T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE ULUSLARARASI TIP FAKÜLTESİ
KARTAL DR. LÜTFİ KIRDAR ŞEHİR HASTANESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KARSİNOMLARI'NDA SİRTUİN (SIRT) SIRT1 VE SIRT2 EKSPRESYONUNUN KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELER İLE İLİŞKİSİ

Dr. Fatma Çakmak Kazancı

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL - 2021

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE ULUSLARARASI TIP FAKÜLTESİ
KARTAL DR. LÜTFİ KIRDAR ŞEHİR HASTANESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KARSİNOMLARI'NDA SİRTUİN (SIRT) SIRT1 VE SIRT2 EKSPRESYONUNUN KLİNİKOPATOLOJİK PARAMETRELER İLE İLİŞKİSİ

Dr. Fatma Çakmak Kazancı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nagehan Özdemir Barışık

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL - 2021

TEŞEKKÜR

Her koşulda desteğini hissettiğim, bu zorlu tez sürecinde ve asistanlık hayatım boyunca bilgisiyle ve yardımıyla hep yanımda olan, bizi hep iyiye teşvik eden, bu konuda sürekli çabalayan, çalışma disiplinini ve ahlaki duruşunu örnek aldığım ve kendisinin öğrencisi olmaktan onur duyacağım en başta çok saygıdeğer hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Nagehan Özdemir Barışık' a,

Neye cevap bulamasam ilk danışanım, güler yüzü ve hoşgörüsüyle beni karşılayan, bilgisiyle beni çözüme kavuşturan ve enerjisiyle motivasyon veren, ilk vakamı baktığım, ilk posterimi hazırladığım ve patolojiyi bana sevdiren sevgili hocam Prof. Dr. Aylin Ege Gül'e,

Sevgisini, bilgisini ve desteğini aktarmaktan, fedakarlıktan çekinmeyen, samimiyeti, güler yüzü ve ilgisiyle herkesin yardımına koşan, fikirlerine hep ihtiyaç duyacağım sevgili hocam Doç. Dr. Sevinç Hallaç Keser' e,

Asistanlık hayatım boyunca yetişmemde büyük katkıları olan, beni uzmanlık hayatıma hazırlayan, emeklerine her zaman minnettar kalacağım başta değerli hocalarım Doç. Dr. Dr. Dilek Yavuzer ve Doç. Dr. Kayhan Başak'a, uzmanlarım Dr. Dilek Ece, Dr. Murat Erkan, Dr. Sibel Çetinkaya, Dr. Şükran Kayıpmaz, Dr. Goncagül Geçmen, Dr. Deniz Çelik ve Dr. Didem Doğan 'a,

Zorlu asistanlık yıllarımda muhabbetleriyle günümün en keyifli anlarını geçirdiğim çalışma hayatımı güzelleştiren arkadaşlarım Dr. Seda Mazmanoğlu, Dr. Hande Güneş, Dr. Begüm Ersoy, Dr. Özgül Özdemir, Dr. Hakan Öztürkçü, Dr. Merve Çaputçu, Dr. Yağız İnallı, Dr. Gizem Anıl, Dr. Sakine Çati ve Dr. Mervenur Şahin'e,

Tezimin belki de en zor kısmında bana yardım eden sevgili Senem Elif Arpa ve Candan Bacak başta olmak üzere tüm patoloji bölümü çalışanlarına,

Bana öğrettiği herşey için minnettar olduğum, kalbimde taşıdığım canım babama, destekçim biricik anneme, varlığından güç aldığım çok sevgili eşime ve bu hayatta sahip olduğum en değerli varlığıma, evlatlarıma sonsuz teşekkürlerimle…

Dr. Fatma Çakmak Kazancı

İstanbul, 2021

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i
ÖZET iii
ABSTRACT v
KISALTMALAR vii
TABLO LİSTESİ ix
ŞEKİL LİSTESİ x
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
3. GEREÇ VE YÖNTEM 49
4. BULGULAR 55
5. TARTIŞMA 67
6. SONUÇLAR 73
7. KAYNAKÇA 75
8. ÖZGEÇMİŞ 89
9. EKLER 91

ÖZET

Amaç: Akciğer kanseri dünya çapında kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenlerinden biridir. Küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK)ve Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri (KHDAK) iki ana alt tipini oluşturur. Son yıllarda gelişen teknoloji ile birlikte kanser patogenezinde çeşitli moleküler yolaklar keşfedilmiş, hedefe yönelik tedaviler ve prognoz tahmininde kullanılmaya başlanmıştır. Sirtuinlerin bugüne kadar çeşitli biyolojik süreçlerde, metabolik ve kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde etkili olduğu ve son dönemlerde artan sayıda çalışma sayesinde anormal epigenetik aktivasyonla karsinogenezde rol aldığı da kanıtlanmıştır. Yedi farklı sirtuin (SIRT1-7) insan hücrelerinde tanımlanmış olup ve SIRT1 ve SIRT2 bu amaçla en çok çalışılan sirtuinlerdir. Birçok kanser türünde etkinlikleri ispatlanmıştır, ancak akciğer kanserinde ki rolü tartışmalıdır. Hem tümör oluşumuna sebep olduğu hem de tümör baskılayıcısı olduğu yönünde kanıtlar vardır. Bu amaçla KHDAK'de SIRT1 ve SIRT2 ekspresyonun prevalansını, hastaların klinikopatolojik özellikleriyle ve sağkalım ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: 2014-2018 yılları arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kartal Dr. Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi Tıbbi Patoloji Bölümü'nde KHDAK tanısı almış 186 olguya ait akciğer rezeksiyon materyali çalışmaya alınmıştır. Hastaların demografik özellikleri ve histopatolojik verileri toplanmış ve olguların tamamına immünhistokimyasal (İHK) olarak SIRT1 ve SIRT2 boyaları uygulanmıştır. İHK'sal değerlendirme, tümör hücrelerinin SIRT1 ve SIRT2 ile boyanma yüzdesi ve yoğunluğu hesaplanarak, yüksek ve düşük ekspresyon şeklinde tariflenmiştir. SIRT1 ve SIRT2 ekspresyon durumu ile klinikopatolojik parametreler ile ilişkisi analiz edilmiştir.

Bulgular: 186 KHDAK tümör dokusunun %47,8'i skuamöz hücreli karsinom (SHK), %46,8'i adenokarsinom (ADK)ve %5,4'ü adenoskuamöz karsinom tanısı almıştır. SIRT1 ve SIRT2 ekspresyon seviyesi ile histolojik tipler arasında anlamlı bir ilişki görülmemiştir. İleri evre tümörlerde, lenf nodu metastazı varlığında ve daha büyük tümör boyutlarında düşük SIRT1 ve SIRT2 ekspresyon seviyeleri tespit

edilmiştir. Bronş tutulumu olan ve nükseden hasta gruplarında da diğer hastalara oranla daha düşük SIRT1 ve SIRT2 ekspresyon düzeyleri saptanmıştır. Sağkalım analizi sonuçlarına baktığımızda SIRT1 ve SIRT2 ekspresyon seviyelerinde daha uzun genel sağkalım süreleri tespit edilmiş, ancak sadece SIRT2 ile bu farklılık istatiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Hastalıksız sağkalım açısından incelediğimizde SIRT1 ve SIRT2 ile hastalıksız sağkalım arasında istatiksel açıdan anlamlı farklılık görülmemiştir. Bu belirteçlerin beraber kullanımına bakacak olursak, SIRT1 ve SIRT2'nin birlikte yüksek eksprese edildiği grupta (+/+) herhangi birinin düşük eksprese edildiği gruba (+/-, -/+, -/-) oranla daha uzun sağkalım sürelerinin olduğu görülmüştür (p=0,01).

Sonuçlar: Çalışmamızdaki bulgular sonucunda yüksek SIRT1 ve SIRT2 ekspresyon seviyelerinin KHDAK'de olumlu ve bağımsız prognostik parametre olabileceğini düşünmekteyiz.

Akciğer kanseri gelişimi çok basamaklı bir süreç olup patogenezde birçok genetik değişiklik tanımlanmıştır ve KHDAK'ların insidansı ve moleküler yapısı toplumlar arasında farklılıklar göstermektedir. Ayrıca ülkemizde KHDAK'ların mutasyon profiline ait yeterli veri bulunmamaktadır. Çalışmamız KHDAK tanılı Türk hastalarda SIRT1 ve SIRT2 ekspresyonunun İHK'sal olarak değerlendirildiği ve klinik parametreler ile ilişkisinin araştırıldığı ilk çalışma özelliğini taşımaktadır.

Anahtar kelimeler: Küçük hücreli dışı akciğer karsinomu, Sırt1, Sırt2, sağkalım

ABSTRACT

THE RELATIONSHİP OF SIRTUINS(SIRT) SIRT1 AND SIRT2 WITH CLİNİCOPATHOLOGICAL PARAMETERS IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER

Aim: Lung cancer is the leaading cause of cancer related deaths in the worldwide. Small cell lung cancer (SCLC) and non-small cell lung cancer (NSCLC) are the two majör subtypes of lung cancer. In recent years, varıous molecular pathways have been discovered in cancer pathogenesis with the development of technology and started to be used for tageted therapies and prognosis prediction. Sirtuins have been shown to be effective in various biological processes, pathogenesis of metabolic and cardiovascular diseases, and recently, increasing number of studies have been shown to be involved in carcinogenesis with abnormal epigenetic activation. Seven different sirtuins (SIRT1-7) have been identified and SIRT1 and SIRT2 are the most studied sirtuins for this purpose. Their efficacy has been proven in many types of cancer. However, its role in lung cancer is controversial. There is evidence that it both causes tumor formation and is tumor suppressor. For this purpose, we aimed to investigate the prevalence of SIRT1 and SIRT2 expression in NSCLC, its relationship with the clinicopathological characteristics of the patients and its prognostic value.

Materials and Methods: Lung resection materials of 186 patients diagnosed with NSCLC in the Department of Medical Pathology of Health Sciences University Kartal Dr. Lutfi Kırdar City Hospital between 2014-2018 were included in the study. Demographic characteristics and histopathological data of the patients were collected, and immunohistochemically (IHC) SIRT1 and SIRT2 stains were applied to all cases. IHC was defined as high and low expression by calculating the percentage and density of staining of tumor cells with SIRT1 and SIRT2. The expression status of SIRT1 and SIRT2 and its relationship with clinicopathological features and prognosis were analyzed.

Results: 47.8% of 186 NSCLC tumor tissues were diagnosed as skuamöz cell carsinom (SCC), 46.8% as adenocarsinom (ADC) and 5.4% as adenosquamous

carcinoma. There was no significant relationship between the expression level of SIRT1 and SIRT2 and histological types. Low expression levels of SIRT1 and SIRT2 were detected in advanced stage tumors, in the presence of lymph node metastasis and in larger tumors sizes. Lower SIRT1 and SIRT2 expression levels were found in the patient groups with bronchial involvement and recurrence. When we look at the survival results, longer overall survival times were found in SIRT1 and SIRT2expression levels, but this report was found to be statistically significant only with SIRT2. When disease-free survival was examined, there was no statistically significant difference between SIRT1 and SIRT2 and disease-free survival. When we look at the use of these markers together, it was found that the group in which SIRT1 and SIRT2 were highly expressed together (+ / +) had longer survival times compared to the group (+/-, - / +, - / -) in which either of them were under-expressed and statistically was found to be significant ($p = 0.01$). The presence of recurrence, vascular and pleural invasion were identified as independent risk factors in multivariate analyzes.

Conclusions: As a result of the findings in our study, we think that high SIRT1 and SIRT2 expression levels may be a positive and independent prognostic parameter in NSCLC.

Lung cancer development is a multi-step process, many genetic changes have been defined in the pathogenesis, and the incidence and molecular structure of NSCLCs differ between societies. In addition, there is not enough data on the mutation profile of NSCLC in our country. Our study is the first study in which the expression of SIRT1 and SIRT2 in Turkish patients with NSCLC was evaluated and its relationship with clinical parameters was investigated.

Keywords: non-small cell lung carcinoma, Sırt1, Sırt2, survival

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADK : Adenokarsinom
AJCC : Amerikan Kanser Birliği
AİS : Adenokarsinoma in situ
ALK : Anaplastik lenfoma kinaz
BHK : Büyük hücreli karsinom
BRAF : B type rapidly accelerated fibrosarcoma
CTLA-4 : T-lenfosit ilişkili antijen 4
DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü
EGFR : Epidermal büyüme faktör reseptörü
EGFR-TKI : EGFR tirozin kinaz İnhibitörleri
H&E : Hematoksilen&eozin
HDAC : Histon deasetilaz
HIF-1 alfa : Hipoksi indüklenebilir faktör-1 alfa
KHAK : Küçük hücreli akciğer kanseri
KHDAK : Küçük hücreli dışı akciğer kanseri
KRAS : Kristen rat sarkomu viral onkogen homolog gen
IASCL : Uluslararası akciğer kanseri çalışma grubu
İHK : İmmunhistokimya
LKB1 : Karaciğer kinaz B1
MAPK : Mitojen aktifleştiren protein kinaz
MET : Mezenkimal epithelyal tranzisyon faktörü
MİA : Mikroinvaziv adenokarsinom
NAD : Nicotinamide adenine dinükleotid
PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PD-1 : Programlanmış hücre ölümü-1
PD-L1 : Programlanmış hücre ölümü ligandı-1
PD-L2 : Programlanmış hücre ölümü ligandı-2
PI3K : Fosfoinositid 3-kinaz
PIP3 : Fosfatidilinositol 3,4,5-Trifosfataz
ROS1 : Proto-onkogen tirozin-protein kinaz 1

SHK : Skuamöz hücreli karsinom

SIRT1 : Sirtuin 1

SIRT2 : Sirtuin 2

SİR2 : Silent İnformation Regulatory 2

STK11 : Serin/treonin kinaz 11

TNM : Tümör, lenf nodu, metastaz

TCGA : Kanser Genom Atlası

TSG : Tümör Supresör Gen

TTF-1 : Tiroid transkripsiyon faktörü

UICC : Uluslararası Kanserle Mücadele Birliği

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1: Akciğer kanseri tiplerinde pozitif olması beklenen bazı immünhistokimyasal belirteçler 18
Tablo 2.1: Sekizinci TNM sınıflandırması; tümör ve metastaz karakteristikleri 24
Tablo 2.2: Akciğer kanserinde TNM evrelemesi 25
Tablo 3: KHDAK'nde Görülen Driver Mutasyonlar ve Bunlara Karşı 29
Tablo 4: Memeli Sirtuinleri lokalizasyonları ve hücre içi hedefleri 45
Tablo 5: SIRT1 ve SIRT2 İHK değerlendirmesinde kullanılan ''Allred Skor'' hesaplama yöntemi 52
Tablo 6: Hastaların Özellikleri 56
Tablo 7: Hastaların Klinik Özellikleri 57
Tablo 8: Hastaların Ölçümlerinin İncelenmesi 58
Tablo 9: SIRT1 ve SIRT2 Ekspresyon Seviyeleri 59
Tablo 10: SIRT1 ve SIRT2 Skoruna Göre Hasta Özelliklerinin İncelenmesi 60
Tablo 21: SIRT1 ve SIRT2 skoruna göre hasta özelliklerinin incelenmesi 61
Tablo 12: Hasta Ölçümlerinin SIRT1 ve SIRT2 skoruna göre incelenmesi 62
Tablo 13: SIRT 1 ve SIRT2'e göre tanılardaki genel sağkalım süresi 63
Tablo 14: Hastalıksız Sağ kalım Süresinin İncelenmesi 63
Tablo 15: ADK, SHK ve Hastalarında SIRT1 ve SIRT2 Ekspresyon Düzeyleri 64
Tablo 16: SIRT1 ve SIRT2 Uyumunun İncelenmesi 65
Tablo 17: SIRT1/SIRT2 uyumuna göre ölçümlerin İncelenmesi 65
Tablo 18: SIRT1/SIRT2 uyumuna göre Hasta Özelliklerinin İncelenmesi 66

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Adenokarsinom **A-**Lepidik Patern, H&E X100, **B-** Asiner patern H&E x100 13
Şekil 2: Adenokarsinom; A-Papiller Patern, H&E X100, B- Mikropapiller Patern,.14
Şekil 3: Adenokarsinom, **A-** Kribriform Patern H&E X100, **B-**Solid Patern H&E X100 14
Şekil 4: SHK, A- Keratinize Tip, H&E X100, B- Non-Keratinize tip, H&E X100..16
Şekil 5: Akciğer ADK'deki yolaklar 30
Şekil 6: KHDAK'lerde moleküler test algoritması 38
Şekil 7: İnsan sirtuinlerinin şematik yapısı.....42
Şekil 8: SIRT1 ve SIRT2 Kontrol Boyanmaları;.....52
Şekil 9: SIRT1 Nükleer Boyanmaları; A-Adenokarsinom; SIRT1 İHK X400, Kuvvetli Boyanma, B- Skuamöz Hücreli Karsinom;SIRT1 İHK X400, Kuvvetli Boyanm 53
Şekil 10: SIRT1 Nükleer Boyanmaları; A-ADK, SIRT1 İHK X400, Orta Şiddette Boyanma, B-ADK, SIRT1 İHK X200, Zayıf-Orta Şiddette Boyanma, C-SHK, SIRT1 İHKX400, Tümörde Negatif Boyanma ve pozitif iç kontrol olarak plazma hücre sitoplazmalarında boyanma, D- SHK, SIRT1 İHK X400, Zayıf-orta şiddette boyanma,.....53
Şekil 11: SIRT1 VE SIRT2 Boyanmaları, A-SHK, SIRT2 İHK X400, Kuvvetli boyanma, B-SHK, SIRT2 İHK X400, Orta şiddette boyanma 54

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanseri, dünya çapında kansere bağlı mortalitenin önde gelen sebeplerindendir. Dünyada ve ülkemizde en sık görülen ilk beş kanser türünden biridir(1). Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri (KHDAK) ve Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (KHAK) olmak üzere iki ana histolojik alt tipe ayrılır. Çoğunlukla skuamöz hücreli karsinom (SHK) ve adenokarsinomdan (ADK) oluşan KHDAK, tüm akciğer kanseri vakalarının yaklaşık %80'ini oluşturmaktadır. KHDAK'lerin ise %50'sinden fazlasını adenokarsinomlar oluşturur (2).

KHDAK'ler histolojik olarak birçok alt tipe ayrılır. Tedavi yaklaşımları ve prognoz alt tipler arasında farklılık gösterir. Bu açıdan bakıldığında histolojik tiplendirmenin doğru yapılması, tümörün moleküler karakteristiğinin iyi belirlenmesi gereklidir (3). Son yıllarda KHDAK patogenezindeki bilgilerin artması, tirozin kinaz reseptörleri ve hücre içi sinyal yolaklarını hedefleyen ajanların gelişmesi ile hedefe yönelik kişiselleştirilmiş tedavi gündeme gelmiştir. Hedefe yönelik tedaviler ile bazı hasta gruplarında olumlu yanıt ve daha uzun süreli sağkalım oranları bildirilmiştir (4).

Moleküler biyolojinin gelişmesiyle, KHDAK'lerinde tedaviye yanıt ve prognozu belirlemede yeni biyobelirteçler ortaya çıkmaktadır. Ancak klinik pratiğe girmiş biyobelirteç sayısı oldukça azdır. Literatüre baktığımızda SIRT1(sirtuin 1) ve SIRT2 (sirtuin 2)'nin bu amaçla kullanılabilecek belirteçler olabileceği düşünülmüştür (5,6).

Sirtuinler, Nikotinamid adenin dinükleotid (NAD+) bağımlı protein deasetilaz ve/veya ADP ribosiltransferaz aktiviteleri bulunan bir protein sınıfıdır. Memelilerde yedi farklı sirtuin (SIRT1–7) bulunmuştur. Sirtuinler, hücre metabolizması, genomik stabilite, hücre döngüsü, hücre bölünmesi, transkripsiyonel düzenleme ve metabolik hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların patogenezinde görev almaktadır (5). Son çalışmalar, sirtuin sinyal yollarının anormal epigenetik aktivasyonunun tümör karsinogenezine de katkıda bulunduğunu ve kanserlerde prognozu tahmin etmede gelecekteki tedaviler ve biyobelirteçler için potansiyel terapötik hedefler olabileceğini göstermiştir. SIRT1 ve SIRT2'nin çeşitli kanserlerde yüksek düzeyde

eksprese olduğu ve yüksek SIRT1 ekspresyonu düzeylerinin, akciğer kanseri de dahil pek çok kanser türünde kötü prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (7).

Bu amaçla, çalışmamızda 2014- 2018 yılları arasında Kartal Dr.Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi Tıbbi Patoloji Bölümü'nde KHDAK tanısı alan vakalarda, SIRT1 ve SIRT2 ekspresyon düzeylerinin klinikopatolojik parametreler ile ilişkisini analiz etmek istedik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. AKCİĞER KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ

Akciğer kanseri kansere bağlı ölümlerin yaklaşık %18'inden sorumlu tüm kanserlerin ise %11,7'sini oluşturanen sık mortaliteye neden olan kanserdir (1). Gelişmiş ülkelerde sigara tüketiminin azalmasına bağlı olarak akciğer kanseri insidansı azalmakta ancak gelişmekte olan ülkelerde halen sigara tüketiminin artarak devam etmesi nedeni ile akciğer kanseri insidansı artmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün bir alt kuruluşu olan Uluslararası Kanser ajansı(IARC) GLOBOCAN (Global Cancer Istatistics) 2020 verilerine göreyeni tanı konulan kanser vakalarının %60'ından ve kansere bağlı ölümlerin ise %70'inden sorumlu en yaygın 10 kanser türü arasında akciğer kanseri, meme kanserinden sonra ikinci sırada gelmektedir. Türkiye'de yaşa standardize kanser hızı erkeklerde yüz binde 291,5 kadınlarda ise 188.0'dır. Tüm dünyada ve ülkemizde en sık görülen ilk beş kanser türünden biri olup erkeklerde birinci sırada, kadınlarda ise meme, tiroid ve kolorektal kanserlerden sonra dördüncü sırada yer almaktadır(1).

Ülkemizde Sağlık Bakanlığı verilerine göre akciğer kanser sıklığı Ege, İç Anadolu ve Akdeniz bölgesinde en yüksek (39.5-41.0/100.000), Güneydoğu ve Doğu Anadolu bölgelerinde ise en düşük oranda (17.7-11.7/100.000) saptanmıştır(8,9).

Tüm akciğer tümörlerinin %99'unu karsinomlar oluşturur. Akciğer karsinomları pratik olarak KHAK (%20) ve KHDAK (%80) olarak sınıflandırılır. KHDAK'lar SHK, ADK, büyük hücreli karsinom ve daha nadir alt tiplere ayrılır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)' ne göre en sık görülen karsinom olan SHK, erkeklerde %44 oranında, kadınlarda ise %25 oranında izlenir. ADK oranı kadınlarda %42 olup erkeklerde %28 olarak bildirilmiştir.

Ülkemizde genç yaşlarda en sık ADK, ileri yaş grubunda ise en sık SHK daha fazla görülmektedir. Kadınlarda, özellikle sigara içimi ile KHAK arasındaki ilişki belirgindir. Türk Toraks Derneği Akciğer ve Plevra Maligniteleri Çalışma Grubu tarafından yapılan ulusal hastane bazlı retrospektif bir çalışmada 11849 akciğer kanserli olgunun %90.4'ü erkek, %9.6'sı kadın, yaş aralığı 46-65 (%56.7), sigara kullanma oranı %90'dır(8,9).

2.2. AKCİĞER KANSERİ ETİYOLOJİSİ

2.2.1. Sigara

Sigara tüketimi akciğer kanserinin en önemli nedenidir(10). Akciğer kanserlerinin %90'ından fazlası halen sigara içen veya sigara içmiş ve bırakmış insanlarda görülmektedir. Hiç sigara içmemiş insanlara göre sigara içmiş ve bırakmış insanlarda akciğer kanseri görülme riski en az 9 kat, halen sigara içen insanlarda ise akciğer kanser görülme riski en az 20 kat artmaktadır(11). Ülkemizde yapılan çalışmalarda akciğer kanserli kadınların %17'sinin, erkeklerin ise %94'ünün sigara içtikleri bildirilmiştir(12). Kanser gelişimi ile "paket yılı" olarak belirlenen sigara içilme miktarı arasında lineer bir ilişki vardır(13). İçilen sigaranın miktarı ve süresi arttıkça akciğer kanseri riski de artmaktadır. Bu bilgilerin yaygınlaşması ile gelişmiş ülkelerde sigara tüketimi azalmış ve bunun yansıması olarak bu ülkelerde akciğer kanseri insidansı da düşmeye başlamıştır. Sigara tüketimi özellikle küçük hücreli ve skuamöz hücreli akciğer kanseri riskini arttırsalar da esasında tüm ana akciğer kanseri tiplerinin gelişme riskini arttırmaktadır(14). Ayrıca akciğer kanserinde hedefe yönelik tedavi yöntemlerinden biri olan EGFR- tirozin kinaz inhibitör tedavisi alan sigara içicileri bu tedaviye direnç göstermektedir(15).

2.2.2. Pasif İçicilik

Akciğer kanseri hastalarının %1,6'sında pasif içiciliğin etiyolojide yer aldığı bildirilmektedir(16). Yine bir çalışmaya göre çocukluk çağında pasif içiciliğe maruz kalmış olmak yetişkin dönemde akciğer kanseri riskini 3,6 kat arttırmaktadır(17). Sigara kullanıcısı olmadığı halde eşi sigara içen kadınlar üzerinde yapılan iki çalışmada, bu kadınların akciğer kanser riskinin %30 daha fazla olduğu görülmüştür (18,19).

