1 is an adverse outcome indicator for luminal A breast cancers. *Oncotarget*. 2016;7(4):5063.
123. Lim S, Koh MJ, Jeong HJ, Cho NH, Choi YD, Cho DY, et al. Fibroblast growth factor receptor 1 overexpression is associated with poor survival in patients with resected muscle invasive urothelial carcinoma. *Yonsei medical journal*. 2016;57(4):831-9.
124. Jun XF, Yun F. The clinical pathological characters and prognosis of FGFR1 gene amplification in non-small cell lung cancer: A meta-analysis. *American Society of Clinical Oncology*; 2015.
125. Tran TN, Selinger CI, Kohonen-Corish MR, McCaughan BC, Kennedy CW, O'Toole SA, et al. Fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) copy number is an independent prognostic factor in non-small cell lung cancer. *Lung cancer*. 2013;81(3):462-7.
126. Flockerzi FA, Roggia C, Langer F, Holleczer B, Bohle RM. FGFR1 gene amplification in squamous cell carcinomas of the lung: a potential favorable prognostic marker for women and for patients with advanced cancer. *Virchows Archiv*. 2018;472(5):759-69.
127. Guo Q, Sun Y, Yu S, Bai H, Zhao J, Zhuo M, et al. Programmed cell death-ligand 1 (PD-L 1) expression and fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR 1) amplification in stage III/IV lung squamous cell carcinoma (SQC). *Thoracic cancer*. 2017;8(2):73-9.

128. Pu D, Liu J, Li Z, Zhu J, Hou M. Fibroblast Growth Factor Receptor 1 (FGFR1), partly related to Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 (VEGFR2) and microvessel density, is an independent prognostic factor for non-small cell lung cancer. Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research. 2017;23:247.
129. Brambilla CG, Laffaire J, Lantuejoul S, Moro-Sibilot D, Nagy-Mignotte H, Arbib F, et al. Lung squamous cell carcinomas with basaloid histology represent a specific molecular entity. Clinical cancer research. 2014:clincanres. 0459.2014.