2.2.3. Beslenme Şekli ve Alkol Kullanımı

Yetişkin dönemde az sebze ve meyve tüketen insanlarda akciğer kanseri gelişme riskinin arttığının saptanmasının üzerine bazı besinlerin akciğer kanserinde koruyucu olup olmadığı araştırılmaya başlanmıştır. Sigara içme durumuna bakılmaksızın, besinlerdeki toplam veya spesifik yağ oranı ile akciğer kanser riski

arasında ilişki saptanmamıştır. Buna karşılık, kurutulmuş et, kızartmalar ve acı biberartan akciğer kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir(20).

Yedi prospektif çalışmanın yapılan analizinde günde 30gr'dan fazla alkol tüketen insanların hiç alkol tüketmeyen insanlara göre akciğer kanserine yakalanma riski hafifçe daha yüksek bulunmuştur(21).

2.2.4. Çevresel Kirlilik ve İyonize Radyasyon

Fosil yakıtlarından ve kömür yakıtlarından açığa çıkan polisiklin hidrokarbonlar akciğer kanseri için önemli çevresel etkenlerdir(15). Bununla birlikte yapılan araştırmalarda bakır, demir gibi partiküler elementlerin de akciğer kanseri gelişiminde rolü olduğu saptanmıştır(22). Hayvanlar üzerindeki deneysel araştırmalarda dizel motor yakıtlarının yanması ile açığa çıkan gazın kanserojenik olduğu görülmüş, insanlar içinde bu etkinin olabileceği savunulmuştur(23,24). Avrupa'da akciğer kanseri olan hastaların %11'inin etiyolojisinde hava kirliliğinin olduğu saptanmıştır (25).

Yüksek doz iyonize radyasyon kanserojeniktir(26). Hiroshimo ve Nagasaki atomik bomba patlamasından sonra hayatta kalanlarda akciğer kanseri insidansında artış izlenmiştir(27). Meme karsinomunda olduğu gibi terapötik amaçla verilen radyasyon ile de aynı şekilde akciğer kanser riski artmaktadır(28).

2.2.5. Asbestozis

Silika ve asbest en iyi bilinen insan karsinojenleridir. Malign mezotelyomada en önemli risk faktörlerinden biri olan asbestozis ile akciğer karsinomları arasında da kesin olarak tanımlanmışbir ilişki mevcuttur(29,30). En sık adenokarsinomlarla ilişkili olduğu saptanmıştır(30).

2.2.6. Genetik Yatkınlık

Sigaradan bağımsız olarak birinci derece akrabalarında akciğer kanseri olan kişilerde, akciğer kanseri ve diğer kanserlerin gelişme riskinin arttığı görülmüştür. Genetik faktörlerin rolü tam olarak gösterilememiş olsada, çalışmalar bu faktörlerin rolü olduğunu desteklemektedir. 28 vaka-kontrol ve 17 gözlemsel kohort çalışmasının meta-analizinin yapıldığı bir çalışmada, birinci derece yakınlarında

akciğer kanseri olmasının akciğer kanserine yakalanmada artmış risk ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (31).

2.3. AKCİĞER KANSERİNDE TANI

2.3.1. Semptom ve Bulgular

Akciğer kanserli hastaların çoğunluğunda hastalık ilerledikten sonra klinik semptom ve bulgular görülmektedir. Bunun sebebi hastalığın hızlı yayılması ve lokal ilerleme veya metastatik olmadan semptom vermemesidir. Yüksek riskli bireyler akciğer kanseri açısından taranırsa asemptomatik evrede tanı alabilirler. Akciğer kanserinde semptomlar tümörün intratorasik yayılımına, ekstratorasik metastazına bağlı olabilir veya paraneoplastik sendrom şeklinde görülebilir. KHDAK'lı hastaların başlangıç semptomları ve sıklıkları; öksürük %55, nefes darlığı %45, göğüs ağrısı %38, kilo kaybı %36 sıklıkta izlenmektedir(32).

Plevral tutulum plevral efüzyon olmadan bazen sadece plevranın kalınlaşması şeklinde görülebilir. Visseral plevranın tutulumu TNM evrelemesinde T2, pariyetal plevra tutulumu T3, plevral efüzyonda tümör hücrelerinin görülmesi M1a (evre-4) olarak kabul edilmektedir. Bu sebeple maling plevral efüzyonu olan hasta palyatif açıdan degerlendirilir ve inoperabl olarak kabul edilir. Plevral efüzyon öksürük ve nefes darlığına sebep olmasına rağmen 1/4 akciğer kanserli hastada asemptomatik seyredebilir. Bazı akciğer kanserli hastalarda plevral efüzyon lenfatik obstruksiyon, postobstruktif pnömoni ve atelektazi gibi bening nedenlerden de kaynaklanabilir (32,33).

Vena Kava Süperior Sendromu(VKSS): Boyunda doluluk hissetme ve nefes darlığı semptomu verir. Öksürük, ağrı ve disfaji nadirdir. Fizik muayenede dilate boyun venleri, gögüste belirgin venöz patern ve yüzde ödem vardır. Akciğer grafisinde mediastinel genişleme veya sağ hiler kitle mevcuttur. Toraks BT'de obstruksiyonun sebebi, seviyesi ve koleteral venöz dranaj görülür. KHAK'de KHDAK'ne göre daha sıktır(34).

Pancoast sendromu: Akciğerin süperior sulkusunda oluşan tümörlerden kaynaklanır. Omuz veya önkola yayılan ağrı, Horner sendromu, kemik destrüksiyonu ve el kaslarında atrofi ile karakterizedir. En sık neden KHDAK olup özelikle skuamoz hücreli alt tipte görülür(35).

2.3.2. Radyolojik Değerlendirilme

KHDAK'den süphelenilen bir hastada radyolojik değerlendirme; hastalığın evresini değerlendirmek, biyopsi alınacak lezyonu belirlemek, cerrahi veya radyoterapi planlamak amacıyla yapılır(36). Kullandığımızyöntemlerden;

- Akciğer Grafisi: KHDAK evrelemesi için yeterli değildir. Akciğer grafisi ile akciğerdeki nödüllerin boyut takibi yapılabilir. Düşük radyasyon, ulaşilabilir olması ve ucuz olması avantajdır.

- Bilgisayarlı Tomografi: Akciğer tomografisiyle tümörün boyutu, tümörün yaptığı invazyonlar, tümörün neden olduğu atelektazi ve obstruktif pnömoni değerlendirilebilir. Tümörün anatomik olarak karakterize edilmesini sağlar. Toraks BT'de lenf nodları değerlendirilirken; boyutu ≤1 cm olması genelde bening kabul edilir. BT mediyastinel lenf nodu metastazı için de %51 sensiviteye, %86 spesifiteye sahiptir. Bu nedenle bölgesel lenf nodu metastazı için doku örneklemesi gereklidir. Toraks BT'de metastaz açısından plevral nodül, plevral efüzyon, perikardiyal efüzyon ve karşı akciğerde parankimal tümör nodülü olup olmadığı tespit edilebilir ve bunların varlığı TNM evrelemesinde M1a olarak kabul edilir. BT'de beyin, karaciğer, adrenal ve diğer batın içi organlar da metastaz açısından incelenir ve uzak organ metastazı varlığı M1b olarak değerlendirilir(36).

-Pozitro Emissiyon Tomografi (PET): İntravenöz radyonükleik bağlı D-glikoz (18- floro-2-deoksiglikoz (FDG) verilerek metabolik aktivitesi yüksek yapılarda toplanması esasına dayanan bir yöntemdir. Anatomiden ziyade metabolik aktiviteyi değerlendirir. PET normal boyuttaki lenf nodunda maligniteyi belirleyebilir. PET lenf nodu için %89 sensiviteye ve %92 spesifiteye sahiptir. PET lenf nodu için iyi negatif prediktif değere sahip ama kötü pozitif prediktif değere sahiptir. Çünkü, PET'te inflamatuar reaktif lezyonda hiperaktif görünür ve evrelemenin artmasına ve hastanın cerrahi şansını engelemeye sebep olur. Bu nedenle bölgesel lenf nodu tutulumu için doku örneklemesi gereklidir. PET ile tüm vücut taranırken beyinde normalde de yüksek glikoz tutulumu olması nedeniyle beyin metastaz taraması için gerekirse kontraslı BT/MR kullanılmalıdır(36).

- PET/CT: PET ve BT kombine edilmiştir, bu nedenle hem anatomik hem de metabolik bilgi verir. Lenf nodu ve metastaz değerlendirme açısından PET/BT, yalnız PET ve yalnız BT'den üstündür(36).

- MRI: KHDAK'de beyin metastazı, adrenal metastaz, mediastinel invazyon, göğüs duvarı tutulumu ve spinal kord tutulumu süphesi varsa kullanılır. Gadolinyum kontrast madde verilerek çekilen MRI metastaz değerlendirilmesinde önerilir(36).

2.3.3. İnvaziv Tanı Yöntemleri

Akciğer kanseri tanısı hikâye, fizik muayene, laboratuvar sonuçları ve akciğer görüntülemesi ile yapılan ilk değerlendirme sonucunda akciğer kanseri düşünülen her hastadan histopatolojik ya da sitopatolojik doğrulama için doku örneklemesi alınmalıdır. Genel olarak her iki örnek tipi de tanısal amaçla kullanılabilir ancak doku örneği sitolojik örneğe göre, KHDAK'nin alt tiplerini daha iyi ayırması ve immünohistokimya için yeterli materyal sağlaması nedeniyle avantajlıdır. Genel olarak tanı ve evrelemenin 6 hafta içinde tamamlanması gerekmekte olup değerlendirme sürecinin 8 haftayı geçtiği durumlarda evre değişebileceğinden yeniden evreleme yapılması önerilmektedir(13).

Doku örneklemesi yapılırken tanı ve evreleme için en az invaziv işlemi tercih etmek, immünohistokimyasal ve moleküler testler için yeterli materyal almak birincil hedeftir. Akciğer kanserli bir hastaya tanı konulmasında biyopsi alınacak bölgenin ve metodun seçilmesinde; tümörün boyutu, görüntülemedeki özellikleri (yüksek malignite şüphesi, mediastinal invazyon vs), periferal/santral yerleşimi, görüntülemede metastatik odak varlığı/şüphesi, görüntüleme ve klinik özellikleri KHAK'ni düşündürmesi, hastanın klinik durumu/komorbiditeleri belirleyici olur.

Gelişen teknolojiyle birlikte periferal kanda serbest dolaşan tümör hücrelerinin, tümör hücre DNA'larının saptanmasına dayanan likit biyopsiler geliştirilmiştir. Ancak yaygın klinik kullanıma girmeyen, geliştirme aşamasında olan bu tekniklerin ilerleyen dönemde akciğer kanseri tanısı ve takibinde önemli rol oynayacağı tahmin edilmektedir (37,38).

Genel olarak, yapılan görüntülemelerde metastatik hastalık saptandıysa veya klinik/radyolojik görüntülemeler KHAK'yi düşündürüyorsa tanı için; supraklavikular lenf nodu örneklemesi, metastaz olduğu düşünülen yüzeyel yumuşak dokudan biyopsi alınmasıyadamalign olduğu düşünülen plevral efüzyondan örnekleme yapılması gibi en az invaziv yöntemin seçilmesi önerilir. Plevral efüzyondan alınan sıvıda malignite bulgusuna rastlanmadığı durumlarda ikinci bir örneklemenin tanısal

doğruluğu arttıracağı için tekrarlanması önerilir. Malignite saptanmaması durumunda, eğer şüphe yüksekse kapalı plevral biyopsi, görüntüleme eşliğinde plevra biyopsisi gibi invaziv tetikler yapılabilir. Eğer hastanın karaciğer, kemik gibi tek organ metastazları varsa bu organlardan hem tanı hem de metastaz varlığını doğrulamak için biyopsi alınabilir(37).

Akciğere lokalize santral yerleşimli tümörler için bronkoskopik değerlendirme uygundur. Tümör dokusu bronkoskopi sırasında bronşiyal veya transbronşiyal biyopsiyle, ince iğne aspirasyonu, görüntüleme eşliğinde perkutan biyopsiyle veya endobronşiyal ultrason eşliğinde alınan biyopsi ile örneklenebilir. Bronkoskopik metotların birlikte kullanımında sensitivite %80'dir, ancak doku biyopsi ile birlikte sensitivite %85-90'a yükselmektedir(37).

Lokalizasyona bağlı olarak, lenf nodu örneklemesi transözofagiyal ultrason eşliğinde alınan biyopsi, endobronşiyal ultrasonografi ve kör biyopsi olarak yapılabilir. Endobronşiyal ultrasonografi ile mediastinel lenf nodlarının örneklenmesi tanıyla birlikte evreleme yapılması avantajını da sağlar. Bu durum özellikle Evre II ve III hastaların belirlemesinde ve tedavi seçiminde (cerrahi vs kemoradyoterapi) önemli rol oynamaktadır(37).

SHK ve KHAK gibi santral tümörü olan hastalarda balgam sitolojisi de ucuz ve non-invaziv tanısal metottur. Spesifitesi %100'e yaklaşır, ancak sensitivitesi genelde %70'in altındadır (37). Tanısal doğruluk balgam sitolojisinin tekrarlamasıyla artar. Bu nedenle en az 3 balgam örneği alınması önerilmektedir(37). ADK ve büyük hücreli karsinom (BHK) gibi daha çok periferal yerleşim gösteren tümörlerde transtorasik biyopsiler tercih edilir. Biyopsiler ince iğne aspirasyon ve kor biyopsi olmak üzere iki tiptir. Genel olarak kor (kalın iğne, tru-cut) biyopsi örnekleri, diğer yöntemlere göre fazla tümör dokusu sağlaması ve alınan örnekte inflamatuar ya da non-neoplastik hücrelerin ayrımının daha net yapılması nedeniyle ince iğneye oranla üstündür(39).

Akciğer kanseri tanısı için histopatolojik değerlendirme esastır. Biyopsi ile lezyonun bening/maling ayrımı, histolojik alt tipi belirlemek, primer akciğer kanserini metastazlardan ayırmak, genetik mutasyonları ve moleküler analizleri tespit etmek amaçlanır. Tanı için planlanan ilk biyopside noninvaziv yöntemler invaziv işlemlere tercih edilir (40).Akciğer kanserinden şüphelendiğimiz bir hastadan biyopsi

bronkoskopik ve nonbronkoskopik yöntemlerle alınabilir. Bronkoskopik yöntemler; geleneksel bronkoskopi ve bronkoskopik ultrasonografidir. Non-bronkoskopik değerlendirme ise transtorasik biyopsi ve mediyaskopik yöntemler ile sağlanır(40).

Değerlendirme sonucunda evre 1A olduğunu düşündüğümüz KHDAK'lı hastanın tümör lezyonu ≤3 ve periferik yerleşimli ise biyopsialınmadan cerrahi yapılabilir(41). Cerrahi sırasında mediyastinal lenf nodu örneklemesi neticesinde kesin evreleme yapılır. Eğer evre 1B-3B aralığında olduğu düşünülüyorsa primer tümöral kitle veya şüpheli lenf nodundan biyopsi planlanır. Biyopsi için öncelikle bronkoskopik ultrasonla örnekleme tercih edilir sonuç negatif çıkarsa mediyaskopi önerilir. Uzak organ metastazından alınan biyopsiler (karaciğer, servikal veya subraklavikuler lenf nodu, kemik) pozitif olursa hasta evre-4 olarak kabul edilir ve KT/RT planlanır(40).

2.3.4. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Histopatolojisi

DSÖ'ye göre akciğer kanseri ya da bronkojenik karsinom solunum yolu epitelinden (bronş, bronşiol, alveol) köken alan tümörlerdir. Primer akciğer kanserlerinin yaklaşık %95'ini karsinomlar oluşturur. Geriye kalan %5'lik kısmında ise karsinoidler, mezenkimal maligniteler, lenfomalar ve bazı benign lezyonlar vardır. Ayrıca akciğerler ekstratorasik organların sık metastaz yaptığı organların başında gelir(42).

Tedavi modaliteleri ve hastalık karakteristikleri farklı olduğundan ilk etapta küçük hücreli ve küçük hücreli dışı ayrımını yapmak önemlidir. KHAK; az sitoplazmalı, hücre sınırları iyi seçilemeyen, ince granüler kromatinli olup nükleolüyokyada belirsizdir. Yüksek mitotik aktiviteye sahiptir ve nöroendokrin farklılaşma (CD 56, NCAM-Nöral hücreli adezyon molekülü, sinaptofizin, kromogranin pozitif)gösterir. Bu histolojik özellikleri sayesinde KHDAK'nden ayrılabilir(39,42). Akciğer kanserlerinde KHAK ve KHDAK olmak üzere ayrım yapılmasının nedeni; KHAK'lerin daha agresif seyretmeleri, tanı anında metastaz yapmaları ve genellikle cerrahi şansının olmamasıdır. KHDAK'lerinin ana tedavi şemasında hastalığın evreside göz önünde bulundurularak cerrahiye yer verilirken, KHAK ise daha çok kemoterapi ve radyoterapiye yanıt vermektedir(42).

Akciğer kanseri vakalarının yaklaşık %85'ini oluşturan KHDAK'lerin çoğunluğunu ADK, SHK ve BHK oluşturur. Eskiden KHDAK'nin alt tipleri arasında ayrım yapılmasına gerek olmadığı düşünülürken, 2004'de akciğer adenokarsinomlarının az bir kısmında Epidermal Growth Faktör Reseptörü (EGFR) mutasyonunun saptanması ve bu tümörlerin EGFR tirozin kinaz inhibitörlerine duyarlı olduğunun görülmesiyle bu bakış açısı değişmiştir. Sonrasında bazı kemoterapötiklerin (Bevasizumab ve Pemetrekset) SHK ve ADK'de etki ve yan etkilerinin farklı olduğunun anlaşılmasıyla, KHDAK'nin alt tiplerinin klinik önemi daha da artmıştır(2).

2004 Dünya Sağlık örgütü sınıflandırılması akciğerin yedi primer malign epitelyal tipinden ve yirmiden fazla farklı varyantından bahseder(43). Sınıflandırmada immünhistokimyasal metotların kullanılması ve hastanın patogenezinde genetik çalışmaların daha çok yer etmesi, akciğer BHK tanısının sadece rezeke edilmiş tümörlerde kullanılmasının önerilmesi üzerine 2015'te KHDAK'lerinde bu sınıflama güncellenmiştir(2). Ayrıca küçük biyopsi ve sitoloji için ayrı bir terminoloji ve kıstas geliştirilmiştir.

2.3.4.1 Adenokarsinom:

Tüm akciğer kanseri olgularının yaklaşık yarısını oluşturmaktadır(42).

Sıklıkla periferik ve subplevral alanlarda yerleşir(44,45). Kadınlarda, sigara içmeyen ya da eski hafif sigara içici (10 paket/yıldan daha az içme öyküsü olan) ve 60 yaş altındaki bireylerde de en sık görülen primer akciğer kanseri tipidir(46,47). Sigara içme alışkanlıklarındaki değişiklikler nedeniyle adenokarsinom son yıllarda skuamöz hücreli karsinomu geçerek en sık görülen akciğer kanseri tipi olmuştur.

Makroskopik olarak, ADK'ların büyük çoğunluğu, beyaz renkte ve antrakotik görünümde olup, değişen boyutlarda tek ve periferik nodüllerşeklindedir. Sınırları lobüle ya da stellat olabilir ve üstündeki plevra sıklıkla düzensizdir(45,48). ADK'nın iyi, orta ve az diferansiye olarak derecelendirilmesi, mevcut glandüler farklılaşma ve sitolojik atipi derecesine bağlıdır(49). İyi diferansiye neoplazmlar, çevresindeki stromaya invaze atipik hücrelerle kaplı düzgün sınırlı bezlerin çoğalması ile karakterize edilir, oysa az diferansiye tümörler, yetersiz veya zayıf glandüler özellikler gösteren solid tümör hücre tabakaları şeklindedir ve hücre içi müsin

üretiminin gösterilmesi ile ADK olarak tanınabilir. İyi diferansiye ADK'daki bezler genellikle bol berrak veya eozinofilik sitoplazmalı, bazal yerleşimli nukleuslu, belirgin nükleollü ve sık mitotik şekillerle birlikte uzun kolumnar veya müsinöz epitelden oluşur. Orta derecede farklılaşmış ADK'da, glandüler proliferasyon daha gelişigüzel dağılmıştır ve tümör hücreleri daha fazla atipi ve sık mitotik aktivite içerir(45,50).

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

DSÖ 2015 sınıflamasında doku örneğinin sadece patolojik tanı için kullanılmaması, moleküler tetkikler için dokunun saklanması tavsiye edilmektedir. Özellikle adenokarsinomlu hastaların bazı alt tiplerinde hedefe yönelik ajanlar tedavinin önemli bir kısmını içerir. İleri evre akciğer adenokarsinomlu ve diğer sınıflandırılamamış KHDAK'li hastaların tümör dokularında sürücü (driver) mutasyonlar açısından moleküler testlerin yapılması (EGFR mutasyonu, ALK ve ROS-1 rearanjmanı) önerilmektedir.

2015 DSÖ sınıflamasına göre adenokarsinomların mikroskobik olarak; lepidik baskın, asiner baskın, papiller baskın, mikropapiller baskın ve müsin üreten solid ADK olmak üzere 5 ana tipi ve invaziv müsinöz, fötal, enterik, kolloid olmak üzere dört varyantı vardır(51). Prognostik önemi olması açısından rezeksiyon yapılan tümörlerin patolojik tanımlamasında tümörün baskın paterninin de belirtilmesi gerekmektedir. Eski sınıflamaya göre lepidik baskın patern iyi diferansiye, asiner ve papiller patern orta derecede diferansiye, solid ve mikropapiller baskın patern ise az diferansiye olarak gruplandırılmaktadır. Solid ve mikropapiller baskın tiplerin adjuvan kemoterapiden fayda gördükleri bildirilmiştir(39,48).

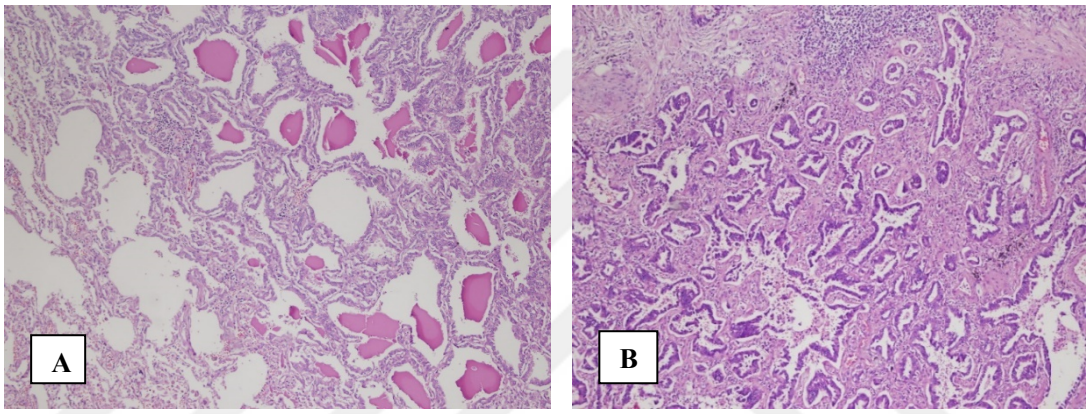
Lepidik baskın patern:

adenokarsinoma in situ, minimal invaziv ADK ve lepidik patern baskın ADK olarak üç şekilde görülür:

Adenokarsinoma in situ (AİS) 3 cm'den küçük, lepidik büyüme paternine sahip olan ve vasküler, stromal ya da plevral invazyon içermeyen tümörler için kullanılır. Bu özelliklerdeki bir tümör 5 mm'den küçük bir odakta invaziv büyüme gösterir ise tümör mikroinvaziv adenokarsinom (MİA) olarak adlandırılır. İnvazyon alanında genellikle desmoplastik bir stroma mevcut olup, invaziv olan komponent

lepidik dışı (örn. asiner, papiller, mikropapiller veya solid) paterne sahiptir. İnvazyon alanı beş mm'den fazla ise lepidik patern baskın ADK olarak adlandırılır. Ayrıca tümörde lenfovasküler invazyon, plevral invazyon veya nekroz bulunduğunda adenokarsinoma in situ ve minimal invaziv ADK terimleri kullanılmaz, tümör lepidik patern baskın ADK olarak değerlendirilir(2,51). Hem AİS hem de MİA'da 5 yıllık sağ kalım %100'dür(52).

Daha önceki 2004 DSÖ sınıflamasında bronkioalveoler karsinom olarak adlandırılan tümörler artık lepidik patern adenokarsinom olarak isimlendirilmiştir (Şekil 1-A)(2,48).



Şekil 1: Adenokarsinom **A-**Lepidik Patern, H&E X100, **B-** Asiner patern H&E x100

Asiner baskın patern, tümör hücreleri ile çevrili oval ya da yuvarlak lümene sahip glandüler yapılar şeklinde görülür. Neoplastik hücrelerin sitoplazmalarında veya glandüler boşluklarda müsin içerebilir(2). Tümör bazı alanlarda kribriform bir görüntü de oluşturabilir(Şekil 1-B)(53).

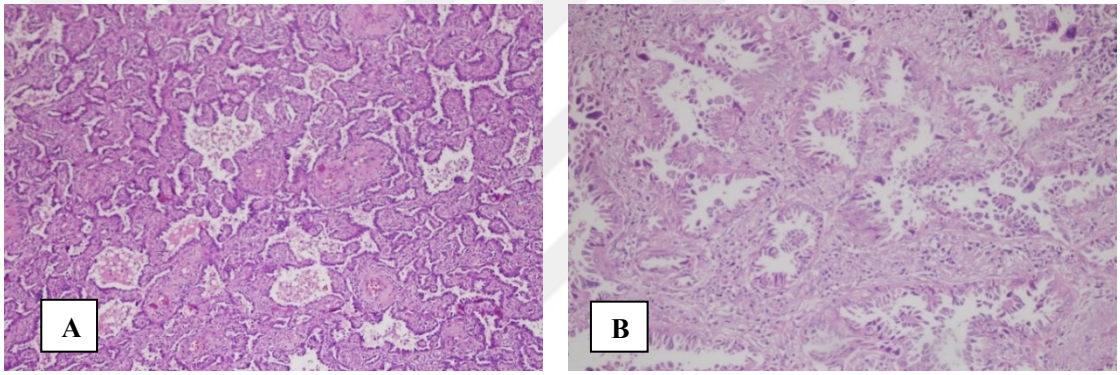
Papiller baskın patern, santral fibrovasküler bir kor çevresinde dizilim gösteren glandüler hücrelerden meydana gelir ve bu yapılar alveol boşluklarını papiller yapılar halinde doldururlar. Over papiller karsinomlarında gözlenenlere benzer şekilde stromada psammom cisimleri de bulunabilir(2). Akciğerin gerçek papiller paterne sahip ADK'nın lepidik paternden çok daha fazla morbidite ve mortalite gösterdiği düşünülmektedir (54). Bu tümörlerde invazyon değerlendirmesi için myofibroblastik stroma aranmaz (Şekil 2-A)(50).

Mikropapiller patern, belirgin bir fibrovasküler kor içermeyen daha küçük papiller yapılar oluşturan, minimal atipi gösteren küçük tümöral hücrelerle karakterizedir(2). Stromal ve vasküler invazyon sık izlenmektedir. Bazılarında

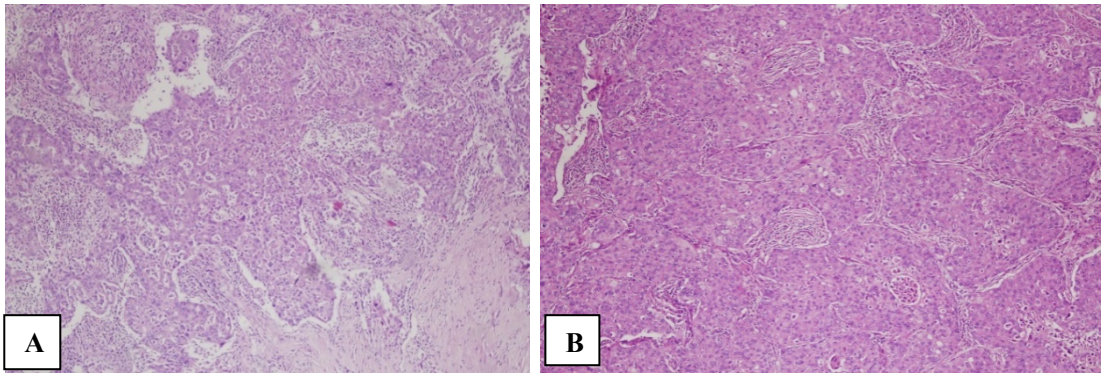
psammom cisimcikleri görülebilir. Müsin üreten solid ADK ile birlikte kötü prognoz gösteren tümörlerdendir(Şekil 2-B)(45,50).

Kribriform patern sonradan tanımlanan bir alt tip olup DSÖ'nün sınıflamasında henüz yer almamaktadır. Solid bileşen olmaksızın glandüler lümenlerin bulunduğu, invaziv, sırt sırta birleşen tümör glandları şeklinde tanımlanır. Kribriform paterni baskın olan adenokarsinomların, asiner baskın paterne göre daha kötü prognozlu oldukları gösterilmiştir (3,55) (Şekil 3-A).

Müsin üreten solid patern, belirgin bir glandüler patern göstermeyen tabakalar halindeki poligonal hücrelerden oluşur. Tümör tümüyle solid paternde ise ADK tanısı için en az 2 büyük büyütme alanında 5 tane müsin içeren hücre görülmelidir.



Şekil 2: Adenokarsinom; A-Papiller Patern, H&E X100, B- Mikropapiller Patern, H&E X100



Şekil 3: Adenokarsinom, **A-** Kribriform Patern H&E X100, **B-**Solid Patern H&E X100

Psödostratifiye epitel ve sitolojik atipi görülebilir. Ancak nekroz görülmez ve mitotik aktivite düşüktür. SHK ve BHK'da da müsin üretebildiğinden bu tümörlerle

karışabilirler(Şekil3-B)(2,50).

İnvaziv müsinöz, enterik, kolloid ve fetal adenokarsinomlar, invaziv ADK'lerin nadir varyantlarıdır. İnvaziv müsinöz adenokarsinom, bol miktarda intrasitoplazmik müsin içeren kolumnar hücrelerden oluşur. İmmünhistokimyasal olarak TTF-1 negatiftir. Moleküler profili kolon adenokarsinomları ile benzerdir (2,56).

Fötal adenokarsinom, fötal akciğerin psödoglandüler fazındaki epitelini andıran silyasız glikojenden zengin hücrelerin kompleks glandüler yapılar oluşturmasıyla meydana gelir(57). Düşük dereceli fötal adenokarsinomda düşük nükleer atipi ve morül formasyonu mevcuttur. Yüksek dereceli fötal adenokarsinomda ise belirgin nükleer atipi, morül kaybı ve nekroz görülür (45,48). TTF-1 ve nükleer beta-katenin ekspresyonu izlenir (2).

Enterik adenokarsinom terimi asiner, kribriform ve papillotübüler yapılar sergileyen, kolorektal adenokarsinoma benzeyen tümörler için kullanılır(2). Veziküler nükleuslu, eozinofilik, uzun kolumnar hücrelerden oluşur. Heterojen bir ADK'da bu tanıyı vermek için enterik paternin %50'den fazla olması ve gastrointestinal sistem kökenli bir tümörün bulunmadığının gösterilmesi gerekmektedir. Bazı tümörlerde sadece enterik morfoloji görülürken, bazıları enterik diferansiyasyon gösterir (45,48,50).

Diğer nadir görülen paternler arasında, kolon ve rektum, prostat, meme, uterus, over ve pankreas dahil olmak üzere çeşitli bölgelerden metastazlara benzeyebilen çarpıcı ve baskın bir kribriform büyüme modeli gösteren tümörler bulunur. Ağırlıklı olarak gastrik ve kolorektal primerlerin metastazları ile karıştırılabilen taşlı yüzük hücrelerinden oluşan tümörler de tarif edilmiştir (58). İHK'sal boyamalar ve klinikopatolojik korelasyon, bir metastaz durumunu dışlamak için vazgeçilmezdir. Dikkat çekicidir ki ALK gen yeniden düzenlemesine sahip ADK'lar sıklıkla taşlı yüzük hücre morfolojisine sahiptir (39).

2.3.4.2. Skuamöz Hücreli Karsinom:

Tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %20' sini oluştururlar. Sıklıkla sigara içenlerde görülür. Genellikle santral yerleşimli, skuamöz metaplazi- displazi zemininde gelişen ve bronşta total veya subtotal obstrüksiyona neden olan

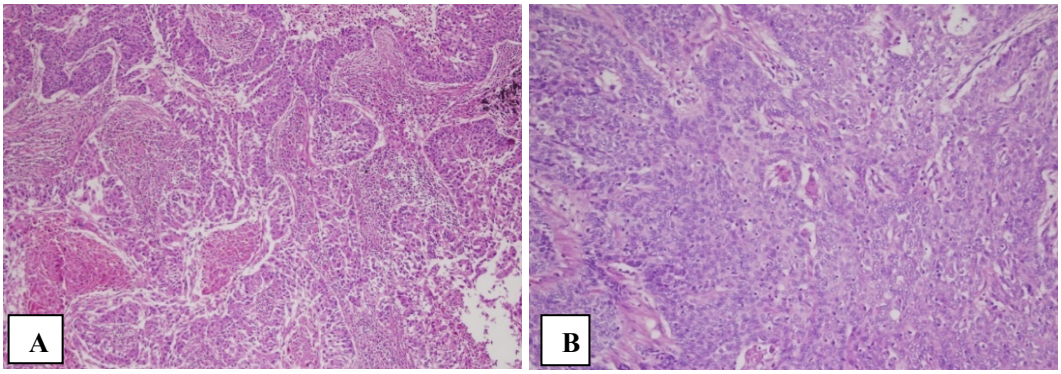
intraluminal polipoid kitle oluşturur. Kesit yüzleri genellikle solid, sert kıvamlı ve gri- beyaz renklidir. Büyük tümörlerde santral nekroza bağlı kavitasyon görülebilir (2,45).

Histolojik tanısı tümör hücrelerinin keratin üretimini ve/veya hücrelerarası desmozom (hücreler arası köprüleşme) varlığını ya da immünohistokimyasal olarak SHK varlığını (p40, p63, CK5 ya da CK5/6 ekspresyonu) göstermeye dayanır (39,42).

2015'de DSÖ sınıflamasında eski sınıflama sistemi değiştirilerek SHK; non-keratinize, keratinize ve bazaloid alt tiplere ayrılmış berrak hücreli değişiklik sitolojik özellik olarak belirtilmiştir.

Bazaloid SHK, lobüler yapı ve periferik palizatlanma gösteren küçük hücrelerin proliferasyonuyla oluşan az diferansiye malign epitelyal tümördür. Bu tümörde hücreler skuamöz morfolojiyi kaybetmiştir ancak İHK'sal olarak skuamöz yönünde ekspresyon gösterir. Keratinize veya nonkeratinize skuamöz hücre komponenti olan tümörlerde %50'nin üzerinde bazaloid komponent varsa bazaloid SHK olarak isimlendirilir(2,45).

İyi diferansiye tümörler, bol eozinofilik sitoplazmalı, yuvarlak oval nükleuslu ve belirgin nükleol içeren hücre tabakalarıyla karakterizedir. Hücre sınırları iyi tanımlanmıştır ve hücreler arası köprüler mevcuttur(Şekil 4-A). Daha az diferansiye tümörlerde, bu özellikler sadece fokal olarak gözlenebilir ve lezyonda sitolojik atipi, artmış mitotik aktivite ve sık nekroz ve/veya kanama alanları belirgindir. Merkezi, komedo tipi nekroz paterni tipik olarak daha yüksek dereceli lezyonlarda görülür (Şekil 4-B)(45,48).



Şekil 4: SHK, A- Keratinize Tip, H&E X100, B- Non-Keratinize tip, H&E X100

2.3.4.3. Adenoskuamöz Karsinom:

Adenoskuamöz karsinomlar, tüm akciğer karsinomlarının %5'inden azını oluşturur(20). Tümörün %10'dan fazlasının malign glandüler ve skuamöz komponent içerdiği tümörler için tanımlanır. Hastalar sıklıkla sigara içicisidir. SHK ve ADK alanları birbirinden ayrı veya içiçedir. Evreye göre sınıflandırıldığında konvansiyonel SHK veya ADK'dan daha kötü pronozludur (2,48). Bu tümörlere glandüler komponent içermeleri nedeniyle moleküler testlerin yapılması önerilmektedir (59).

2.3.4.4. Büyük Hücreli Karsinom:

BHK; KHAK, ADK veya SHK'nin sitolojik, yapısal ve İHK'sal özelliklerini göstermeyen, indiferansiye bir tümör olup SHK, ADK veya KHAK morfolojisini, skuamöz ve adenoid diferansiyasyonu İHK'sal boyama ve müsin boyası ile kesin ekarte ettikten sonra konulan bir dışlama tanısıdır. İHK'sal olarak nöroendokrin marker ekspresyonu göstermemesiyle de büyük hücreli nöroendokrin karsinom tanısı dışlanır (2,48).

Sigara ile yakından ilişkili olup çoğu hasta sigara içicisidir (45). Tipik olarak periferal kitleler şeklindedir. Mikroskopik olarak tabakalar veya adalar oluşturan, veziküler nükleuslu, belirgin nükleollü, poligonal hücrelerden oluşur (2).

Histolojik olarak, nöroendokrin ya da epitel farklılaşması gösterilemese de İHK ile p40 pozitifliği saptanırsa, non keratinize SHK, TTF-1 pozitifliği görülürse solid ADK ya da kromogranin veya sinaptofizin immünreaksiyonu mevcut sa nöroendokrin karsinom grubunda sınıflandırılmalıdır. İHK ile tanımlama yapılamıyor ise buna null-fenotipli BHK denilebilir(25). Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) Sürveyans Epidemiyoloji ve Sonuçlar grubuna ait verilerin sonuçları incelendiğinde, TTF-1 İHK'sının kullanımı klinikte yaygınlaşmaya başladıktan sonra BHK insidansında azalma görülmüştür (60). Bu sonuç ADK'ları, BHK'dan ayırmada İHK'nın daha yaygın kullanımının önemini vurgulamaktadır.

2.3.4.5. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri'nde İmmünohistokimya

İHK, dokuda bir proteinin ekspresyonunun değerlendirilmesi amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemle, protein ekspresyon seviyesi ile birlikte,

ölçülecek antijenin lokalizasyonu hakkında hem hücre seviyesinde; nükleer, membranöz ya da sitoplazmik, hem de doku seviyesinde; normal epitel hücreleri, tümör dokusu, bez yapıları, makrofajlar, mezenkimal hücreleri vs.,bilgi edinilir.

Tablo 1'de görülebildiği üzere alt tiplerin immünhistolojik karakteristikleri farklıdır ve bu farklılık üzerinden tanıya gidilir (60). Daha önceleri KHDAK tanısı daha çok kullanılırken, artık küçük biyopsilerde doğru alt tip sınıflandırma yapılması gerektiği vurgulanmakta ve yeni Uluslararası Akciğer Kanseri Çalışmaları Cemiyeti (IASLC)/ Amerikan Göğüs Cemiyeti (ATS)/ Avrupa Göğüs Cemiyeti (ERS) ortak akciğer adenokarsinom sınıflandırmasında bu yaklaşımı önermektedir (61).

Sıklıkla kullanılan immün belirteçler; adenokarsinom için TTF-1, SHK için p63 ve yüksek molekül ağırlıklı keratinlerdir (62,63).Ancak bu belirteçlerin hiçbiri alt tipler için özgül değildir. Örneğin, TTF1 tiroid kanserlerinde pozitif olurken, akciğer adenokarsinomların %30'una yakını TTF-1 negatiftir, adenokarsinomlarda rapor edilmiş p63 pozitifliği %0-65 arasındadır (62,64,65).

Tablo 1: Akciğer kanseri tiplerinde pozitif olması beklenen bazı immünhistokimyasal belirteçler (60 nolu refranstan uyarlanmıştır)

Histoloji	**Pozitif olması beklenen immünhistokimyasal belirteçler**
Adenokarsinom	CK 7,TTF-1, Napsin A
Skuamöz Hücreli Karsinom	AE1/AE3, CK 5/6, CK 7 nadir, P63
Büyük Hücreli Karsinom	TTF-1 nadir
Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom	CD 56 Kromogranin, Sinaptofizin
Küçük Hücreli Karsinom	TTF-1, CD 56, Kromogranin, Sinaptofizin
Mezotelyoma	CK 5/6, Kalretinin, WT-1

2.4. SINIFLANDIRMA

2011'e kadar DSÖ'nün 2004'de yayınladığı akciğer kanseri sınıflaması kullanılmaktaydı. 2011 yılında Uluslararası Akciğer Kanseri Çalışma Grubu (IASCL), Amerikan Toraks Derneği (ATS), Avrupa Solunum Derneği (ERS)

öncülüğünde yeni adenokarsinom sınıflaması ve küçük biyopsi ve sitoloji örneklerinin tanısı üzerine bir klavuz yayınlanmıştır (44). 2015'de DSÖ, son 10 yıldaki akciğer kanserinin biyolojisi ve moleküler özelliklerine yönelik gelişmeleri göz önünde bulundurarak 2011'de yayınlanan IASLC/ATS/ERS rehberini de temel alarak "Akciğer, Plevra, Timus ve Kalp Tümörleri Sınıflaması "adında yeni bir rehber yayınlamıştır. Akciğer kanseri sınıflandırılmasında 2015'den itibaren bu sınıflama kullanılmaktadır (48). 2015 DSÖ'nün Akciğer Kanseri Sınıflama Kılavuzu'nda göze çarpan önemli değişiklikler şunlardır:

-Tümörün tiplendirilmesinde immünohistokimyanın kullanılması,

- İleri evre akciğer kanserli hastaların kişiselleştirilmiş tedavisinde moleküler testlerin kullanımı,

-2011 IASLC/ATS/ERS sınıflamasında önerildiği gibi küçük biyopsi ve sitolojik örnekler için rezeksiyon yapılmış akciğer kanseri sınıflamasından farklı yeni bir sınıflama kullanılması ve alınan örneklerin moleküler tetkikler için saklanması,

-2011 IASLC/ATS/ERSadenokarsinom sınıflamasında önerildiği gibi 'bronkoalveolar karsinom' ve 'mikst subtip adenokarsinom' terimlerinin kullanılmaması, adenokarsinoma in-situ ve mikroinvaziv adenokarsinom gibi yeni sınıflamaların kullanılması, tümördeki baskın alt tipin (lepidik, solid, asiner gibi) belirtilmesi,

- BHK tanısının sadece rezeke edilmiş, morfolojik ve immünühistokimyasal differansiyasyon göstermeyen tümörlerde kullanılması ve eski büyük hücreli kanserlerin bu bakış açısıyla tekrar sınıflandırılması,

- SHK'un tekrar keratinize, non-keratinize ve bazaloid alt tip olarak sınıflanması ve non-keratinize alt tiplerde skuamöz diferansiyasyon için immünohistokimya uygulanması,

- Nöroendokrin tümörlerin bir kategoride gruplanması gibi önemli değişlikler yapılmıştır.

2.4.1. Akciğer kanserleri Dünya Sağlık Örgütü 2015 sınıflaması

1. Epitelyal Tümörler:

- **Adenokarsinom**

- Lepidik adenokarsinom
- Asiner adenokarsinom
- Papiller adenokarsinom
- Mikropapiller adenokarsinom
- Solid adenokarsinom
- İnvaziv müsinöz adenokarsinom

Mikst invaziv müsinöz ve non-müsinözadenokarsinom

- Kolloid adenokarsinom
- Fötal 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 Biyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom

- Karsinoid tümör

Tipik karsinoid

Atipik karsinoid

Preinvaziv lezyon

Difüz idiopatik pulmoner nöroendokrin hücre hiperplazisi

- **Büyük hücreli karsinom**
- **Adenoskuamözkarsinom**
- **Pleomorfik karsinom**
- **İğsi hücreli karsinom**
- **Dev hücreli karsinom**
- **Karsinosarkom**
- **Pulmoner blastom**
- **Diğer ve sınıflandırılamayan karsinomlar**

Lenfoepitelyoma-benzeri karsinom

Nut karsinomu

- **Tükrük bezi tipi tümörleri**
- **Papillomlar**
- **Adenomlar**

2. Mezenkimal Tümörler

3. Lenfohistiyositik Tümörler

4. Ektopik Orjinli Tümörler

5. Metastatik Tümörler

2.5. EVRELEME

2.5.1. Sekizinci TNM Evreleme sistemi ve Prognoz

KHDAK'nin evrelemesinde IASCL'nin önerdiği 8. TNM evreleme sistemi 1 Ocak 2017'den beri ABD hariç tüm dünyada kullanılmaya başlanmıştır. 8. TNM evreleme sistemi görüntüleme teknikleri, klinik testler ve tedavi yöntemlerindeki ilerlemeden elde edilen yeni sağkalım verilerinin birleştirilmesiyle yapılmış, 7.TNM evrelemesinin bir revizyonudur (66-68).

KHDAK'ları yukarıda bahsedilen TNM sınıflandırmasına göre sınıflandırırken, T; tümör boyutu, N; lenf nodu tutulumu ve M; metastazı gösterir. 7. ve 8. TNM sınıflandırmalarında bazı farklılıklar olsa da tüm bu sınıflandırma ile üç ana prognostik ve tedavi gruplarına işaret eder; erken evre (I ve II), lokal ileri evre

(III) ve metastatik hastalık (IV). Sekizinci TNM evreleme sistemi Tablo 2.1 ve 2.2'de verilmiştir.

Sekizinci TNM evreleme sistemi için, IASLC 1999 ile 2010 yılları arasında 16 ülkede tedavi edilen yaklaşık 95.000 akciğer kanseri hastası için bir veri tabanı oluşturulmuş ve KHDAK tanılı yaklaşık 70.000 hastadan toplanan veriler, geriye dönük olarak TNM belirleyicilerinin prognostik değerini doğrulamak için kullanılmıştır (66). Yapılan analizler sonucunda 7. TNM evrelemesinde değişiklikler yapılarak bu yeni evreleme sistemi oluşturulmuştur.

2.5.2. Sekizinci TNM Evreleme Sitemindeki Değişiklikler

T, N, M belirleyicilerindeki değişikler evrelerde de değişikliğe yol açmıştır. Ayrıca Evre III C ve Evre IVA ve IVB gibi alt evreler oluşturulmuştur.

T Değişiklikleri

Tümör boyutlarının sekizinci TNM sınıflandırılmasına göre her santimetreye göre ayrı bir sınıfa dahil edilme ihtiyacı tamamen her bir santimetrenin sağkalım ile olan ilişkisinden kaynaklanmaktadır.

-T1'deki değişiklikler: T1 tümörleri T1a (≤1 cm), T1b (> 1, ≤2 cm) ve T1c (> 2, ≤ 3 cm) olarak 3 alt gruba ayrılmıştır.

-T2'deki değişiklikler: T2 tümörleri için tümör boyutu 7 cm'den 5 cm'ye çekilmiştir.

Sekinci TNM verilerine göre karinaya 2 cm veya distal uzaklıkta olan ana bronş invazyonu diğer T2 tümörlere benzer prognostik özelliklere sahipken, 2 cm'den daha yakın olması T3 tümörlere göre daha iyi prognozla ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle yeni sınıflandırmada karina invazyonu yok ise, ana bronş invazyonu T2 olarak kabul edilmiştir. 7. TNM' e göre atelektazi ve obstruktif pnömoninin tüm akciğerde olması T3 karakteristiği iken, yeni sınıflandırmada belirgin bir sağkalım farkı oluşturmadığından total ya da parsiyel olmasına bakılmaksızın atelektazi ve obstruktif pnömoni T2 olarak kabul edilmiştir (7).

- T3'deki değişiklikler: T3 tümörleri, tümör boyutu >5 cm ile ≤7 arasında tümörler olarak değiştirilmiştir.

- T4'deki değişiklikler: T4 tümörleri 7 cm'den büyük tümörler olarak değiştirilmiş, diyafram invazyonu T3'den T4'e alınmıştır.

Diyafram invazyonu 7.TNM'e göre T3 hastalık olarak kabul edilmektedir. Ancak yapılan sağkalım risk analizleri ile diyafram invazyonunun, diğer T3 tanımlayıcılarına göre daha kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle diyafram tutulumu T4 olarak kabul edilmektedir.

T3 tanımlayıcılarından göğüs duvarı invazyonu, mediyastinel plevra, paryetal perikardiyum, superior sulkus tümörleri, paryetal plevra ve aynı lobda başka tümör nodüllerinin olması yeni sınıflandırmada da T3 olarak kabul edilecektir.

Ayrıca bu evrelemede Evre IIIC olarak yeni bir evre oluşturulmuştur. Bu gruba T3 ve T4 tümörü, kontralateral, hiler ya da ipsilateral skalen ve supraklavikular lenf nodu tutulumu olan hastalar girmektedir. Bu gruptaki hastaların prognozu Evre IV hastalardan daha iyi, Evre IIIB hastalardan daha kötü saptanmıştır (67,68).

2.5.3. N Değişiklikleri

Patolojik N1 ve N2 lenf nodu tutulumlarının sağkalım analizlerinde, tutulan lenf nodu istasyonunun (N1- N2) ve sayısının sağkalıma etki ettiği saptanmıştır. Ayrıca klinik N ve patolojik N korelasyonu incelendiğinde patolojik lenf nodu tutulumun klinik tuluma göre %10-13 düzeyinde daha fazla olduğu saptanmıştır (66).

2.5.4. M Değişiklikleri

Metastaz durumu bu evrelemede M1a, M1b ve M1c olmak üzere 3 alt gruba ayrılmıştır. Eğer akciğer metastazı var veya plevral/perikardiyal effüzyonu, nodülü var ise, bu grup M1a olarak kabul edilmiş, M1b tek ekstratorasik metastaz, M1c bir ya da daha fazla organda birden fazla metastaz olarak tanımlanmıştır. Tek ekstratorasik metastaz ile birden fazla ekstratorasik metastazın sağkalımlarının farklı olduğu analiz edilmiştir(66).

Prognozun tutulan organa göre de değiştiği de bilinmektedir. Adrenal metastazların, beyin metastazlarına göre daha kötü seyrettiği ve agresif tedavinin prognostik etkisi olduğu bildirilmiştir (69-71). Ayrıca M1c'deki tek organda çoklu metastaz, birden fazla organa göre daha iyi prognoza işaret etmektedir (70). Bu nedenle metastatik hastalığın farklı prognoz ve tedavi gruplarına göre kendi içerisinde tekrar değerlendirilmesi gerekmektedir.

Tablo 2.1: Sekizinci TNM sınıflandırması; tümör ve metastaz karakteristikleri (Tablo 2.1 ve 2.2, 66 numaralıreferanstan uyarlamıştır).

T Evrelemesi	
T1 ≤3 cm	Lobar bronkus invazyonundan daha ileriye gitmemiş akciğer yada visceral plevra ile çevrili 3 cm'nin altındaki kitleler
T1a(mi)	Minimal invaziv adenokarsinom veya
T1a	Tümörün en geniş çapı ≤1 cm
T1b	≤2 cm
T1c	≤3 cm
T2	Tümör >3 cm fakat ≤5 cm veya aşağıdaki 3 kriterden biriolacak: 1) Visceral plevra invazyonu 2) Karinayı ınvaze etmemek kaydıyla, karinaya uzaklığı ne olursa olsun ana bronş invazyonu
T2a	>3 cm fakat ≤4 cm
T2b	>4 cm fakat ≤5 cm
T3	Tümör >5 cm fakat ≤7 cm veya 1) Göğüs duvarını, frenik siniri, mediastinel plevrayı ve parietal perikardı invaze etmişse 2) Aynı lobta iki veya daha fazla tümör tespit edilmişse
T4	Tümör >7 cm veya 1) Mediasten, kalp, diyafram, büyük damarlar, trakea, karina**,** vertebra, özofagusu invaze etmiş her tümör 2) İpsilateral akciğerde farklı bir lobda farklı bir tümör
N Evrelemesi	
N1	İpsilateral peribronşial ve/veya ipsilateral hiler lenf nodları metastazı ve direkt yayılım ile intrapulmoner lenf nodları tutulumu
N2	İpsilateral mediastinel ve/veya subcarinal lenf nodları
N3	Kontralateral mediastinel, kontralateral hiler, ipsilateral veya kontralateral scalen veya supraklavikuler lenf nodları
M Evrelemesi	
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var
M1a	Kontralateral lobda tümör varlığı; plevral nodüller veya malign plevral yada perikardial effüzyon
M1b	Tek ekstratorasik metastaz
M1c	Bir veya daha fazla organda çoklu ekstratorasik metastaz

Tablo 2.2: Akciğer kanserinde TNM evrelemesi

	TÜMÖR	LENF NODU	METASTAZ
Okkult karsinom	TX N0	M0	
Evre 0	Tis	N0	M0
Evre1a1	T1a(mi)	N0	M0
	T1a	N0	M0
Evre1a2	T1b	N0	M0
Evre1a3	T1c	N0	M0
Evre1b	T2a	N0	M0
Evre2a	T2b	N0	M0
Evre2b	T1a-c	N1	M0
	T2a	N1	M0
	T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
Evre3a	T1a-c	N2	M0
	T2a-b	N2	M0
	T3	N1	M0
	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
Evre3b	T1a-c	N3	M0
	T2a-b	N3	M0
	T3N2	M0	
	T4	N2	M0
Evre3c	T3	N3	M0
	T4	N3	M0
Evre4a	Tüm T	Tüm N	M1a
	Tüm T	Tüm N	M1b
Evre4b	Tüm T	Tüm N	M1c

Not: Tis, karsinoma in situ; T1a(mi), minimal invaziv adenokarsinom

2.6. TEDAVİ

Evre-0 (İn situ karsinom): Bronkoskopik ultrasonografi yöntemi kulllanılarak erken evre tümörde bronş derinliğine bakılarak tedavi planlanır. Bazal membran aşılmış ise minimal invaziv, bronş kartilajı tutulmuş ise invazi karsinom olarak kabul edilir. Bronkoskopik tedavi yöntemlerinden (Fotodinamik tedavi, yüksek frekanslı elektrokoter tedavisi, kriyoterapi, lazer ve brakiterapi) oldukça iyi sonuçlar alınmaktadır. Ancak endobronsiyal lezyon 2 cm'den küçük olmalı ve bronş duvarı invazyonu 1cm'i aşmamalıdır. Lokal nüks ve multipl tümör gelişimi riski nedeniyle her 3 ayda bir bronkoskopik kontrol gerekir(72).

Periferik lezyonlarda cerrahi lobektemi veya segmentektomi önerilir ve %80-90 oranında 5 yıllık sağkalım vardır(73).

Evre-1A: Cerrahi rezeksiyon bu grupta altın standart tedavi yöntemidir. Cerrahide mediyastinal lenf nodları değerlendirilir. Mediyastinal lenf nodu diseksiyonu yada sistemik lenf nodu örneklemesi yapılır. Cerrahi sınır negatif ise takip edilir. Adjuvan kemoterapi endikasyonu yoktur. Cerrahi sınır pozitif ise ya tamamlayıcı cerrahi yapılır yada radyoterapi verilir. Medikal inoperabl ya da operasyonu kabul etmeyen olgulara RT önerilir(73-75).

Evre-1B: Cerrahi rezeksiyon kürsağlaması açısından en önemli tedavidir. Tümör boyutunun 4 cm'yi geçmediği evre IB hastalarda da cerrahi sonrası adjuvan kemoterapinin sağkalımı kötüleştirdiği saptanmıştır. Ancak tümör boyutunun 4 cm'yi geçtiği evre IB vakalarda seçilmiş hastalarda cerrahi sonrası adjuvan kemoterapi önerilir (74).

Evre-2A ve 2B: Standart tedavi cerrahidir. Lobektomi veya pnömonektomi ve mediastinal lenf bezi diseksiyonu yapılması önerilmektedir. İntraoperatif lenf nodu patolojik incelemesi cerrahi seçiminde faydalıdır. 5 yıllık yaşam oranı %39-%48 arasında değişmektedir. Yapılan meta-analizde postoperatif kemoterapinin ölüm oranını %13 azalttığı ve 5 yıllık yaşam süresini %5 oranında arttırdığı görülmüştür. Sonuçlar istatistik olarak anlamlı bulunduğundan adjuvan kemoterapi standart olarak önerilmektedir(4). Cerrahi sınır pozitif inkomplet rezeksiyonda veya kuşkulu olgularda adjuvan radyoterapi tedaviye eklenmelidir(76-78).

Lokal ileri Evre (Evre III): Göğüs cerrahisi, radyasyon onkoloğu, medikal onkolog, göğüs hastalıkları hekimi ve radyoloğun dahil olduğu multidisipliner

yaklaşım ile tedavi planlanır ve hasta yönetiminde cerrahi rezeksiyon, kemoterapi ve radyoterapinin birlikte kullanıldığı ikili ve üçlü tedavi yaklaşımları kullanılır. Tedavi planını primer tümörün yaygınlığı ve nodal hastalık durumu, endikasyon durumunda tam cerrahi rezeksiyonun sağlanabilirliği, hastanın genel durumu gibi faktörler etkiler (39).

Genelde bulky evre IIIA ve IIIB hastalıklar nonoperabıl olarak kabul edilirken, non-bulky evre IIIA KHDAK'da potansiyel olarak kür elde edilebilir. T3N1 olgularda tedavi cerrahidir. T4N1 grubunda ise operasyon morbiditesi fazla olduğundan cerrahi kararı çok dikkatli alınmalıdır, bu tip vakalarda neoadjuvan kemoterapi veya kemoradyoterapi uygulanması tümör boyutunu küçültmede etkin olabilir(52,79). Adjuvan KT evre III hastalarda hem uzak metastaz insidansını azaltır hem de tüm sağkalımı arttırır. Adjuvan sisplatin bazlı kemoterapi komplet cerrahi rezeksiyon yapılan hastalarda standart seçimdir. Cerrahi sınır pozitif olanlarda ve N2 tutulumu olanlarda ise mutlaka postoperatif RT'de tedaviye eklenmelidir(80,81).

İleri Evre (Evre IV / Metastatik Hastalık): Hastaların yaklaşık %40'ı tanı anında metastatik hastalığa sahiptir. Ayrıca erken ve lokal ileri evrede tanı alan hastaların bir kısmı da ilerleyen zamanda uzak metastaz ile nüks edebilir.

Temel tedavi yaklaşımı sistemik kemoterapidir. Sistemik tedavi için günümüzde sitotoksik ajanlar, hedefe yönelik ajanlar ve immünoterapi denenebilir. Sistemik tedavinin seçiminde hastanın yaşı, genel durumu, performans durumu, hastalığın yaygınlığı ve mutasyonların (EGFR, ALK) durumu önemlidir(82,83).

2.7. MOLEKÜLER PATOGENEZ VE PROGNOSTİK BİYOBELİR-TEÇLER

Akciğer kanserleri genetik değişikliklerin en fazla olduğu kanserler arasındadır. Moleküler biyolojideki ilerlemeler sayesinde akciğer kanserindeki genetik bozuklukların bir kısmı saptanabilmiş ancak çoğunluğu hala bilinmemektedir.

Akciğer kanseri oluşumunda çeşitli genetik ve epigenetik mekanizmalar etkilidir. Bunlar arasında; hücre siklusu ve proliferasyonunu kontrol eden tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu, büyümeyi sağlayan onkogen/protoonkogenlerin aktivasyonu, DNA tamir genlerinde değişiklikler veya diğer hücre aşırı büyümesine

neden olan genlerin aktivasyonu sayılabilir (44,45,84). Ayrıca telomeraz aktivitesi de kanser hücrelerinin apoptozdan kaçışıiçin kullandığı yolaklardan biridir. Akciğer kanserlerinin yaklaşık %85'inde sigaraya bağlı oluşan epigenetik mekanizmalar etkilidir. Akciğer kanserli hastaların %15 kadarını ise sigara içmeyen bireyler oluşturur. Sigara içen ve içmeyen bireylerde kanser gelişiminde genel olarak farklı mekanizmalar rol oynar(85).

2.7.1. Patogenez

Tümör süpressör genlerin fonksiyon kaybı ve/veya onkogenlerin fonksiyon kazanımlarına yol açan bir dizi mutasyon serisi kanser oluşumunda etkilidir. Kontrolsüz büyüme ve hücre ölüm mekanizmalarında duraklama meydana gelir.

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

Akciğer kanserinde rol alan onkogenler arasında KRAS, EGFR, MYC, CCND1, CDK4, EML-ALK füzyonu, BRAF, MEK, HER2, MET, ALK, ROS1, RET, FGFR1, DDR2 sayılabilir. Onkogenlerin aktivasyonu için bir allelde genetik değişiklik (translokasyon, gen amplifkasyonu, nokta mutasyonları, DNA rearanjmanları) olması gereklidir. Genetik değişiklik neticesinde ortaya çıkan füzyon proteinleri onkojenik sinyal yolaklarında kontrolsüz iletime yol açar. Hücrenin yaşaması aberran sinyal aktivasyonunun devam etmesine bağlı olduğundan onkogen bağımlılığı ortaya çıkar. Onkogen bağımlılığına yol açan mutasyonlar öncü/yürütücü (driver) mutasyonlardır.

EGFR, KRAS ve ALK mutasyonları KHDAK'daki prototip sürücü mutasyonlardır(44).

Öncü mutasyonlar sonucu ortaya çıkan gen ürünlerini hedefleyen tedaviler geliştirilmiştir (39,86,87). KHDAK'nde histolojik alt tipe göre görülen driver mutasyonlar ve bunlara karşı geliştirilen terapötik ajanlar Tablo 3'de verilmiştir.

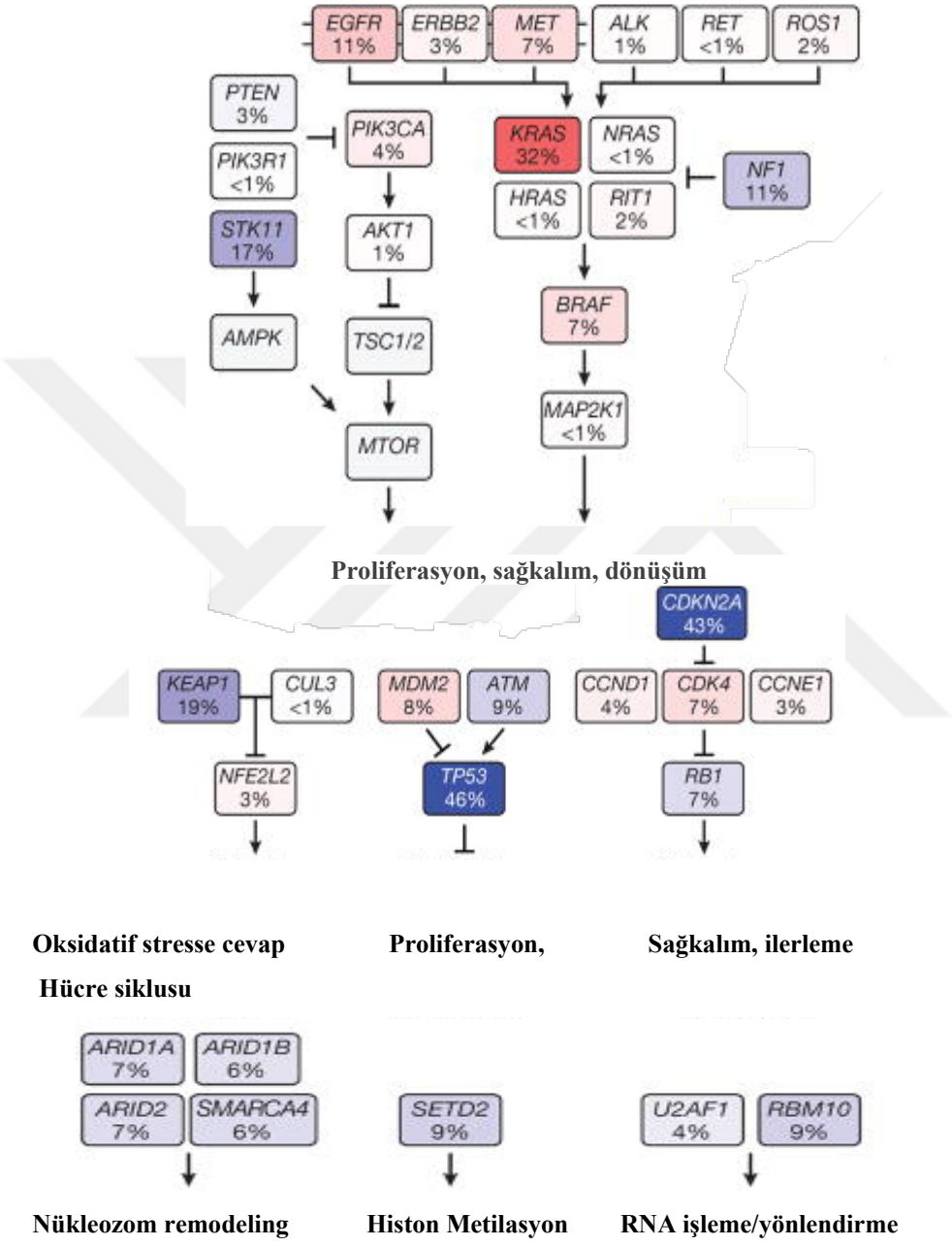
Tablo 3: KHDAK'nde Görülen Driver Mutasyonlar ve Bunlara Karşı Geliştirilen Terapötik Ajanlar (88 referans nolu makaleden uyarlanmıştır)

Gen	Adenokarsinom	Skuamöz Hücreli Karsinom	Terapötik Ajan
EGFR	%10-40 mutasyon	Nadir mutasyon, %7 amplifikasyon	Erlotinib, Gefitinib, Afatinib
ALK	%4 translokasyon	0%	Krizotinib
ROS-1	%2 translokasyon	0%	Krizotinib
RET	%2 translokasyon	0%	Krizotinib, Sunatinib, Sorafenib, Vandetanib, Kabozantinib
BRAF	%2 mutasyon	0%	Vemurafenib
MET	%5 amplifikasyon	%10 amplifikasyon	Kabozantinib, Krizotinib,
HER2	%2 mutasyon	< %1 mutasyon	Trastuzumab, Afatinib, Dacomitinib, Neratinib
FGFR1	%3 amplifikasyon	%21 amplifikasyon	Ponatinib, Brivanib
PIK3CA	< %2 mutasyon	%10 mutasyon	BKM120
PTEN	%2 inaktivasyon	%10 inaktivasyon	Vandetanib
DDR2	< %1 mutasyon	%4 mutasyon	Dasatinib

Günümüzde adenokarsinomda EGFR mutasyonu, ALK ve ROS1 yeniden düzenlenmelerine karşı hedefe yönelik ilaçlar kullanılmaktadır. Skuamöz hücreli kanserde saptanan öncü mutasyonların bir kısmı ilaç geliştirme aşamasında olup tümörde bu mutasyonların bakılması klinik pratiğe henüz girmemiştir(89). Tedavideki etkinliklerinden dolayı EGFR mutasyonları, ALK ve ROS1 rearanjmanlarına yönelik moleküler testlerin, adenokarsinom ve adenokarsinom komponentinin dışlanamadığı tümörlerde bakılması önerilmektedir (48). Geliştirilen yeni ilaçlar konvansiyonel kemoterapiye oranla sağkalım avantajı sağlasada bir süre sonra kanser genomunda oluşan yeni mutasyonlar sonucu ilaçlara direnç ortaya çıkmaktadır(86,87).

Tümör süpresör genler (TSG) normal hücre büyümesinin önemli negatif düzenleyicileridir. TSG'lerde fonksiyon kaybı olması için her iki alelinde etkilenmesi gerekmektedir. En sık inaktivasyonu görülen genler TP53, RB1, RASSF1A, PTEN, LKB, CDKN2A/B (p16/ p14) olarak sayılabilir(71,90). TP53

aracılığıyla siklin bağımlı kinaz inhibitörlerinin ekspresyonu arttırılarak DNA onarımı veya hücre apoptozunun sağlanması için hücre siklusu durdurulur. KHDAK'ların %65'inde izlenir (91).



Şekil 5: Akciğer ADK'deki yolaklar (92 referans nolu makaleden alınmıştır)

2.7.2. Prognostik Biyobelirteçler

KHDAK patogenezinde yukarıda da bahsedildiği gibi protein-kinaz aktivitesi, transkripsiyon faktörleri, epigenetik değişkenler ile ilişkilendirilmiş birçok somatik

bozukluk bildirilmiştir (92-94). Bu yolakların içerikleri hem potansiyel birer ilaç hedefi aynı zamanda da biyobelirteçlerdir. Bu biyomoleküller; DNA, miRNA veya özgül proteinler olabileceği gibi hastanın effüzyon, serum ya da sekresyonlarında kantitatif olarak ölçülebilen ve tümör dokusunda immün metotlarla tespit edilebilen protein ekspresyon seviyesi de olabilir. Belirteçlerin kullanım alanları çeşitli şekillerde kategorize edilebilir: tanı ve tarama aşamasında, nüks, metastaz yada sağkalım ile ilişkili prognoz tayininde, tedaviye verilecek yanıtın tahmininde, uygun tedavi protokollerinin seçilmesinde ve hedefe yönelik tedavinin belirlenmesinde kullanılır. Biyolojik süreçlerin işlevsel ünitesi proteinler olduğundan, neredeyse tüm FDA onaylı kanser biyobelirteçleri protein yapıdadır (95).

İmmünhistokimya alt başlığında da bahsedildiği gibi akciğer tümör dokusunun morfolojik olarak incelenmesinin yeterli olmadığı durumlarda tanısal amaçlı immünhistokimyasal belirteç kullanımı önemli fayda sağlar. Serum biyobelirteçleri açısından benzer güçte tanısal ya da tarama amaçlı bir biyobelirteç yoktur. 90'lı ve 2000'li yıllarda, akciğer kanseri riski açısından yüksek riskli bireylerde yapılmış birçok çalışmada CEA, CK18, CK19 fragmanı serum seviyesi-hastalık ilişkisine bakılmış ve kullanımları önerilmemiştir (96,97).

Prognostik açıdan bakıldığında akciğer kanserinde tümörün evresi; en anlamlı parametredir ve tüm risk ve tedavi grupları evreye göre oluşturulur (2). Ancak yedinci veya sekizinci evrelendirme sistemine göre benzer evrelerde olan hastalar prognoz açısından farklılıklar gösterir(98). Prognostik biyobelirteçlerin kullanımıyla yüksek risk grubu hastalar belirlenir ve postoperatif adjuvan tedavi ile sağkalım avantajı sağlanır.

Prediktif yönden tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde kullanılır. Örneğin; EGFR tirozin kinaz inhibitörlerinden gefitinib, konvansiyonel tedavi (karboplatin-paklitaksel) ile kıyaslandığında, sigara içmemiş ve ADK tanılı hastalarda, progresyonsuz sağkalım avantajı sağladığı saptanmıştır(99).

Proteomik ve genomik teknolojideki ilerlemeler, yeni biyobelirteçlerin oluşmasını sağlamıştır.

2.7.2.1. Tirozin kinaz reseptör genleri

EGFR (Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü)

EGFR, HER1 ya da ErbB1 olarak da bilinen, ErbB reseptör kinaz ailesinin dört üyesinden (EGFR, HER2, HER3, HER4) biridir. EGFR geni 7. kromozomun kısa kolunda (7p12.13) bulunur. Tüm ErbB proteinlerinin, hücre dışı ligand bağlama alanı, hücre membranından geçtiği kısım, hücre içinde tirozin kinaz alanı ve C terminal düzenleyici bölge olmak üzere 4 adet fonksiyonel bölgeleri vardır(100-102). Hücre dışı bir sinyal aracılığı bu reseptörlere ligand bağlandığında aktive olurlar ve dimerizasyon gerçekleşir. Reseptör dimerize olduğunda hücre içi bölgesinin tirozin kalıntılarına bir ATP bağlanarak fosforile hale gelir. Fosforilasyonile aktive edilen EGFR hücrede hayatta kalma, hücre büyümesi ve tümör ilerlemesine yol açan bir dizi sinyal molekülünü açığa çıkarır. Aktive EGFR, RAS/RAF/MAPK, JAK/STAT ve PI-3K/ATK/mTOR gibi sinyal yolaklarını aktifler ve bu yolaklar hücre siklusunu başlatacak birçok nükleer proteini ortaya çıkarır.

KHDAK'larında EGFR mutasyonu hücre içi tirozin bölgesini kodlayan ilk dört ekzonda (ekzon 18-22) meydana gelir. En sık ekzon 19'daki delesyonlar (%45) görülür.

Akciğer kanserlerinde EGFR mutasyonları çok büyük oranda ADK'da ve çok az miktarda ise adenoskuamöz karsinomalarda görülebilir. EGFR mutasyonları, genç, sigara içmeyen kadınlarda ve histolojik olarak en sık lepidik patern ile mikropapiller patern gösteren ADK'larda görülmektedir. SHK'da ise mutasyonlar oldukça nadir izlenmektedir (103).

EGFR'nin hücre içi tirozin kinaz bölgesine karşı ATP ile yarışacak küçük moleküller ile onkojenik EGFR sinyali engellemeyi sağlayan hedefe yönelik tedavi ajanları geliştirilmiştir.2004 yılında yapılan üç ayrı çalışmada EGFR'nin tirozin kinaz bölgesindeki aktivasyon mutasyonu için kullanılan EGFR tirozin kinaz inhibitörleri (EGFR-TKI) olan gefitinib ve erlotinibe karşı bazı hastalardan olumlu cevap alınması akciğer kanserinde hedefe yönelik tedaviler açısından dönüm noktası olmuştur. Bu çalışmalardan sonra 2004 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından geri dönüşlü EGFR-TKI olan 'gefitinib' ve 'erlotinib' kullanım onayı almıştır (104-106).

Ekzon 18'deki mutasyonlar EGFR tirozin kinaz inhibitörlerine (TKİ) duyarlı iken, ekzon 20'deki çerçeve içi insersiyonlar TKİ'ye dirençlidir (100,107). Bu direnç mekanizmalarının %50'si ekzon 20'de 790. pozisyona treonin yerine metiyonin aminoasidinin (T790M) gelmesidir (108). Üçüncü kuşak tirozin kinaz inhibitörleri (osimertinib) hem aktive edici EGFR mutasyonlarına hem de ekzon 20 T790M direnç mutasyonuna karşı etkili olan pan-ErbB inhibitörleridir (100). Diğer direnç mekanizmaları, MET amplifikasyonu (%5), HER2 amplifikasyonu (%8), PI3CA mutasyonu (%8) ve küçük hücreli akciğer karsinomuna (%14) dönüşümdür (109,110).

EGFR tümörlerde; immunhistokimyasal olarak, Western blot, ELİSA (enzime bağlı immünosorbent tayini), Floresan aktivasyonlu hücre sınıflama, ligand bağlama yöntemleri kullanılarak protein tayini ile veya polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), Southern blot, FISH yöntemleriile gen amplifikasyon tayini yapılarak saptanabilir(111).

HER2 (human epidermal growth factor receptor 2)

HER2 (NEU, EGFR2 ya da ERBB2) ErbB ailesinin üyelerinden tirozin kinaz aktivitesine sahip bir transmembran reseptör glikoproteinidir. Güçlü bir kinaz aktivitesine sahip olmasına karşın tanımlanmış bir ligandı yoktur (112,113). HER2, hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu ve migrasyonunu sağlayan PI3K/AKT /mTOR ve MEK/ERK yolaklarını aktive eder (114). Meme, mide, akciğer, mesane, over ve pankreas kanserlerinde HER2 onkojenik aktivasyonu görülür.

HER2 protein ekspresyonunda artış, HER2 amplifikasyonu ve HER2 gen mutasyonu olmak üzere üç farklı HER2 değişimi mevcuttur ve bunların varlığında tümörün kemoterapiye göreceli direnç gösterdiği bildirilmiştir. Bu nedenle hedefe yönelik tedavilerin belirlenmesi amacıyla HER2'nin onkojenik aktivasyonunun varlığı sorgulanmadır (114-116). Akciğer kanserinde, HER2 aşırı ekpresyonu yaklaşık %20 oranında görülürken HER2 amplifikasyon sıklığı meme kanserlerinden daha azdır (148). HER2 mutasyonları sıklıkla ekzon 20'deki çerçeve içi insersiyonlar olarak görülür (117-118).

HER2 mutasyonları %2-4, HER2 amplifikasyonu %10-20 ve HER2 ekspresyonu %35 oranında görülür. Ek olarak EGFR ve HER2 arasında heterodimer

bulunup bu yolla sinyalizasyonun çoğalması sağlanır. Bu yüzden EGFR-TKİ'lerle yukarıda blokaj sağlana bile hücre içinde sinyal aktarımı devam ettiğinden ERBB2 mutasyonu olan tümörler TKİ'lere dirençlidir. Ancak geniş spektrumlu TKİ'ler hem EGFR hem de HER2 mutasyonlarında hedefe yönelik tedavide kullanılabilirler (101,107,119).

Hedeflenmiş HER2 monoklonal antikorlarına karşı geliştirilmiş 'Trastuzumab' terapötik etkisi, KHDAK'da tam olarak açıklanamamıştır(120).

HER2 mutasyonu görülme sıklığı, EGFR mutasyonlarında olduğu gibi kadınlarda, ADK'da, sigara içmeyenlerde daha fazla oranda izlenir. Bu özelliği taşıyan bir hastada EGFR mutasyonunun görülme sıklığı %61 iken HER2 mutasyonunun görülme sıklığı %4,3'tür (112). HER2 tirozin kinaz reseptörünün aktivasyonunun tespiti için İHK ve floresan in situ hibridizasyon (FISH) arasında çok değişken oranlar mevcuttur. Bu açıdan İHK ve FISH seçimleri patoloğa bırakılmıştır.

KHDAK'da HER2'nin aşırı ekspresyonu, sağkalımla ve nüks açısından kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (121).

ALK

ALK insülin reseptör ailesinin üyesidir, 2. kromozomda yerleşmiş bir transmembran tirozin kinaz reseptörüdür. Ekstrasellüler kısım, hidrofobik membran içindeki kısım ve intrasellüler kısmı kinaz alanından oluşur. Diğer tirozin kinaz reseptörleri gibi hücre içi yolaklarının sinyal aktivasyonunda rol alır. ALK geninde füzyonlar, fonksiyon kazanım mutasyonları ve amplifikasyonlar bildirilmiştir (122). Bu genetik değişiklikler akciğer kanserinde %5-7 oranında saptanır.

KHDAK'ların %3-6 kadarında, EML4 (echinoderm microtubule-associated protein-like 4) geniile ALK geni füzyonu sonucu ALK sinyali aktiflenir. EML4-ALK füzyonu sigara öyküsü bulunmayan genç erkeklerde daha sık görülmektedir. ALK pozitif KHDAK'larda solid büyüme paterni, kribriform yapı, müköz hücre varlığı (taşlı yüzük hücresi veya goblet hücresi) ve yaygın ekstrasellüler müsin birikimi daha sık saptanmıştır (123,124). Lepidik patern ve nükleer pleomorfizm EGFR pozitif tümörlerin aksine ALK pozitif KHDAK'da çok nadir görülmektedir. EML4-ALK translokasyonu bulunan tümörlerde EGFR mutasyonu izlenmemektedir (125,126). ALK pozitif KHDAK'li hastalarda beyin metastazlarında radyoterapiden sonra

EGFR, KRAS pozitif tümörlerle karşılaştırıldığında sağkalımda iyileşme sağlamış ve ileri evre inoperabl vakalarda olumlu prognostik yanıtlar alınmıştır(127).

ROS1

Proto-onkojen tirozin-protein kinaz 1 ROS (ROS1), 6p22 lokalizasyonunda bulunan insülin reseptör ailesinin bir üyesidir. Tirozin kinaz aktivitesine sahip integral membran proteini olan ROS1'i kodlar ve hücre içi sinyal yolaklarının aktivasyonundan sorumludur. ROS1 yeniden düzenlemeleri akciğer kanserlerinde %1,7 oranında görülmekle birlikte ADK'da özellikle solid ve papiller paternlerde daha sıktır. Hastalar genellikle genç ve hiç sigara içmemiştir(128). ALK mutasyonlarında kullanılan TKİ'lerle tedavi edilirler (129).

Günümüzde ROS1 KHDAK'da onaylanmış hedef tedavi yöntemidir. Birinci faz çalışmasında, çok hedefli MET/ALK/ROS1 inhibitörü 'crizotinib' ROS1 yeniden gen düzenlenmesi bulunan KHDAK'larda etkinlik göstermektedir (130,131).

MET

Mezenkimal epitelyal geçiş (MET) geni tarafından kodlanan hepatosit büyüme faktörü (HBF) reseptörüdür. Hücrenin büyümesinin düzenlenmesinde temel rol oynayan bir tirozin kinaz reseptörüdür (39). Hücrenin proliferasyonuna, migrasyonuna ve tümörün metastazına aracılık eden RAS/RAF/MAPK ve PI3K/AKT/mTOR yolaklarını aktive eder (132). Amplifikasyon ve mutasyonları ile MET aktivasyonu sağlanır. Bu gen değişiklikleri EGFR TKİ'lere karşı direnç ile ilişkilidir (133). MET mutasyonları akciğer ADK'lerin %7'sinde görülür (92).

Tirozin kinaz reseptörlerinin aracılık ettiği sinyal yolaklarında rol oynayan onkoproteinler

KRAS

KRAS; NRAS ve HRAS ile birlikte RAS ailesinin bir üyesidir. Hücre içi büyümeyi kontrol eden bir protoonkogendir. RAS/RAF/MAPK ve PI3K sinyal yolaklarının aktivasyonuna neden olur (134).KRAS'ta en sık aktivasyon mutasyonları oluşur ve böylece büyüme sinyali olmadan GTP sürekli aktif kalarak çoğalma sinyali oluşturur (135).

RAS mutasyonları tüm tümörlerin yaklaşık 1/3'ünde bulunur. Akciğer kanserlerinde oluşan RAS mutasyonlarının %90'ından fazlası KRAS mutasyonudur. NRAS ve HRAS mutasyonları ise akciğerde oldukça nadirdir. KRAS mutasyonu en sık ADK'larda (%25-40) olmak üzere KHDAK'ların yaklaşık olarak %20-22'sinde izlenmektedir. KRAS pozitif hastalar sıklıkla sigara içen hastalar olmasına karşın sigara ile ilişkisi tam olarak ortaya çıkarılamamıştır. KRAS mutasyonunun yaklaşık %17 kadarında sigara öyküsü yoktur (135-138). KRAS mutasyonu olan hastalar daha kötü prognozludur (139).

Yakın zamana kadar standart kemoterapiler haricinde başka tedavi verilmezken son yıllarda bazı alt gruplara immünoterapi denenmektedir. MEK inhibitörleri, kinaz inhibitörleri ve RAF-MEK-ERK yolağı ile birlikte PI3K yolağının inhibitörleri de ayrıca önerilen tedaviler arasındadır (140-146). Ancak henüz MEK ve mTOR inhibitörleri hedefe yönelik tedavi ajanları olarak akciğer kanseri hastalarında kullanılmamaktadır (135).

PI3K/AKT/MTOR

PI3K, hücre metabolizması ve proliferasyonunda etkili bir tür iletim yolağı olup, EGFR, HER2,insülin benzeri büyüme faktörü ve vasküler endotelyal büyüme faktörü ile aktiflenir.

KHDAK'lerde PIK3CA geninde %2-4 oranında mutasyon saptanmıştır. Diğer sürücü mutasyonların aksine EGFR, BRAF, ALK (en sık) ve KRAS mutasyonları ile birlikte görülebilir. SHK'lerde diğer KHDAK alt tiplerine kıyasla daha sık görülme eğilimindedir (147). PIK3CA mutasyonu olan hastalarda mTOR inhibitörü olan 'everolimus' ilacı kullanılır (148).

BRAF (B type Rapidly Accelerated Fibrosarcoma)

RAS/RAF/ERK sinyal yolaklarındaki efektör proteinlerden biri olan BRAF proteinini kodlar. BRAF ve RAF1, RAF kinaz ailesinin bir üyesidir. Hücre çoğalması ve hayatta kalım için ERK aktivasyonunu sağlar. BRAF mutasyonları, KHDAK'lerin %3-5'inde bulunan nadir mutasyonlardandır (136).

En sık BRAF ekzon 15'teki V600E mutasyonu (%50 oranında) görülür. Sigara içenlerde ve kadınlarda sık görülmesine karşın V600E dışı mutasyonlar

erkeklerde sıktır. Histolojik olarak V600E mutasyonu mikropapiller ya da müsin içeren TTF-1 ekspresyonu fazla olan ADK'lerde daha sık görülmektedir. Sarkomatoid karsinomlarda ve BHNEK'lerde de BRAF mutasyonu bulunabilir. Tedavide 'dabrafenib, vemurafenib, trametinib' gibi kinaz inhibitörlerikullanılır (136). BRAF'ı tanımlamak için mevcut standart teknik PCR testidir (149). Günümüzde sadece birkaç BRAF mutasyonlu akciğer kanseri klinik araştırması mevcuttur (150).

2.7.2.2 TÜMÖR SÜPRESSÖR GENLER

Smad4

TGF beta yolağının regülasyonunda görev alan bir tümör süpressör gendir. Mutasyonlarında SMAD4 proteininde fonksiyon ya da ekspresyon kaybı görülür. SMAD4'teki mutasyonlar tek nükleotid değişimleri şeklinde olup KHDAK'lerin %4-6'sında saptanır (151).

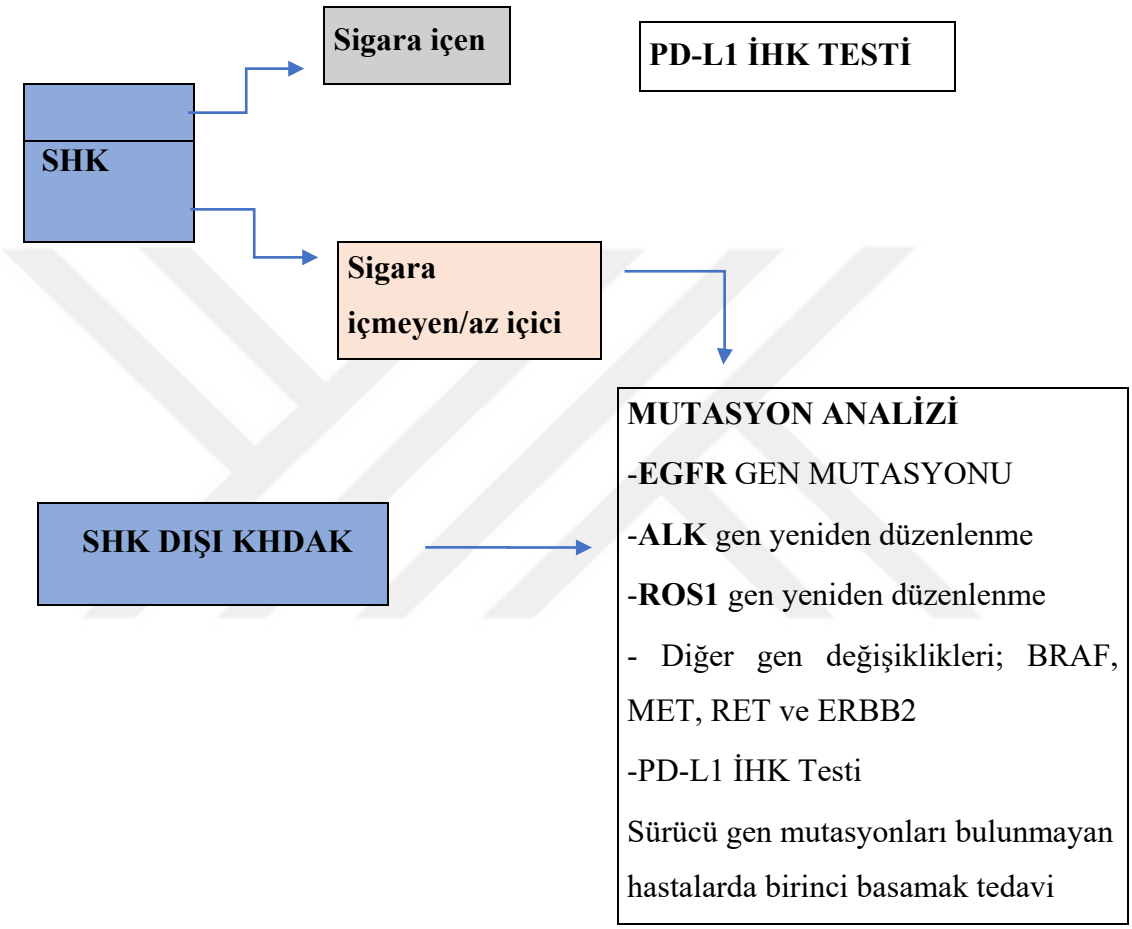
Notchı

NOTCH sinyalizasyonundaki 4 adet NOTCH (1-4) reseptör izoformundan NOTCH1'i kodlar. Epitelyal mezenkimal dönüşüm, kemoterapiye direnç ve hücre proliferasyonundan sorumludur. KHDAK'lerde NOTCH1'in fonksiyon kazanım mutasyonları izlenir. Özellikle solid baskın adenokarsinomlarda NOTCH1 ekspresyonu gözlenmezken, papiller ve mikropapiller baskın olanlarda yüksek oranda ekspresse edilir (152).

Serin/treonin kinaz 11 (STK11)

STK11 diğer adıyla karaciğer kinaz B1 (LKB1), Peutz-Jeghers sendromunda germline mutasyonu görülen bir tümör süpressör gendir. STK11, serin-treonin kinaz kodlayarak mTOR inhibisyonu yapar. Hücre siklusu, hücre polaritesi ve enerji metabolizması gibi biyolojik olayları düzenler. Aktivitesinin kaybı ile onkogenez, metastaz ve invazyona neden olur. SHK'nin dahil olmadığı KHDAK'lerde %25-30 oranında STK11 mutasyonu görülür. KRAS mutasyonları ile birlikte görülürken, EGFR mutasyonları ile birlikte bulunmazlar (153). STK11 mutasyonları tümördeki PDL1 ekspresyonunu ve CD8 + T lenfosit sayısını azaltarak immünoterapi direncinin

gelişmesine neden olur. KRAS mutasyonlarında da tümördeki CD8 + T lenfosit sayısının bir miktar azaldığı bildirilmiş olup, STK11 ve KRAS mutasyonlarının birlikteliği de immünoterapi direncinin oluşmasına neden olur. KHDAK'lerde KRAS-STK11 mutasyon birlikteliği kötü prognoz göstergesidir (154). ADK'da TP53 ve KRAS'dan sonra en sık 3. genetik bozukluktur(91).



Şekil 6: KHDAK'lerde moleküler test algoritması (155 referans nolu makaleden alınmıştır).

2.8. İMMUNOTERAPİ

İmmünoterapide kanser hücrelerinin immün sistem tarafından tanınması, immün sistem duyarlılığın artırılması ve immün sistem inhibisyonun azaltılması amaçlanır. İmmün sistem tümör hücrelerinin eradike olmasında önemli rol oynar. Tümör hücreleri bazı evrimler geçirerek immün sistemden kaçmayı başarmaktadır. İmmün sistemin efektif olarak tümör hücrelerini ortadan kaldırabilması için; tümör hücrelerini tanıması, T hücrelerine sunulması ve T hücrelerinin aktive olması gereklidir(156,157).

T hücresinin aktifleşmesini ve inflamatuar yanıt sonlanması gerektiğinde de etkisizleştirilmesini sağlayan bazı kontrol mekanizmaları vardır. Antijen sunan hücrelerin yüzeyinde bulunan MHC-peptid kompleksine bağlı antijenin T hücre üzerindeki reseptöre (TCR) bağlanması T hücre yanıtı için tek başına yeterli değildir. Eş-uyaran moleküllerin antijen sunan hücre üzerindeki domainlere bağlanması gerekir. Bu eş-uyaranlar T hücreyi aktive edici veya inhibe edici etkilere sahip olabilir. Bu eş-uyaran-ligand etkileşimleri immün sistemin kontrol noktalarıdır. Bu immün kontrol noktaları üzerinden geliştirilen tedavi yöntemleri kanser ile savaşta yeni bir umut olmuştur.

İmmün sistem kontrol noktalarından günümüzde en fazla araştırılanlar Tlenfosit ilişkili antijen 4 (CTLA-4), programlanmış hücre ölümü proteini-1 (PD-1) ve reseptörü PD-L1‟dir. Bu reseptörler immün sistem üzerinde inhibitör etki göstermektedir.

CTLA-4, üzerinde çalışılan ilk immün kontrol noktası reseptörüdür. CTLA-4 homoloğu olan CD28 ile T hücre yüzeyinde bulunup konağın kendi proteinlerine karşı self toleransın gelişmesinde rol oynar. T hücrelerinde bulunan CD28, dendritik hücrelerdeki B7 molekülleri ile etkileşime geçerek immün aktivasyon sağlar. Bu aktivasyon belli bir düzeye gelince inhibe edilip otoimmün olayların geliiminin engellenmesi gerekir. Bu basamakta CD28‟in homoloğu olan, aktive T hücrelerinde bulunan CTLA-4, lenf nodunda dendritik hücreler veya antijen sunan hücrelerdeki ligandlarına bağlanarak immün sistemin aktivasyonunu inhibe eder. CTLA-4 ile bağlandığı B7 ligandı immün sistem için bir çeşit fren görevi görür. CTLA-4‟e karşı geliştirilen monoklonal antikorlar CTLA-4‟ün ligandına bağlanmasını engelleyerek immün sistemin fren mekanizmasını ortadan kaldırır (158). Bu şekilde daha az inhibe

edilen bir immünolojik aktivasyon olur. Artmış immün yanıt, tümör antijenlerine karşı verilen yanıtı artırır ve anti-tümöral etki artar.

Bir diğer immün kontrol noktasında görev alan reseptör immünglobülin süper-ailesinde yer alan PD-1 (CD279)' dir. PD-1, aktive olmuş T hücrelerinde, regülatuar T hücrelerinde, B hücrelerinde, NK hücrelerinde, aktive monosit ve dendritik hücrelerde eksprese olur. Görevi immünolojik aktivasyonu sınırlandırmak ve inhibe etmektir. PD-1'e bağlanarak bu inhibisyonun gerçekleşmesini sağlayan iki ligandı PD-L1 (B7-H1) ve PD-L2 (B7-DC) mevcuttur (43). PD-L2 ligandı PD-L1 ligandına göre daha seçicidir ve dendritik hücreler ve makrofajlarda eksprese olur. Yapımı interlökin 4 tarafından indüklenir. PD-L1, kromozom 9"da yer alan CD274 geni tarafından kodlanan 290 aminoasitlik tip 1 transmembran yüzey glikoproteinidir. PD-L1 aktive T hücreleri ve NK hücreleri tarafından salınan IFN-γ ile indüklenir. Aktive B ve T hücrelerinde, antijen sunan hücrelerde, endotelyal hücrelerde ve akciğer, meme, pankreas, kolon, böbrek kanserleri gibi bazı solid tümörlerde ekspresyonu mevcuttur (11,159-161). PD-L1 ligandı olan tümör hücreleri, aktive T hücrelerindeki PD-1'e bağlanarak, tümör mikroçevresinde ve PD-L1 ligandı olan tümör mikroçevresindeki dendritik hücreler aracılığıyla lenf nodunda, hem kazanılmış hem de doğal immün sistemi inhibe eder. KHDAK"larında tümörü infiltre eden lenfositlerde artmış PD-1 ekspresyonu ve bununla birlikte immün sistem disfonksiyonu bildrilmiştir. Bunun PD-L1 inhibisyonu ile geri çevrilebileceği öne sürülmüştür (162).

Günümüzde CTLA-4 yolağına, PD-1'e ve PD-L1'e karşı hedef tedaviler geliştirilmiş olup çalışmaları devam etmektedir(163).

2.9. SİRTUİNLER

Sirtuinler, yüksek oranda korunmuş bir protein ailesidir. Memeli sirtuinleri maya Sir2 proteinlerinin homologlarıdır.Sir2 (Silent Information Regulatory 2), ilk olarak Klar vd. (1979) tarafından mayada keşfedilmiş ve başlangıçta histon ya da histon dışı hedeflerin deasetilasyonunu yapan gen düzenleyici olarak tanımlanmıştır. (164).

Sirtuin ismi ilk kez 1999 yılında, SIRT1-5 arasındaki beş Sir2 insan homoloğunu tanımlayan Roy Frye tarafından kullanılmıştır(164). Sirtuinler, NAD'a

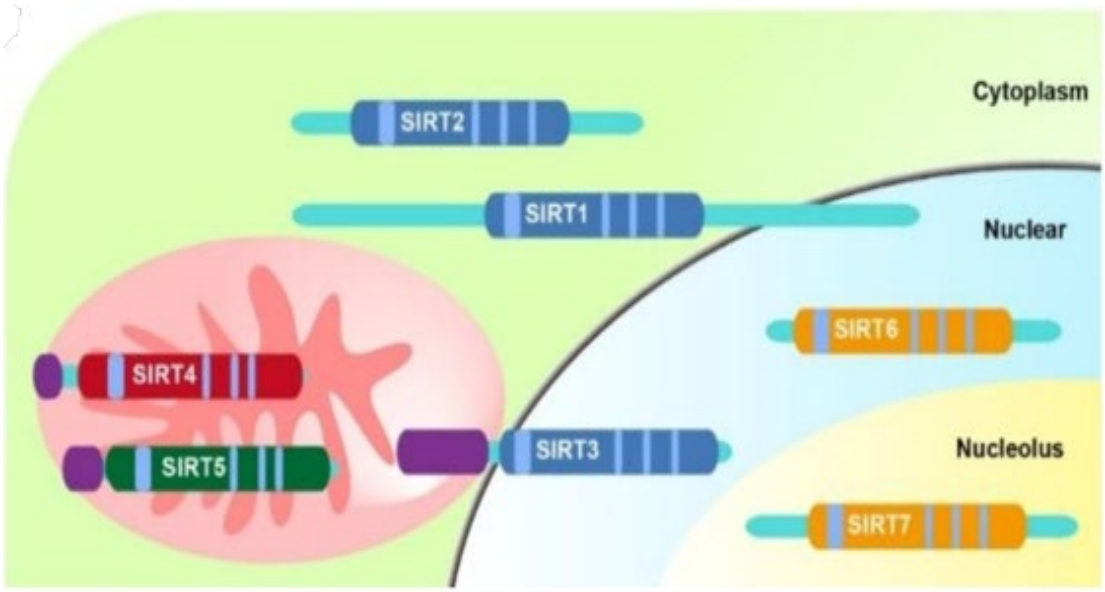
bağımlı protein deasetilaz ve/veya ADP-ribosiltransfeaz aktivitesine sahiptir. Şimdiye kadar insan hücrelerinde yedi adet sirtuin (SIRT1–7) tanımlanmıştır.

Tüm sirtuinler ortak bir NAD+ kofaktörüne ihtiyaç duyarlar ve tip III histon deasetilazların (HDAC) içinde sınıflandırılırlar. Sirtuinler, katalitik aktiviteleri için NAD+ kofaktörüne ihtiyaç duymalarıyla geleneksel HDAC'lerden fonksiyonel olarak farklılık gösterirler (165). Yaklaşık 200-275 amino asitlik korunmuş katalitik çekirdek alan ve özgün olarak değişen uzunlukta N-terminal ve/veya C-terminal diziler ile karakterize edilmektedirler. Katalitik aktivitelerine ve hücre içindeki belirli konumlarına katkıda bulunan amino ve karboksi terminal bölgelerinde ki farklılıklar nedeniyle sirtuin proteinleri filogenetik olarak dört sınıfa ayrılır. SIRT1, SIRT2 ve SIRT3 sınıf I olarak gruplanır, SIRT4 sınıf II olarak gruplanır, SIRT5 sınıf III, SIRT6 ve SIRT7 sınıf IV olarak gruplandırılır (7,166).

Sirtuinler histon dışı deasetilasyon reaksiyonlarına da katılırlar. Deasetilaz reaksiyonlarında, substrattan asetil grubunun koparılarak NAD+'ın ADP-riboz kısmına aktarılmasını kataliz eder. Reaksiyon, nikotinamid (NAM) ve 2'-O-asetil-ADP-riboz (OAADPr) oluşumu ile sonuçlanır. SIRT1, en yaygın çalışılan ve en güçlü deasetilaz aktivitesi gösteren sirtuin çeşididir (164-167).

Asetilasyon, protein etkileşimlerinin, protein katalitik aktivitesinin ve stabilitesinin düzenlenmesinde ve dolayısıyla çoğalma, apoptoz ve metastaz dahil olmak üzere fizyolojik fonksiyonlarda önemli rol oynayan transkripsiyonel modifikasyon sürecidir.

Sirtuinler için histon deasetilaz aktivitesinden daha önce tanımlanmış olan bir diğer mekanizma ise mono-ADP-ribozil transferaz aktivitesidir. Sirtuin aracılı mono-ribozil-transferaz reaksiyonlarında ADP-riboz grupları NAD+ 'dan alıcı proteinlere ADP-ribozilasyon olarak adlandırılan post-translasyonel modifikasyonla aktarılır. Bu reaksiyon sonunda mono-ADPribozile proteinler üretilir ve deasetilasyon reaksiyonlarına benzer şekilde nikotinamid oluşumu ile sonuçlanır (164,167).



Şekil 7: İnsan sirtuinlerinin şematik yapısı.

Sirtuin sınıflarını yansıtan katalitik etki alanlarıMavi (sınıf I), Kırmızı (sınıf II), Yeşil (sınıf III) ve turuncu (sınıf IV) olarak gösterilir; mitokondrial hedefleme dizileri Mor renklegösterilmiştir; NAD+ bağlama bölgeleri gök mavisi bir renkle gösterilmiş; Peptid zincirleri açık mavi renkle gösterilmiştir (166 referans nolu makaleden alınmıştır).

Sirtuin üyeler iönemli ölçüde değişen fonksiyonel ayrımları nedeniyle hücrede farklı lokalizasyonlarda bulunurlar (Şekil-11)(168). SIRT1, SIRT6 ve SIRT7, histonları deasetile etme işlevi görerek, gen ekspresyonunu epigenetik olarak etkiledikleri nükleusta lokalize olurlar. SIRT1 ayrıca spesifik transkripsiyon faktörlerini ve enzimleri de deasetile eder. SIRT2 ilk başta sitosolik sirtuin olarak tanımlanmıştır, ancak son yayınlarda SIRT2'nin hücre döngüsü kontrolünü modüle etmeye yaradığı ve nükleusta da bulunduğu bildirilmiştir. SIRT3, SIRT4 ve SIRT5 mitokondride lokalizedir ve genel olarak mitokondriyal oksidatif metabolizmayı arttırarak kalori kısıtlamasına cevap vermektedirler (169).

Sirtuinler katalitik aktiviteleri sayesinde yaşlanma, stres yanıtı, canlılık, farklılaşma, metabolizma, apoptoz ve hücre sağkalımı gibi önemli birçok biyolojik süreçlerde yer almaktadır. Ancak buna rağmen sirtuinlerin, farklı tümörlerde hem tümör promotörleri hem de tümör baskılayıcıları gibi ikili özellikleri nedeniyle etki mekanizmaları tam olarak açıklanamamaktadır. Bu sebeple sirtuinler araştırmacılar için giderek artan bir öneme sahiptir(166).

2.9.1. Sırt 1

SIRT1, insanlarda 747 amino asit ile, şimdiye kadar en çok çalışılan sirtuin olmuştur. SIRT1, *S. cerevisiae* SIR2 proteininin en yakın insan homologudur. Ayrıca hücre veya fizyolojik stresin türüne bağlı olarak sitoplazma ve çekirdek arasında SIRT1'in kapanmasına izin veren nükleer lokalizasyon sinyaline (NLS) ve merkezde korunmuş katalitik alana sahiptir(7).

SIRT1 normal hücrelerde genetik stabiliteyi korur, streskoşullarında, hücre döngüsünü durdurmayı, DNA onarımını ve hücre sağkalımını destekler. Kronik stres durumunda veya bazı büyük DNA hasarı seviyelerinde yaşlanmaya ve apoptoza neden olur ancak baskılayıcılarının veya kontrol noktalarının kaybında ise apoptoz inhibisyonu yoluyla tümör oluşumunu ve gelişimini teşvik eder(7,166).

SIRT1 ağırlıklı olarak çekirdektedir, ayrıca bazı önemli sitoplazmik fonksiyonlara da sahiptir. Hücre çoğalması, farklılaşması, stres yanıtı, metabolizma, enerji homeostazı, yaşlanma ve kanser genetiğinde rol aldığı bildirilmiştir (170).Ayrıca SIRT1'in biyolojik rolleri, çoğunlukla, metabolik, oksidatif / genotoksik ve onkogenik stres tepkilerinde, çok çeşitli hücresel fonksiyonlarda yer alan, artan sayıda histon olmayan substratın deasetilasyonu yoluyla ortaya çıkar. Bu substratlar genel olarak şu şekilde sınıflandırılabilir;

(1) Hücre döngüsü ilerlemesini düzenlemek ve çeşitli koşullar altında sağ kalımı teşvik etmek için, transkripsiyon faktörleri P53, FOXO1, FOXO3a, NF-κB, c-MYC, N-MYC, E2F1 ve HIF-1α;

(2) DNA hasarı onarımını iyileştirmek için DNA tamir mekanizması elemanları Ku-70, NBS1, APE1, XPA/C ve WRN;

(3) Metabolizmayı düzenlemek için nükleer reseptör, sirkadiyen saat ve ilgili faktörler LXR, FXR, UCP2, PPARγ, PGC1α, CLOCK ve PER2;

(4) Gen ekspresyonunu düzenlemek için histon modifiye edici SUV39H1, p300 ve PCAF enzimleri;

(5) Hücre sinyal molekülleri β-katenin ve SMAD7 (Tablo-4)(168,169).

2.9.2. Sırt 2

SIRT2, insanlarda 389 amino asit ile, esas olarak sitozolde bulunan SIR2 mayasının bir insan homoloğudur. Ancak yapılan son çalışmalarda çekirdekte lokalize olan yeni bir SIRT2 varyantı tanımlanmıştır (166).

SIRT2 proteini, deasetilaz işlevi için gerekli olan ve tüm memeli sirtuinlerinde korunmuş olan merkezi bir katalitik alan içerir. Hem NAD+ bağımlı enzimatik reaksiyona hem de ADP-riboziltransferaz enzimatik aktivitesine sahiptir (164).

SIRT2 genomik bütünlük, hücre büyümesi, farklılaşma ve enerji metabolizması gibi hücresel fonksiyonlarda rol oynar. Ayrıca, inflamasyon, oksidatif stres ve mitokondriyal fonksiyonun yanı sıra adiposit farklılaşması, yağ asidi oksidasyonu, glukoneogenez ve insülin duyarlılığı dahil olmak üzere metabolik homeostazın korunmasında çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (7,166).

SIRT2, H3 ve H4 histon proteinleri, transkripsiyon faktörleri P53, p65, FOXO1 ve FOXO3A dahil olmak üzere çeşitli protein substratları ve α-tubulini deasetile eder. Diğer sirtuinlerin aksine, SIRT2 temel olarak sitoplazmiktir, burada α -tübülin lys40 ile biraraya gelir ve mikrotübül organizasyonunu düzenler. Ayrıca sitoplazmada, SIRT1'e benzer şekilde NF-κB p65 alt ünitesini deasetile ederek inflamasyon sürecinin gelişiminde koruyucu rol oynar.

G2 / M fazı sırasında, SIRT2 çekirdeğe taşınır ve histon H4K16'yı deasetile eder, böylece metafaz sırasında kromatin yoğunlaşmasını modüle eder. SIRT2 seviyeleri mitozda artar ve aşırı ekspresyonu M fazını uzatarak mitotik çıkışı geciktirir. SIRT2, APC/C'nin aktivitesini pozitif olarak düzenleyerek mitozun bütünlüğünün korunmasında önemli bir role sahiptir (7,166).

Sirtuin ailesinin proteinleri, tümör hücre çoğalması, apoptoz, metastaz ve tümörogenezis de dahil olmak üzere çeşitli patolojik süreçlerde, tümörlerle yakından ilişkili olan hem normal hem de patolojik koşullarda rol oynar:

Tablo 4: Memeli Sirtuinleri lokalizasyonları ve hücre içi hedefleri (165 referans nolu makaleden uyarlanmıştır).

SİRTUİN	LOKALİZASYON	SUBSTRATLARI	ENZİMATİK AKTİVİTE
SIRT1	Nükleus, Sitoplazma	HIF2α, p300, LXR, FXR, Ku70, XPA WRN, NBS1, Ace-CS1, c-MYC, SUV39H1, BMAL1, PER2, PARP1, SREBP-1C	Deasetilasyon
SIRT2	Nükleus, Sitoplazma	HistonH4, HistonH3, Tubulin, FOXO3A, FOXO3, HIF1α, p53, p300, p65 FOXO1, Ku70, Skp2, SOD2, GDH, LCAD	Deasetilasyon, ADP-ribozilasyon
SIRT3	Mitokondri	ATP synthase F1, ALDH2, Skp2, FOXO3	Deasetilasyon
SIRT4	Mitokondri	GDH, Stress-70	Deasetilasyon, ADP-ribozilasyon
SIRT5	Mitokondri	Sitokrom C, CPS1, SOD1, ürat oksidaz HMGCS2	Deasetilasyon
SIRT6	Nükleus	TNFα, HİSTON H3, PARP1	Deasetilasyon, ADP-ribozilasyon
SIRT7	Nükelolus	Histon H3, P53, DNA-PK	Deasetilasyon

2.9.3. Kanserlerde Sirtuinler:

Sirtuinler kanser hücre büyümesini ve çoğalmasını düzenleyen karmaşık ve önemli roller üstlenirler.

Sırt1:

SIRT1'in kanser ve hücre sağkalımındaki mekanizması, SIRT1 ekspresyonunun düzenlenmesi ve SIRT1 aktivitesinin modülasyonu ile ilişkilidir. Birçok etkisi gösterilen SIRT1'in daha çok onkogenik olduğu üzerinde durulmaktadır (169). SIRT1 ekspresyonu ve deasetilaz aktivitesi, normal hücrelerde

P53, Chk2, HIC1 ve DBC1 gibi tümör baskılayıcı proteinler tarafından baskılanır. SIRT1 ekspresyonunun ve/veya aktivitesinin artması, P53'ü ve potansiyel olarak başka tümör baskılayıcı genleri inhibe ederek kanser riskini arttırabileceği yönündedir.

BRCA1 (Breast cancer 1) ile ilişkili memekanserlerinde, SIRT1'in 'Survivin'i' baskılaması tümör baskılayıcı rolünü göstermektedir. BRCA1, SIRT1 promotörüyle histon deasetilasyon yoluyla etkileşime girer ve antiapoptotik gen survivin ekspresyonunu epigenetik olarak baskılar. Bu nedenle BRCA1 mutasyonu ile ilişkili meme kanserlerinde anormal derecede düşük SIRT1 seviyeleri ve yüksek Survivin seviyeleri görülmektedir(166,171).

Öte yandan, SIRT1'in çoğu kanserde hücre büyümesini ve çoğalmasını teşvik ettiği gösterilmiştir. Yüksek SIRT1 ekspresyonu düzeyleri akciğer kanseri, prostat kanseri, HCC, yumuşak doku sarkomu, mide kanseri ve diffüz büyük B-hücreli lenfoma gibi pek çok kanser türünde kötü prognozla ilişkilidir (7,166). Benzer şekilde, meme kanserinde SIRT1 histolojik derece, tümör büyüklüğü ve lenf nodu metastazı ile bağlantılıdır (166). Fakat SIRT1'in aşırı ekspresyonunun kolorektal karsinomda ve baş-boyun skuamöz hücreli karsinomda iyi prognostik belirteç olduğunu bildiren yayınlarda vardır (172,173).

Sırt2;

SIRT1'e benzer şekilde, SIRT2'nin hücre canlılığı üzerindeki etkisi hücresel içeriğe veya tümörün türüne bağlı olarak değişmektedir. Bir dizi çalışma, SIRT2'nin β-catenin ve KDM4A ile etkileşime girerek hücre büyümesini engellediğini, çeşitli substratları deasetile ederek hem tümör baskılayıcı olarak hemd e tümör gelişiminin desteklenmesinde rol alabileceğini göstermiştir. SIRT2 ayrıca pankreas kanseri, HCC ve nöroblastom gibi kanser türlerinde hücre çoğalması ve daha kısa genel sağkalım ile ilişkili onkojenik bir faktör olarak da tanımlanır(166).

KHDAK, mide karsinomları ve HCC'da SIRT2 ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır. Buna karşın aralarında akut miyeloid lösemi ve prostat kanserinin de bulunduğu çeşitli kanser türlerinde SIRT2 ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir(7,166).

2.9.4. Apopitoz:

Apoptoz, çeşitli fizyolojik streslere yanıt olarak BAX, BAK1 ve BCL2 gibi pro-ve antiapoptotik ilişkili genlerin etkisiyle kontrol edilir. Artan kanıtlar, sirtuinlerin genellikle çeşitli bileşenlerin ekspresyonunun düzenlenmesiyle apoptozda yer aldığını göstermektedir.

SIRT1 ağırlıklı olarak çekirdekte bulunur ve apoptozun düzenleyicisi olarak işlev görür. DNA hasarına ve oksidatif strese yanıt olarak SIRT1, antiapoptotik aktivitesini uygular, apoptozla ilişkili proteinleri ve hücre sinyal moleküllerini deasetile eder (166).

Ayrıca, MYC (c-MYC ve N-MYC) proto-onkogenlerinin de doğrudan SIRT1 transkripsiyonunu aktive ettiği gösterilmiştir. SIRT1 ve c-MYC arasındaki pozitif geri besleme döngüsü sonucu c-MYC, SIRT1 ekspresyonunu artırabilir, SIRT1 de c-MYC'yi deasetile ederek stabilize eder ve c-MYC transkripsiyonel aktivitesini geliştirir. Böylece apoptoz ve yaşlanmayı baskılayarak c-MYC kaynaklı hücre proliferasyonunu teşvik eder (174).

SIRT2, P53'ü deasetilasyonla katalize ederek DNA hasarına yanıt olarak apoptozu indükleyebilir. Ek olarak CASP8 ve CASP3'ü aktive eden ve hücre apoptozunu tetikleyen FOXO3a'ya bağlanarak, FOXO3a'nın nükleer translokasyonunu teşvik edebilir (166).

2.9.5. Tümörogenez:

Sirtuinler tümörogenezi hem teşvik edebildikleri hem de baskılayabildikleri için kanserde çift taraflı etki gösterirler.

SIRT1 prostat karsinomu, kolon kanseri ve bazı nonmelanom cilt kanserleri de dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde yüksek oranda eksprese edilir. Bununla birlikte, glioblastoma, mesane kanseri ve over kanseri gibi diğer birçok kanserde de baskılanır. SIRT1'in iki zıt fonksiyonu sadece tümör çoğalması ve inhibisyonunda değil, tümör gelişiminde de bildirilmiştir. Bir onkogen veya normal bir epigenetik düzenleyici olarak rol alabilir. Belirli tümörlere özgü onkojenik yolaklarda etkinlik gösterebilir. Ayrıca önceki çalışmalarda gösterildiği gibi, SIRT1 antiapoptotik aktivitesi yoluyla da tümörogenezde işlev görebilir. Pro-apoptotik proteinleri

deasetile eder ve hücrelerin genotoksik ve oksidatif stresler altında hayatta kalmasına yardımcı olur (166).

SIRT2 ile ilgili olarak ise tümör gelişimine yol açtığını ve zayıf bir tümör baskılayıcı olarak etkinlik gösterdiğini bildirilen çalışmalar mevcuttur. SIRT2 inhibisyonuyla çeşitli kanser hücrelerinde ve meme kanserinin fare modellerinde geniş antikanser aktivitesi ile sonuçlandığı bulunmuştur. Antikanser etkisinin de MYC seviyesindeki azalma ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir(166).

2.9.6. Sirtuinler ve immunoterapi

Moleküler biyolojinin gelişmesiyle birlikte sirtuin ailesi giderek hastalık öngörüsünün ve tümör tedavisinin hedefi haline gelmiştir. Bu nedenle sirtuinlerin spesifik aktivatörlerinin veya inhibitörlerinin geliştirilmesi farklı kanser türleri için çok sayıda terapötik fırsatı ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle her sirtuin proteini için, çok kapsamlı bir araştırma neticesinde etki mekanizmasının çok iyi bilinmesi gereklidir (166).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. OLGULARIN SEÇİLMESİ, VERİLERİN TOPLANMASI VE KULLANILAN PARAMETRELER:

Çalışmamızda 2014-2018 yılları arasında Kartal Dr.Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi Tıbbi Patoloji Bölümü'nde KHDAK (adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom, adenoskuamöz karsinom) tanısı almış 186 olguya ait akciğer rezeksiyon (lobektomi, segmentektomi, wedge rezeksiyon, pnömonektomi) materyalleri değerlendirildi. Daha önce neoadjuvan tedavisi almış hastalar da çalışmaya dahil edildi.

Çalışmamız için Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kartal Dr. Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi'nden 22.07.2020 tarihli 2020/514/182/10 nolu karar ile yerel etik kurul onayı alındı ve bu çalışma Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından, 2020/097 proje kod numarası ile desteklendi (Bkz Ek-2)

Olgulara ait parametreler, hastane otomasyon sistemi kullanılarak tarandı. Hastaların klinik evrelendirmesi, Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserleri'nde 'America Joint Committee on Cancer/ Union for International Cancer Control (AJCC/UICC)'nin 8. Baskı TNM sınıflaması kullanılarak hesaplandı.

Olgularda değerlendirilen parametreler;

- Yaş: tanı anındaki yaşı
- Tümör boyutu: tümörün en büyük boyutu
- Tümör yerleşim yeri: tümörün akciğerdeki yerleşim yerine göre sağ üst/ sağ orta/ sağ alt/ sol üst/ sol alt
- SHK için histolojik alt tip: Keratinize, non-keratinize ve bazaloid tip
- ADK için histolojik alt tip: Lepidik, asiner, papiller, mikropapiller ve solid alt tip (Histolojik grade olarak tümörde baskın olan patern kullanıldı)
- Odak sayısı: tek/ multipl
- Bronş tutulumu: negatif/ pozitif
- İnsitu karsinom
- T, N, M Değerleri
- Plevral invazyon: var/ yok
- Lenfovasküler invazyon: var/ yok

- Perinöral invazyon: var/yok
- Neoadjuvan tedavi: var/yok
- Metastaz/nüks: var/ yok, varsa hangi bölgeye
- Sağkalım: hayatta/hayatta değil ve sağkalım süresi
- İmmunhistokimyasal SIRT1ekspresyonu: Low ekspresyon / High ekspresyon
- İmmunhistokimyasal SIRT2ekspresyonu:Low ekspresyon / High ekspresyon

Araştırmaya dahil edilme kriterleri;

1. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri tanısı olması (Neoadjuvan tedavi alanlar da dahil edildi)
2. Patoloji preparatında SIRT1 ve SIRT2expresyonu çalışılacak kadar yeterli numunenin olması

Araştırmaya dahil edilmeme kriterleri;

1. İğne biyopsileri ve diğer materyalin sınırlı olduğu vakalar
2. Patoloji arşivinde hastaya ait parafin blokların mevcut olmaması
3. Hastanın ikinci bir primer tümörünün olması
4. Hastane otomasyon sisteminden sağkalım analizi için gerekli hasta takip bilgilerine ulaşılamaması

3.2. İMMÜNHİSTOKİMYASAL İNCELEME METODU

Olgulara ait H&E boyalı kesitler, formalin ile fikse edilmiş ve parafine gömülmüş bloklar arşivden çıkarılarak incelendi. Hazır camlara bakılarak en çok tümör dokusunu ve beraberinde normal dokuyuda içeren uygun parafin blok seçimi yapıldı. Hazır camları bulunamayan bloklardan tekrardan H&E boyama yapılarak uygun blok tespit edildi. Her bir olgu için, bir adet tanısal parafin blok saptandı.

SIRT1 (B-7,mouse monoclonal antibody, sc-74465) ve SIRT2 (A-5, mouse monoclonal antibody, sc-28298) ile boyamadan önce bir preparatta uygun dilüsyon oranını bulmak için çeşitli sulandırma oranları denendi ve uygun sulandırma SIRT1 antikoru için 1/300 ve SIRT2 antikoru için 1/100 olarak belirlendi. İç ve dış kontroller, Human Protein Atlas'taki (http://www.proteinatlas.org/) dokuların SIRT1 ve SIRT2 boyanma skorları göz önünde bulundurularak seçildi. SIRT1 antikoruna yönelik iç pozitif kontrol olarak plazma hücreleri ve alveoler makrofajlar, dış pozitif kontrol olarak testis dokusu; SIRT2 için pozitif iç kontrol olarak bronş epiteli ve kas

tabakası, alveoler makrofajlar, plazma hücreleri ve dış pozitif kontrol olarak safra kesesi kullanıldı.

İmmünohistokimyasal boyama işlemi 'Ventana Medical System-Benchmark Ultra/ISH Staining' ile gerçekleştirildi. 'Ultraview Universal DAB Detection Kit' kullanılarak şu prosedürler uygulandı:

1. Parafin bloklardan kesitler 4 mikron kalınlığındaki pozitif şarjlı lamlara alındı.
2. 70˚C'lik etüvde 1 saat bekletildi.
3. Lamlar Benchmark Ventana Ultra marka immünohistokimya cihazına alındı.
4. Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA) ile pH:8'de (CC1) antijen geri kazanımı yapıldı.
5. Antikor enkübasyonu: Primer antikor süresi 2 saat olacak şekilde 1/300 oranında dilüsyon ile SIRT1(B-7)ve 1/100 oranında dilüsyon ile SIRT2(A-5) antikoru uygulandı.
6. Arka plan boyama için Harris Hematoksilen (Ventana Medical Systems) 16 dakika uygulandı.
7. Bluing Reagent (mavileştirme solüsyonu) (Ventana Medical Systems) 4 dakika uygulandı.
8. Lamlar deterjanlı suyla yıkandı.
9. Lamlar absolü alkolde 2 kez çalkalandı.
10. Lamlar kurutulup ksilol bazlı kapatıcıyla kapatıldı.

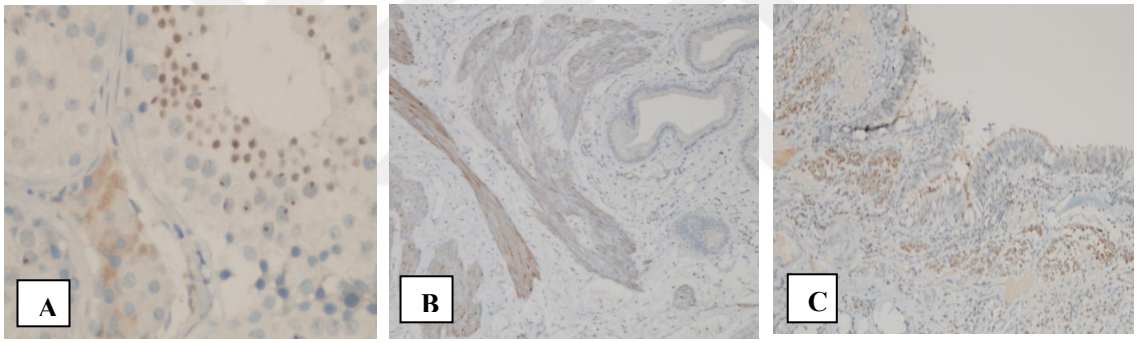
Boyama sonrası tüm kesitler ışık mikroskobunda değerlendirildi.

SIRT1(B-7) ve SIRT2(A-5) için bir skorlama sistemi oluşturuldu. Boyanma skorları daha önce ki çalışmalarda bildirildiği gibi semikantitatif bir puanlama yöntemi kullanılarak hesaplandı(6,175,176). Boyamanın yaygınlığı ve yoğunluğu hastaların klinik özelliklerine ve sonuçlarına kör olarak değerlendirildi. Boyamanın yaygınlığı olarak pozitif hücrelerin yüzdesi hesaplandı (%0=0, 1= %1-25, 2= %26-50, 3= %51-75, 4=%76-100). Boyamanın yoğunluğu bilinen harici pozitif kontrol ile karşılaştırılarak değerlendirildi (0,negatif; 1, zayıf; 2, orta; 3, güçlü). Boyanma yüzdesi ve yoğunluğu kullanılarak elde edilen nihai bir immunhistokimya skoru (Allred skor)hesaplandı(Tablo-6). İHK skoru temel alınarak SIRT1 ve SIRT2 ekspresyonu high ekspresyon (skor >3) ve low ekspresyon (skor ≤3) olarak

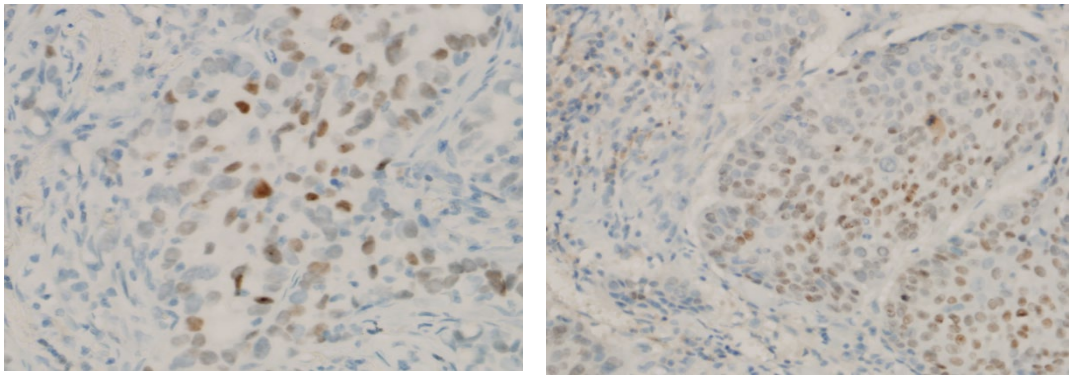
sınıflandırıldı. Skor için cut-off değer; high ve low ekspresyonların ortalaması alınarak elde edildi.

Tablo 5: SIRT1 ve SIRT2 İHK değerlendirmesinde kullanılan ‘’Allred Skor’’ hesaplama yöntemi

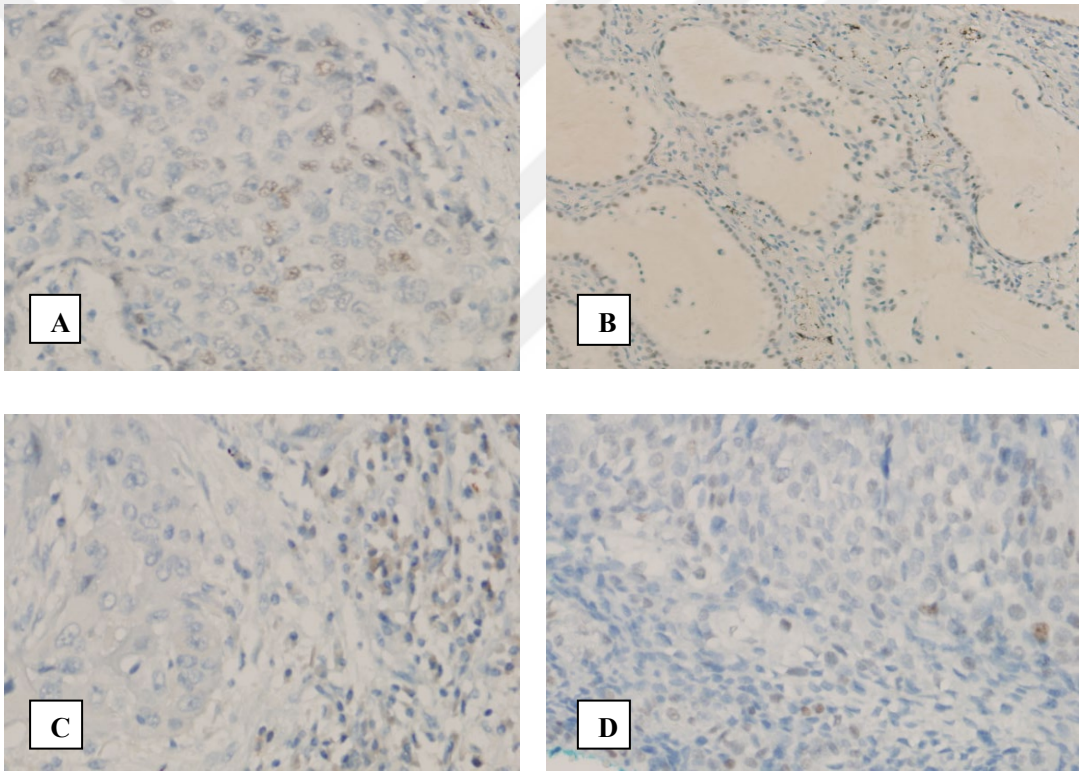
	Boyanma Yüzdesi, %	**Boyanma Yoğunluğu**	**Yoğunluk skoru**
0	0	Yok	0
1	1-25	Zayıf	1
2	26-50	Orta	2
3	51-75	Kuvvetli	3
4	76-100		



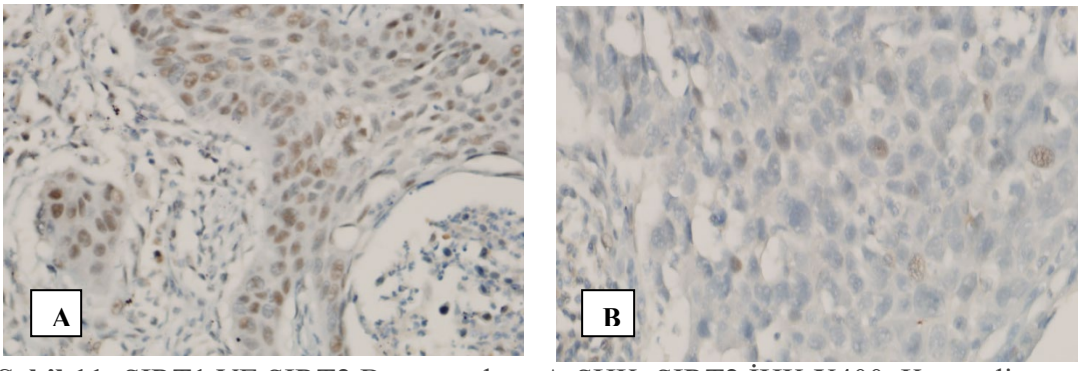
Şekil 8: Sırt1 ve sırt2 Kontrol Boyanmaları; **A-** Testis, SIRT1 İHK-Dış Pozitif Kontrol, seminifer tübülüslerdeki spermatositlerde nükleer ve interstisyel alandaki leydig hücre sitoplazmalarında pozitif boyanma, **B-**Safra Kesesi, SIRT2 İHK-Dış Pozitif Kontrol, Safra Kesesi Duvarında Düz Kas Hücrelerinde Sitoplazmik Boyanma, **C-** Bronş Mukozası, SIRT2 İHK-Pozitif İç Kontrol, Bronş Duvarında Düz Kas Hücrelerinde ve silyalı epitelde sitoplazmik boyanma



Şekil 9: SIRT1 Nükleer Boyanmaları; **A**-Adenokarsinom; SIRT1 İHK X400, Kuvvetli Boyanma**, B-** Skuamöz Hücreli Karsinom;SIRT1 İHK X400, Kuvvetli Boyanma



Şekil 10: SIRT1 Nükleer Boyanmaları; **A-**ADK, SIRT1 İHK X400, Orta Şiddette Boyanma, **B**-ADK, SIRT1 İHK X200, Zayıf-Orta Şiddette Boyanma, **C**-SHK, SIRT1 İHKX400, Tümörde Negatif Boyanma ve pozitif iç kontrol olarak plazma hücre sitoplazmalarında boyanma, **D-** SHK, SIRT1 İHK X400, Zayıf-orta şiddette boyanma,



Şekil 11: SIRT1 VE SIRT2 Boyanmaları**, A-**SHK, SIRT2 İHK X400, Kuvvetli boyanma, **B-**SHK, SIRT2 İHK X400, Orta şiddette boyanma

3.3. İSTATİSTİKSEL METOD:

Verilerin analizi konusunda; Tanımlayıcı istatistikler frekans, yüzde, ortalama, standartsapma değerleri ile sunulmuştur. Çalışmada Sırt 1-2 skorlarının hastaların özelliklerine göre oransal kıyaslamaları için X^2 (Ki-kare) analizi ve düzeltmelerinde fisher testi uygulanmıştır. Çalışmada Sırt 1-2 skorlarının hastaların ölçümlerine göre için bağımsız örneklem t testi uygulanmıştır. Sırt 1-2 uyum oranlarının Hasta ölçümlerinin farklılığının incelenmesi için bağımsız örneklem Varyans analizi kullanılmıştır. Varyans analizinde farklı olarak tespit edilen grupların belirlenmesi için Sidak testi uygulanmıştır. Sırt 1-2 uyum oranlarının hastaların özelliklerine göre oransal kıyaslamaları için X^2(Ki-kare) analizi ve düzeltmelerinde fisher testi uygulanmıştır. Progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım analizleri Kaplan-Meier yöntemi ile hesaplanmış olup klinik ve patolojik özelliklerin sağkalıma etkisi log-rank yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Çalışmada 0,05'den küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir(α=0,05). Analizler SPSS 22.0 paket programı ile yapılmıştır.

Çalışma için izlenen kılavuz

Çalışma tasarımı için STARD (Standards for Reporting Diagnostic Accuracy Studies) araştırma kılavuzu kullanılmıştır(5).

Özgünlük

Çalışmanın özgünlük açısından değerlendirilmesi için "Turnitin" intihal analiz programıkullanılmış olup "Gereç ve Yöntem" ve "Kaynaklar" bölümü hariç %12 benzerlik oranı tespit edilmiştir (Bkz. EK-3).

4. BULGULAR

4.1. HASTALARIN DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ VE TÜMÖR KARAKTERİSTİKLERİ

Araştırmaya alınan 186 hastanın 154'ünün (%82,8) erkek ve 32'sinin (%17,2) kadın olduğu tespit edilmiştir. Hastaların ortalama yaşları 67,89±8,30 olup yaşları 46 ile 80 arasında değişmektedir.

Hastaların histolojik alt tiplerine bakıldığında, 87'si (%46,8) ile ADK, 89'u (%47,8) SCC ve 10'u (%5,4) Adenoskuamöz tanılarını almıştır.

Hastaların histolojik olarak diferansiasyon düzeylerine bakacak olursak baskın olan paterne göre sınıflandırdığımızda ADK'ların 44(%23,7)'üasiner, 25(%13,4)'i solid, 10(%5,4)'u lepidik, 5(2,7%)'i papiller, 2(%1,1)'si mikropapiller olarak tespit edilmiş ve 1 vakada tespit artefaktı nedeniyle alt tip tayini yapılamamıştır.

SHK'ların 42(49,43%)'si non-keratinize, 44(47,19%)'ü keratinize ve 3(3,37%)'ü bazaloid tiptedir. Adenoskuamöz karsinomlarda ise 3(%30)'ü az diferansiye olup 7(%70) vaka orta derecede diferansiye bulunmuştur.

Tümörlerin 58'i(%31,2) sağ üst lob, 50'si(%26,9) sol üst lob, 31'i(%16,7) sağ alt lob, 20'si(%10,80) sol alt lob, 9'u (%4,8) sol akciğer, 7'si (%3,8) sağ akciğer, 6'sı (%3,2) sağ orta lob,1'i(%0,50) alt lob, 1'i (%0,50) üst lob, 1'i(%0,50) sağ lob, 1'i (%0,50) sol alt ve üst lob birleşimi ve 1 (%0,50) vakada sol üst ve alt lob birleşiminde lokalizedir.

Hastaların cerrahi işlem yöntemine baktığımızda 148'i(%79,6) lobektomi, 28'i(%15,1) pnömonektomi,6'sı(%3,2) bilobektomi, 2'si(%1,1) segmentektomi ve 2'si(%1,1) wedge rezeksiyon olduğu görülmüştür.

Çalışmada hastaların 72'sinde(%38,7) vasküler invazyon, 43'ünde (%23,1) nöral invazyon, 45'inde(%24,2) plevra invazyonu, 53'ünde (%28,5) bronş tutulumu ve 13'ünde(%7) in-situ karsinom olduğu görülmüştür.

Hastaların 43'ü(%23,1) T1A, 32'si(%17,2) T1B, 62'si(%33,3) T2A, 22'si(%11,8) T2B, 27'si(%14,5) T3 düzeyinde olup tümör çaplarının 3,64±2,14 cm arasında değişmekte olduğu görülmüştür. Hastaların 131'inin(%70,4) N0, 34'ünün(%18,3) N1 ve 21'inin(%11,3) N2 olduğu görülmüştür. Evreye bakıldığında,

60'ı(%32,3) evre 1A, 35'i(%18,8) evre 1B, 42'si(%22,6)evre 2A, 26'sı(%14)evre 2B, 21'i(%11,3) evre 3A, 2'si(%1,1) evre 3B saptanmıştır.

Tablo 6: Hastaların Özellikleri

Hasta Özellikleri		**Sayı**	**%**
Cinsiyet	Erkek	154	82,8%
	Kadın	32	17,2%
Tanı	ADK	87	46,8%
	Adenoskuamöz	10	5,4%
	SHK	89	47,8%
Grade **ADK**	Asiner	44	23,7%
	Solid	25	13,4%
	Lepidik	10	5,4%
	Papiller	5	2,7%
	Mikropapiller	2	1,1%
	Tespit artefaktı nedeniyle değerlendirilemedi	1	0,05%
SHK	Keratinize	44	49,43%
	Non-keratinize	42	47,19%
	Bazaloid	3	3,37%
Adenoskuamöz	Orta	7	70%
	Az	3	30%
Lokalizasyon	Sağ Üst Lob	58	31,20%
	Sol Üst Lob	50	26,90%
	Sağ Alt Lob	31	16,70%
	Sol Alt Lob	20	10,80%
	Sol Akciğer	9	4,80%
	Sağ Akciğer	7	3,80%
	Sağ Orta Lob	6	3,20%
	Alt Lob	1	0,50%
	Sağ Lob	1	0,50%
	Sol Alt ve Üst Lob	1	0,50%
	Sol Üst ve Alt	1	0,50%
	Üst Lob	1	0,50%
Cerrahi	Bilobektomi	6	3,2%
	Lobektomi	148	79,6%
	Pnömonektomi	28	15,1%
	Sementektomi	2	1,1%
	Wedge	2	1,1%

Tablo 7: Hastaların Klinik Özellikleri

Hastaların Klinik Özellikleri		Sayı	%
Vasküler invazyon	Yok	114	61,3%
	Var	72	38,7%
Perinöral invazyon	Yok	143	76,9%
	Var	43	23,1%
Bronş Tutulumu	Yok	133	71,5%
	Var	53	28,5%
Plevra invazyonu	Yok	141	75,8%
	Var	45	24,2%
İnsitu karsinom	Yok	173	93,0%
	Var	13	7,0%
Metastaz / Nüks	Yok	127	68,3%
	Var	59	31,7%
T	T1A	43	23,1%
	T1B	32	17,2%
	T2A	62	33,3%
	T2B	22	11,8%
	T3	27	14,5%
N	N0	131	70,4%
	N1	34	18,3%
	N2	21	11,3%
Evre	1A	60	32,3%
	1B	35	18,8%
	2A	42	22,6%
	2B	26	14,0%
	3A	21	11,3%
	3B	2	1,1%
Neoadjuvan Tedavi	Yok	174	93,5%
	Var	12	6,5%
Sağkalım	Ölü	79	42,5%
	Sağ	107	57,5%

Hastaların metastaz durumuna bakıldığında 59'unda(%31,7) sonraki klinik takiplerinde metastaz veya nüks saptanmıştır. Yerleşim yeri olarak 24'ü(%40,6) akciğere, 13'ü(%22,03) beyne metastaz yapmıştır. Diğer nadir tutulan yerler sırasıyla; mediastinel lenf nodları, karaciğer, sürrenal, plevra, pankreas, aksilla, göğüs duvarı, pankreas, paraaortik lenf nodu ve cilt yerleşimlidir.

Hastaların 12'si(%6,5) neoadjuvan tedavi almıştır.

Çalışma hastalarının 41'inde(%22,04) EGFR, ALK, ROS1 ve BRAF mutasyonlarından birine yada birkaçına bakılmıştır.7(%17,07) hastada EGFR, 2(%4,87) hastada ALK mutasyonu mevcuttur. EGFR mutasyonu saptanan hastaların 6'sı ADK, 1'i adenoskuamöz karsinom tanısı almış olup hepsiSIRT1 ve SIRT2 low ekspresyon göstermiştir. ALK mutasyonlu hastaların ikiside ADK tanılı olup SIRT1 low ekspresyon, SIRT2 high ekspresyon gösteren vakalardır. Mutasyon analizi yapılan hasta sayısı az olduğundan istatiksel değerlendirme yapılmamıştır.

Hastaların genel sağkalım süresi tanı tarihi ile ölüm veya son kontrol arasındaki süre olarak hesaplandı. Çalışmaya alınan 186 hastanın medyan genel sağkalım süresi70 aydı.

Çalışma hastalarında hastalıksız sağkalım süresi tanı tarihi ile progresyon veya nüks veya son kontrol veya ölüm tarihi arasındaki süre olarak hesaplandı. Çalışmaya alınan 186 hastanın hastalıksız sağkalımı ortanca 44 ay %95CI (35-53) aydı.

Çalışmaya alınan hastaların son durumu incelendiğinde hastaların 107'si (%57,5) sağ, 79'u (%42,5) ise ölmüştür.

Tablo 8: Hastaların Ölçümlerinin İncelenmesi

Ölçüm	**X±s.s.**
Yaş	67,89±8,30
Tümör çapı(cm)	3,64±2,14

4.2. HASTA ÖZELLİKLERİNİN SIRT1 VE SIRT2 SKORUNA GÖRE İNCELENMESİ

SIRT1 için 34 (%18,3) hastada high (yüksek), 152 (%81,7) hastada ise low (düşük) ekspresyon düzeyleri tespit edilmiştir. SIRT2 için 43(%23,1) hastada yüksek, 143(%76,9) hastada düşük ekspresyon düzeyleri saptanmıştır.

Tablo 9: SIRT1 ve SIRT2 Ekspresyon Seviyeleri

Özellik		**Sayı**	**%**
Sırt1 Ekspresyon	High	34	18,3%
	Low	152	81,7%
Sırt2 Ekspresyon	High	43	23,1%
	Low	143	76,9%

Hastaların yaşlarına göre SIRT1 ve SIRT2 skorlarında anlamlı değişiklik yoktur (p>0,05) Hastaların yaş gruplarına göre SIRT1 ve SIRT2 skorları benzer oranlarda high ve low ekspresyon göstermektedir (p=0,35, p=0,39).

Hastaların cinsiyetlerine göre SIRT1 skorunun farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmada erkek hastaların SIRT1 skorlarının kadınlara göre daha yüksek oranlarda high ekspresyon gösterdiği görülmüştür (p=0,01). SIRT2 skorunda ise kadın ve erkeklere göre farklılık gözlemlenmemiştir(p=0,32).

Histolojik tanı tiplerine göre (ADK, SHK, Adenoskuamöz Karsinom) benzer oranlarda SIRT1 ve SIRT2, high ve low ekspresyon düzeyleri izlenmiş olup istatiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Vasküler, perinöral, plevra invazyonu ve insitu karsinom durumuna göre incelediğimizde SIRT1 ve SIRT2 skorunun benzer oranlarda high ve low ekspresyon gösterdiği görülmüş olup anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Hastaların bronş tutulumu durumuna göre SIRT1 ve SIRT2 skorunun farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. Bronş tutulumu olan hastaların SIRT1 ve SIRT2 skorlarının, bronş tutulumu olmayanlara göre daha yüksek oranlarda low ekspresyon gösterdiği bulunmuştur (p=0,03, p=0,04).

Metastaz yapan hasta grubuna baktığımızda, SIRT1 ve SIRT2 skorlarının metastaz yapmamış vakalara göre daha yüksek oranlarda low ekspresyon gösterdiği görülmüştür (p=0,01, p=0,02). Metastaz yapmış vakaların SIRT1 ve SIRT2 skorunun istatiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 30: SIRT1 ve SIRT2 Skoruna Göre Hasta Özelliklerinin İncelenmesi (1)

Hasta özellikleri		**SIRT1 EKSPRESYON**				**SIRT2 EKSPRESYON**				**PSIRT1**	**PSIRT2**
		High		Low		High		Low			
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%		
Yaş	60≤	7	20,6%	31	20,4%	10	23,3%	28	19,6%	0,41	0,27
	60>	27	79,4%	121	79,6%	33	76,7%	115	80,4%		
Cinsiyet	Erkek	31	20,1%	123	79,9%	35	22,7%	119	77,3%	0,01*	0,32
	Kadın	3	9,4%	29	90,6%	8	25,0%	24	75,0%		
Tanı	ADK	18	52,9%	69	45,4%	17	39,5%	70	49,0%	0,35	0,39
	SHK	13	38,2%	76	50,0%	21	48,8%	68	47,6%		
	Adenoskuamöz	3	8,8%	7	4,6%	5	11,6%	5	3,5%		
Vasküler invazyon	Yok	22	19,3%	92	80,7%	25	21,9%	89	78,1%	0,24	0,29
	Var	12	16,7%	60	83,3%	18	25,0%	54	75,0%		
Perinöral invazyon	Yok	28	19,6%	115	80,4%	33	23,1%	110	76,9%	0,38	0,63
	Var	6	14,0%	37	86,0%	10	23,3%	33	76,7%		
Bronş Tutulumu	Yok	29	21,8%	104	78,2%	35	26,3%	98	73,7%	0,03*	0,04*
	Var	5	9,4%	48	90,6%	8	15,1%	45	84,9%		
Plevra	Yok	26	18,4%	115	81,6%	34	24,1%	107	75,9%	0,21	0,23
	Var	8	17,8%	37	82,2%	9	20,0%	36	80,0%		
İnsitu Karsinom	Yok	31	17,9%	142	82,1%	40	23,1%	133	76,9%	0,11	0,48
	Var	3	23,1%	10	76,9%	3	23,1%	10	76,9%		
Metastaz/ Nüks	Yok	27	21,3%	100	78,7%	33	26,0%	94	74,0%	0,01*	0,02*
	Var	7	11,9%	52	88,1%	10	16,9%	49	83,1%		

*0,05 düzeyinde anlamlı ilişki

Hastaların T düzeylerine göre SIRT1 ve SIRT2 skoru benzer oranlarda high ve low ekspresyon göstermektedir (p=0,06, p=0,11).

Çalışmada N düzeylerine göre SIRT1 skorunun farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. N2 hastalarının SIRT1 skorlarının daha yüksek oranlarda low eksprese olduğu bulunmuş (p=0,04), SIRT2 skorunda ise N düzeylerine göre farklılık gözlemlenmemiştir (p=0,19).

Hastaların evrelerine göre bakacak olursak SIRT1 skorunun anlamlı farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. Evreleri 1A olan hastaların SIRT1 skorları, diğer evredeki hastalara göre daha yüksek oranlarda high ekspresyon göstermektedir (p=0,01). SIRT2 skorunda da aynı şekilde anlamlı değişikler bulunmuş, evreleri 1A ve 1B olan hastaların SIRT2 skorlarının diğer evredeki hastalara göre daha yüksek oranlarda high ekspresyon gösterdiği saptanmıştır(p=0,01).

Tablo 11: SIRT1 ve SIRT2 skoruna göre hasta özelliklerinin incelenmesi (2)

Hasta özellikleri		**SIRT1 EKSPRESYON**				**SIRT2 EKSPRESYON**				**P_{SIRT1}**	**P_{SIRT2}**
		High		**Low**		**High**		**Low**			
		Sayı	**%**	**Sayı**	**%**	**Sayı**	**%**	**Sayı**	**%**		
T	T1A	10	23,3%	33	76,7%	9	20,9%	34	79,1%	0,06	0,11
	T1B	10	31,3%	22	68,8%	10	31,3%	22	68,8%		
	T2A	6	9,7%	56	90,3%	14	22,6%	48	77,4%		
	T2B	3	13,6%	19	86,4%	4	18,2%	18	81,8%		
	T3	5	18,5%	22	81,5%	6	22,2%	21	77,8%		
N	N0	26	19,8%	105	80,2%	32	24,4%	99	75,6%	0,04*	0,19
	N1	7	20,6%	27	79,4%	7	20,6%	27	79,4%		
	N2	1	4,8%	20	95,2%	4	19,0%	17	81,0%		
Evre	1A	18	30,0%	42	70,0%	18	30,0%	42	70,0%	0,01*	0,01*
	1B	3	8,6%	32	91,4%	9	25,7%	26	74,3%		
	2A	6	14,3%	36	85,7%	7	16,7%	35	83,3%		
	2B	4	15,4%	22	84,6%	5	19,2%	21	80,8%		
	3A	1	4,8%	20	95,2%	4	19,0%	17	81,0%		
	3B	2	100,0%	0	0,0%	0	0,0%	2	100,0%		
Neoadj	Yok	33	19,1%	140	80,9%	41	23,7%	132	76,3%	0,04*	0,04*
	Var	1	8,3%	11	91,7%	1	8,3%	11	91,7%		

Neoadjuvan tedavi görmüş hastaları incelediğimizde, SIRT1 ve SIRT2 skorunun neoadjuvan tedavi almamış hastalarda daha yüksek oranlarda low ekspresyon göstermiştir (p=0,04, p=0,04).

Hastaların tümör çaplarına göre SIRT1 skorları arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Low ekspresyon gösteren vakaların tümör çapları daha büyük bulunmuştur (p=0,04). SIRT 2 skoruna göre ise anlamlı farklılık yoktur (p=0,09).

Tablo 12: Hasta Ölçümlerinin SIRT1 ve SIRT2 skoruna göre incelenmesi

Ölçüm	SIRT1 EKSPRESYON		SIRT2 EKSPRESYON		P_{SIRT1}	P_{SIRT2}
	High	Low	High	Low		
	X±s.s.	X±s.s.	X±s.s.	X±s.s.		
Yaş	68,47±8,09	67,76±8,36	67,07±7,16	68,14±8,62	0,45	0,48
Tm Çapı (Cm)	3,05±2,1	3,77±2,14	3,34±1,96	3,73±2,2	0,04*	0,09

*0,05 düzeyinde anlamlı farklılık

4.3. SAĞKALIM SÜRELERİNİN SIRT1 VE SIRT2 SKORUNA GÖRE İNCELENMESİ

Genel sağkalım sürelerine baktığımızda SIRT1 skoru yüksek olanlarda sayısal olarak daha uzun bir sağkalım saptanmasına rağmen (median 55'e karşı 51 ay) bu fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. (p=0,706). SIRT2 skoru ile sağkalım arasındaki ilişki incelendiğinde ise low ekspresyon gösteren vakalarda daha düşük sağkalım süreleri tespit edilmiştir (median 62 aya karşı 47 ay) ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,000).

ADK ve Adenoskuamöz Karsinom tanılı hastalarda SIRT1 ekspresyonlarına göre sağkalım sürelerine bakıldığında, skorları yüksek olan gruplarda sağkalım sürelerinin daha yüksek düzeylerde olduğu görülmüştür. Fakat bu fark istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır. (p=0,706, p=0,919) (Tablo-13).

SHK tanılı gruplarda SIRT1 ekspresyonlarına göre sağkalım sürelerine bakıldığında ise yüksek ekspresyon gösterenlerde sağkalım sürelerinin nümerik olarak daha kısa olduğu saptanmış fakat bu fark anlamlılık sınırına ulaşmamıştır(p=0,339). SIRT2 ekspresyonlarına göre ise sağkalım sürelerinin tüm histolojik alt gruplarda yüksek ekspresyon izlenen hastalarda sağkalım sürelerinin daha uzun olduğu görülmüştür. Bu fark ADK ve SHK grubunda istatistiksel

anlamlılık gösterirken (sırasıyla p: 0,025, 0,019), adenoskuamöz tanılı grupta anlamlı bulunmamıştır (p=0,322) (Tablo-13).

Tablo 13: SIRT 1 ve SIRT2'e göre tanılardaki genel sağkalım süresi

Tanı	SIRT1 EKSPRESYON				SIRT2 EKSPRESYON				p_{sirt1}	p_{sirt2}
	High		Low		High		Low			
	mGs %95CI		mGs %95CI		mGs %95CI		mGs %95CI			
ADK	55	46-64	46	42-50	61	54-68	45	39-51	0,706	0,025*
Adenoskuamöz	65	-/-	39	15-63	65	23-107	35	14-56	0,919	0,322
SHK	51	38-64	57	50-64	65	53-77	53	46-60	0,339	0,019*

*mGs: median genel sağkalım, %95 CI, güven aralığı

Hastalıksız sağkalım süresini inceleyecek olursak; SIRT1 ve SIRT2 skorlarıile hastalıksız sağkalım süreleri arasında istatiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tablo-14)

Hastalıksız sağkalım süresinin tanı tiplerine göre farklılık göstermediği tespit edilmiştir. ADK ve SHK vakalarında hastalıksız sağkalım süreleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,277) (Tablo-14).

Tablo14: Hastalıksız Sağkalım Süresinin İncelenmesi

Ölçüm	Kategori	Hastalıksız sağ kalım (ay)		P
		mHSK	595 CI	
Tanı	ADK	36	25-47	0,277
	SHK	45	32-58	
SIRT1 EKSPRESYON	High	45	30-60	0,973
	Low	42	31-53	
SIRT2 EKSPRESYON	High	50	24-76	0,168
	Low	38	29-47	

*mHSK, median hastalıksız sağkalım

ADK ve SHK tanılı hasta gruplarını sağkalım süresi dışında; bazı parametrelerin SIRT1 ve SIRT2 ekspresyon düzeyleri ile olan ilişkisine bakmak için

kendi içerisinde değerlendirmeyi planladık. Örneğin metastaz yapmış ADK'lerde SIRT1 veya SIRT2 ekspresyon düzeylerini göstermeyi amaçladık. Ancak vaka sayımız sınırlı olduğu için istatiksel olarak değerlendirme yapamadık.

Tablo 15: ADK, SHK ve Hastalarında SIRT1 ve SIRT2 Ekspresyon Düzeyleri

		ADK							
		SIRT1 EKSPRESYON				**SIRT2 EKSPRESYON**			
		High		**Low**		**High**		**Low**	
		Sayı	**%**	**Sayı**	**%**	**Sayı**	**%**	**Sayı**	**%**
Cinsiyet	Erkek	18	100,0%	48	69,6%	12	70,6%	54	77,1%
	Kadın	0	0,0%	21	30,4%	5	29,4%	16	22,9%
Nüks	Yok	12	66,7%	39	56,5%	10	58,8%	41	58,6%
	Var	6	33,3%	30	43,5%	7	41,2%	29	41,4%
Sağ Kalım	Ölü	8	44,4%	29	42,0%	7	41,2%	30	42,9%
	Sağ	10	55,6%	40	58,0%	10	58,8%	40	57,1%
Yaş	60 yaş altı	6	33,3%	21	30,4%	5	29,4%	22	31,4%
	60 yaş üzeri	12	66,7%	48	69,6%	12	70,6%	48	68,6%

		SHK							
		SIRT1 EKSPRESYON				**SIRT2 EKSPRESYON**			
		High		**Low**		**High**		**Low**	
		Sayı	**%**	**Sayı**	**%**	**Sayı**	**%**	**Sayı**	**%**
Cinsiyet	Erkek	10	76,9%	70	92,1%	19	90,5%	61	89,7%
	Kadın	3	23,1%	6	7,9%	2	9,5%	7	10,3%
Met/Nüks	Yok	12	92,3%	54	71,1%	18	85,7%	48	70,6%
	Var	1"	7,7%	22	28,9%	3	14,3%	20	29,4%
Sağ Kalım	Ölü	6	46,2%	33	43,4%	10	47,6%	29	42,6%
	Sağ	7	53,8%	43	56,6%	11	52,4%	39	57,4%
Yaş	60 yaş altı	1	7,7%	9	11,8%	4	19,0%	6	8,8%
	60 yaş üzeri	12	92,3%	67	88,2%	17	81,0%	62	91,2%

4.4. SIRT1 VE SIRT2 İHK'SININ BİRLİKTE KULLANIMI İLE PARAMETRELER ARASINDAKİ İLİŞKİ

Önceki çalışmalardan esinlenilerek, SIRT1 ve SIRT2'nin birlikte kullanımı ile klinikopatolojik parametreler ve sağkalım süreleri ile olan ilişkisi karşılaştırılıp prognoz açısından daha iyi bir tahmin modeli sağlamayı amaçladık. High ekspresyon gösteren vakalar**"+"** ve low ekspresyon gösteren vakaları **"-''**olarak ifade ettik.

SIRT1/SIRT2 uyum düzeyi incelendiğinde 11(%5,9) vakanın "+/+"**,** 23(%12,4) vakanın "+/-''**,** 32(%17,2)'sinin**"-/+"** ve 120(%64,5)'sinin"**-/-**''olduğu görülmüştür. İki ekspresyon arasında % 70,4 (+/+,-/- %64,5+5,9) uyum olduğu görülmüştür.

Tablo 16: SIRT1 ve SIRT2 Uyumunun İncelenmesi

SIRT1/SIRT2 uyumu	Sayı	%
+/ +	11	5,9
+/ -	23	12,4
-/+	32	17,2
-/-	120	64,5
Total	186	100,0

Çalışmada hastaların yaşlarının "+/+" olan grupta diğer gruplara göre daha yüksek düzeylerde olduğu görülmüştür(p=0,01)

Tümör çaplarının "+/ +" olan grupta diğer gruplara göre daha düşük düzeylerde olduğu görülmüştür(p=0,03)

Sağkalım sürelerinin ise "+/+" olan grupta diğer gruplara göre daha yüksek düzeylerde olduğu görülmüş ve bulgular istatiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,01).

Tablo 17: SIRT1/SIRT2 uyumuna göre ölçümlerin İncelenmesi

Ölçüm	SIRT1/SIRT2 uyumu				P
	+/ +	+/ -	-/+	-/-	
	X±s.s.	X±s.s	X±s.s	X±s.s	
Yaş	71,45±5,94	67,04±8,69	65,56±6,99	68,35±8,62	0,01*
Tm Çapı (Cm)	2,64±1,24	3,24±2,41	3,58±2,11	3,83±2,15	0,03*

Hastaların plevra invazyon oranlarının “+/ +” olan grupta diğer gruplara göre daha düşük oranlarda olduğu görülmüştür (p=0,04)

Metastaz veya nüks oranlarının “+/ +” olan grupta diğer gruplara göre daha düşük oranlarda olduğu saptanmıştır (p=0,03).

Hastaların T düzeylerinin “+/ +” olan grupta diğer gruplara göre daha yüksek oranlarda T1B olduğu görülmüştür. Ayrıca“-/+” ve “-/-’’ grubunda T2A oranın da anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür. (p=0,01)

Çalışmada N düzeyine ve sağ kalım düzeyine (sağ/ölü) göre SIRT1/SIRT2 uyum gruplarının farklı oranlarda olmadığı görülmüştür(p=0,06, p=0,07).

Tablo 18: SIRT1/SIRT2 uyumuna göre Hasta Özelliklerinin İncelenmesi

Hasta Özellik		**SIRT1/SIRT2 uyumu**								**p**
		+/ +		+/ -		-/+		-/-		
		Sayı	**%**	**Sayı**	**%**	**Sayı**	**%**	**Sayı**	**%**	
Plevra	Yok	9	81,8%	17	73,9%	25	78,1%	90	75,0%	0,04*
	Var	2	18,2%	6	26,1%	7	21,9%	30	25,0%	
Nüks	Yok	9	81,8%	18	78,3%	24	75,0%	76	63,3%	0,03*
	Var	2	18,2%	5	21,7%	8	25,0%	44	36,7%	
T	T1A	3	27,3%	7	30,4%	6	18,8%	27	22,5%	0,01*
	T1B	4	36,4%	6	26,1%	6	18,8%	16	13,3%	
	T2A	2	18,2%	4	17,4%	12	37,5%	44	36,7%	
	T2B	1	9,1%	2	8,7%	3	9,4%	16	13,3%	
	T3	1	9,1%	4	17,4%	5	15,6%	17	14,2%	
N	N0	8	72,7%	18	78,3%	24	75,0%	81	67,5%	0,06
	N1	2	18,2%	5	21,7%	5	15,6%	22	18,3%	
	N2	1	9,1%	0	0,0%	3	9,4%	17	14,2%	
Sağ Kalım	Ölü	6	54,5%	10	43,5%	13	40,6%	50	41,7%	0,07
	Sağ	5	45,5%	13	56,5%	19	59,4%	70	58,3%	

5. TARTIŞMA

Akciğer kanseri tüm dünyada kansere bağlı ölümlerin başta gelen sebeplerindendir. Dünyada ve ülkemizde en sık görülen ilk beş kanser türünden biridir (1). Çoğunlukla skuamöz hücreli karsinom (SHK) ve adenokarsinomdan (ADK) oluşan KHDAK, tüm akciğer kanseri vakalarının yaklaşık %80'ini oluşturmaktadır. KHDAK'lerin ise %50'sinden fazlasını adenokarsinomlar oluşturur (2). Erken evre kanserlerde hastaların cerrahi ile kür şansı olurken geç evrede kemoterapiler ve gen bazlı hedefe yönelik tedaviler denenmektedir (2). Moleküler biyolojinin gelişmesiyle, KHDAK'lerinde tedaviye yanıt ve prognozu belirlemede yeni biyobelirteçler ortaya çıkmaktadır. Ancak klinik pratiğe girmiş biyobelirteç sayısı oldukça azdır. Literatür gözden geçirildiğinde SIRT1(sirtuin1) ve SIRT2 (sirtuin 2)'nin bu amaçla kullanılabilecek belirteçler olabileceği düşünülmektedir (5,6).

KHDAK, farklı patogeneze sahip histolojik alt tiplerden oluşmaktadır (2). P53 deasetilasyonunun akciğer tümörü gelişiminde özellikle de SHK'da rol alabileceği savunulmuştur (177). Histolojik tipler arasında farklılığın olup olmadığına yönelik çalışmalarda ADK'da SHK'a oranla SIRT1 ekspresyon düzeyi daha yüksek saptanmıştır (5,6,178). SHK'lı hastaların ADK'lı hastalara kıyasla daha yüksek deasetile-p53 düzeylerine sahip olduğu ve p53 deasetilasyonunun SIRT1 epigenetik kontrolünün regülasyonundan kaynaklandığı gösterilmiştir (177). SIRT1'in akciğer adenokarsinomunda tümör promotörü olduğu ve β-catenin birikimi sonrasında TNF-α transkripsiyonunu aktive ederek sürekli iltihaplanma ve akciğer kanseri gelişimine yol açabildiği de bildirilmiştir (179,180). Literatürde sirtuinlerin ekspresyon seviyeleri ile histolojik tipler arasında anlamlı bir ilişkinin gösterilemediği çalışmalarda mevcuttur(178,181). Bu çalışmalarda vurgulanan tanı gruplarında özellikle ADK'larda görülen tümör heterojenitesi sorunsalıdır (181). Tümörü oluşturan paternlerin farklılığı nedeniyle protein ekspresyon düzeylerinin tüm alt tiplerde ölçülerek ve hasta grupları arasında karşılaştırılarak incelenebilmesi bu sınırlayıcılığın çözümü açısından etkili olabilir. Daha büyük boyutlarda tümörün örneklemesi ve çalışmaya dahil edilmesi bu açıdan önem kazanmaktadır. Çalışmamızda ise ADK ve SHK olguları arasında SIRT1 ekspresyon seviyeleri

açısından anlamlı fark olmasa da ADK olgularında SIRT1 ekspresyonunun daha yüksek olduğu gözlenmektedir.

Tümör boyutu, lenf nodu metastazı ve tümör evresi ile SIRT1 ilişkisi değerlendirildiğinde Noh ve Gharabaghi'nin çalışmasında SIRT1 ekspresyon düzeyi arttıkça tümör boyutu, lenf nodu metastazı ve tümör evresinin arttığı gösterilmiştir (181,182). Çalışmada SIRT1'in tümör progresyonunu artırdığı ve onkojenik yönde etkili olduğu savunulmuştur. Gong ve ark. ise yüksek SIRT1 ekspresyon düzeyinin düşük T evresi ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (5).Bizim çalışmamızda ise tümör boyutu, tümör evresi ve lenf nodu metastazı artıkça SIRT1'in ekspresyon düzeyinde azalma gözlenmiştir. SIRT1, p53, FOXO VE HIC1 gibi apoptozise dahil olan çeşitli transkripsiyon faktörlerini deasetile eder ve bu transkripsiyon faktörlerinin modülasyonu ile apopitozu indükleyebilir veya zayıflatabilir. SIRT1'in negatif düzenlenmesi onkojenik faktör olarak etki etmesine neden olabilir. Farklı bir çalışmada ise SIRT1 hücreleri, tümör nekroz faktörünün (TNFα) neden olduğu apoptoza duyarlı hale getirerek bir tümör baskılayıcı gibi de davranabilir (183-189). Bulgularımız, erken evre ve düşük sayıda lenf nodu metastazı görülen olgularda yüksek SIRT1 ekspresyon seviyesinin görülmesiyle KHDAK'da SIRT1'in potansiyel bir tümör supresör olarak etki edebildiği hipotezini desteklemektedir.

Çalışmamızda önemli bir prognostik belirteç olan bronş invazyonunun varlığı ile SIRT1 ekspresyon durumu da değerlendirilmiş ve invazyon gösteren olgularda SIRT1 ekspresyon düzeyi düşük gözlenirken invazyon olmayan olgularda SIRT1 ekspresyon düzeyi yüksek olarak saptanmıştır.

Uzak metastaz ile SIRT1 ilişkisini değerlendiren çalışmada metastaz gösteren olgularda yüksek SIRT1 ekspresyonu bildirilmiştir (5). Çalışmamızda ise metastaz olgularında düşük SIRT1 ekspresyon düzeyi saptanmış ve yüksek ekpresyonun varlığı olumlu prognostik parametre olarak tespit edilmiştir.

Sirtuinlerin ekspresyon seviyeleri ve sağkalım arasında ilişkisinin değerlendirildiği çalışmalarda Lee ve ark. ları SIRT1 ekspresyon seviyesi arttıkça sağ kalımın azaldığını bildirmişlerdir (190). Chen ve ark. tarafından daha büyük hasta grubunun değerlendirildiği bir meta-analizde farklı ülkelerden yedi uygun çalışma analiz edilmiştir (191). Çalışmaların dördünde SIRT1 ekspresyon düzeyi arttıkça sağkalımın daha düşük tespit edildiği bulunmuştur. Ancak üç çalışmada ise SIRT1

ekspresyon düzeyi ve sağkalım arasında ilişki tespit edilmemiştir (191). Alt grubun Asyalı ve Asyalı olmayanlara dayalı analizleri de yapılmış, SIRT1 ekspresyonunun Asya'daki sağkalım süresi ile ilişkili olduğu, SIRT1 ekspresyonu arttıkça sağkalımın arttığı tespit edilmiş, Asyalı olmayanlarda ise SIRT1 ekspresyon düzeyi ve sağkalım arasında ilişki görülmemiştir (191). Çalışmamızda ise SIRT1 ekspresyon seviyesi yüksek olanlarda sayısal olarak daha uzun bir sağkalım saptanmasına rağmen bu fark istatiksel anlamlılığa ulaşmamıştır (p=0,706).

Histapatolojik tanılara göre sirtuin ekspresyonu ve sağkalım sürelerinin değerlendirilmasinde ise Li ve ark. yüksek SIRT1 ekspresyon seviyelerine sahip SHK tanılı olguların düşük SIRT1 ekspresyon seviyesine sahip olgulara oranla daha kısa sağkalım süresine sahip olduğu bildirilmiştir (178). Çalışmamızda ise SHK olgularında SIRT1 ekspresyon seviyesi arttıkça sağkalımın kısaldığı gözlenmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı düzey elde edilememiştir. Ancak yüksek SIRT1 seviyesine sahip ADK tanılı olgularda ise daha yüksek sağkalım süreleri tespit edilmiştir. Histopatolojik tanı tiplerine göre sağkalım analizi bulgularımız, SHK olgularında ADK olgularına oranla daha çok p53 deasetilasyonunun ve SIRT1'in epigenetik düzenlenmesinin olduğu görüşünü desteklemektedir(177).

SIRT2'nin kanserdeki rolü incelendiğinde SIRT1'e benzer şekilde tümör tipine bağlı olarak tümör destekleyici yada baskılayıcı olarak ikili rol oynayabildiği bildirilmiştir. Literatürde hem tümör hücre döngüsünü hem de tümör mikroortamını düzenleyebildiği saptanmış, baskılanmış SIRT2 düzeylerinde tümör insidansında artış olduğu görülmüş ve SIRT2' nin tümör baskılayıcı rol oynadığı düşünülmüştür (192). Ying ve ark. akciğer kanserinde SIRT2 seviyelerinin önemli ölçüde azaldığını ve SIRT2'nin bilinmeyen mekanizma ile hücresel otofaji aktivitesini artırdığını ortaya çıkarmıştır (193). Farklı SIRT2 inhibitörleri ile tedavinin apoptoza neden olduğu veya KHDAK'nın etopozit kemosensitivitesini artırdığı şeklinde ki yayınlarda akciğer kanserindeki çelişkili rolünü vurgulamaktadır (6).

Literatürde SIRT2 akciğer kanserinde daha çok hücresel ve hayvan deneyleri üzerinde çalışılmış olup KHDAK oluşumu ve gelişimi üzerine nadir çalışmalar mevcuttur. Bunlardan biri Cha-Xia Gao ve ark.nın metastatik olmayan KHDAK hastalarında SIRT2'nin protein ekspresyonu ve prognostik değerini incelediği çalışmadır. Çalışmada SIRT2'inin TNM evresi ve histolojik tip gibi klinikopatolojik

parametreler ile ilişkisi bulunamamış, ancak yüksek SIRT2 ekspresyon düzeylerinde sağkalım süresinin azaldığı tespit edilmiştir (192). SIRT2'nin prognoza olan etkisini sadece sağkalım verileri üzerinden tahmin etmeye çalışmışlar ve SIRT2'nin KHDAK'de tümör promotörü olabileceğini savunmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise TNM'e göre erken evre tümörler yanısıra bronş inazyonu ve metastaz içermeyen olgularda yüksek SIRT2 ekspresyon seviyesi tespit edilmiştir, bulgularımız SIRT2'nin tümör baskılayacağı olabileceği görüşünü desteklemektedir. Yakın zamanda yapılmış çalışmalar tümöre göre değişen SIRT2 aktivitesindeki değişikliklerin yanında SIRT2 ve substratlarının ekspresyon seviyeleri arasında da düzenleyici bir ilişkinin olduğunu vurgulamışlardır (194,195). Li ve ark. tarafından yapılan çalışmada, KHDAK örneklerinde normal dokuya kıyasla önemli ölçüde daha düşük SIRT2 ve daha yüksek Skp2 seviyeleri saptanmış, düşük SIRT2 düzeyine sahip KHDAK hastalarının genel sağkalımlarının önemli ölçüde daha kısa olduğu görülmüştür (194). Dikkat çekici başka bir çalışmada SIRT2/Skp2/p27'nin KHDAK hücre büyümesini kontrol ettiğini, SIRT2'nin tümör baskılayıcı, Skp2'nin ise onkogen gibi davrandığını öne sürmüşlerdir (195). Çalışmamızda da düşük SIRT2 ekspresyon düzeylerinde genel sağkalımın önemli ölçüde daha kısa olduğunu bulduk (median 62 aya karşı 47 ay, p=0,000).

SIRT2'nin tanı gruplarında sağkalım seviyeleri ile olan ilişkisini incelediğimizde yüksek ekspresyon izlenen olgularda sağkalım sürelerinin daha yüksek düzeylerde olduğunu gördük. Bu fark ADK ve SHK tanılı gruplarda istatiksel olarak anlamlılık gösterirken adenoskuamöz karsinom tanılı hasta gruplarında anlamlı bulunmamıştır (P=0,322).Bizim çalışmamız da ise literatüre oranla daha fazla sayıda adenoskuamöz karsinom tanılı hasta mevcut olmasına rağmen sınırlı hasta grubu nedeniyle istatiksel anlamlılığı yakalayamadığımızı düşünmekteyiz. Çok merkezli geniş hasta serilerinde çalışmaların tekrarlanması gerekmektedir.

SIRT1 ve SIRT2'nin eşzamanlı ekspresyonunun prognostik değerini araştıran ilk çalışma, Grbesa ve ark. tarafından yapılmıştır (6). KHDAK olguları İHK, RT-PCR (gerçek zamanlı PCR), hücre kültürü gibi çeşitli yöntemlerle analiz edilmiştir. Yüksek SIRT1 ve SIRT2 protein seviyelerine sahip hastalar da daha kısa hastalıksız sağkalım gösterirken genel sağkalımda SIRT1 veya SIRT2 arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. siRNA yoluyla SIRT1 ve/veya SIRT2 inhibisyonlarının KHDAK'da

hücre büyümesini engellediğini, SIRT1 ve SIRT2'nin akciğer kanserinde protümörojenik bir role sahip olduğunu, hücre çoğalmasını teşvik ettiğini savunmuşlardır (6).

Akciğer kanserinde tüm sirtuinlerin klinik öneminin ve potansiyel moleküler mekanizmalarının araştırıldığı kapsamlı bir diğer meta-analiz Gong ve ark.ları tarafından yapılmıştır (5). Çalışmada yüksek SIRT1 ve SIRT2 seviyesine sahip hastaların, en az bir sirtuin seviyesi düşük olan hastalara göre önemli ölçüde daha kısa hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım süresi gösterdiği saptanmıştır (6). Çalışmamızda SIRT1 ve SIRT2 kombinasyonları oluşturarak birlikte uyumunu incelediğimizde her iki belirteç için yüksek ekspresyon gösteren vakalarda diğer gruplara oranla daha küçük tümör boyutu, düşük T evresi ve daha az oranda progresyon/nüks oranları gösterdiği sağkalım sürelerinin ise SIRT1+/SIRT2+olan grupta diğer gruplara göre daha yüksek düzeylerde olduğunu saptadık ve bulguların istatiksel olarak anlamlı olduğunu gördük (p=0,01). Literatürde SIRT1 ve SIRT2 protein düzeylerinin kombine değerlendirildiği ve hastalıksız sağkalım ölçütünün kullanıldığı çalışma sayısı çok azdır, bu açıdan çalışmamız literatüre katkı sağlamakta ve sirtuinlerin etki mekanizmasının farklılığına örnek teşkil etmektedir. Literatür ile uyumlu olarak her ikisinin birlikte kullanımının daha anlamlı prognostik belirteç olduğunu saptadık, ancak literatür bulgularının aksine yüksek ekspresyon gösteren olguların daha iyi prognoz gösterdiğini bulduk.

Özetleyecek olursak, yaptığımız çalışmada yüksek SIRT1 ve SIRT2 ekspresyon seviyeleri KHDAK'de olumlu prognostik bir belirteç olarak kullanılabilir. Literatürde SIRT1 ve SIRT2'nin birlikte değerlendirildiği az sayıda çalışma mevcut olup çalışmamız SIRT1 ve SIRT2 ile KHDAK hastalarının klinik değerleri arasındaki korelasyonu ölçen ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Ancak analizlerimizde sınırlamalar olduğu unutulmamalıdır. İlk olarak, SIRT1 ve SIRT2 ekspresyonunun ifadesi seçilen çalışmalar arasında değişmektedir, bu da çalışmamızın güvenilirliğini etkileyebilir. Örneklem boyutunun yeterli olup olmadığı sorusu tartışılması gereken konulardır. ADK ve SHK alt gruplarında analizlerin yapılamamış olması, diferansiasyon derecelerine göre ekspresyon seviyelerinin bilinmemesi eksiklerimiz arasındadır. Hasta bilgilerinin toplandığı aşamada klinik bilgi ve takibi yetersiz hastaların çalışma dışı bırakılmış olması da çalışmamızın

etkinliğini azaltmaktadır. BHK vakasının çalışma grubumuz içinde olmaması da limitasyonlarımızdan biridir, bu nedenle BHK vakalarında ekspresyon paterni bilinmemektedir. Ayrıca çalışmamızda sadece İHK tekniği kullanılmıştır ve retrospektif olarak mevcut doku örnekleri parafin bloklardan sağlanmıştır. Yukarıda incelediğimiz birçok çalışmada ise birden fazla yöntemin kullanılmış olduğunu görmekteyiz. Bu nedenle elde ettiğimiz verileri diğer metotlarla doğrulama şansı sağlayamadık.

6. SONUÇLAR

Çalışmada elde ettiğimiz sonuç ve öneriler şunlardır:

1- Çalışmamıza dahil ettiğimiz 186 olgunun ortalama yaşı 67,89±8,30 olup erkek/kadın oranı yaklaşık 4,8'dir.

2- Histolojik tiplere baktığımızda skuamöz hücreli karsinom vaka sayımız adenokarsinoma oranla fazla olup yalnızca 10 vaka adenoskuamöz karsinom tanısı almıştır.

3- Erkek hastalarda SIRT1 ekspresyon seviyeleri kadın hastalara göre daha yüksek düzeydedir. SIRT2 ekspresyonu ile kadın ve erkek hastalarda istatiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır.

4- Tümörün histolojik alt tipine göre SIRT1 ve SIRT2 ekspresyon seviyelerinde istatiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır.

5- SIRT1 ve SIRT2 ekspresyon seviyeleri ile vasküler/perinöral invazyon ve plevra invazyonu arasında istatiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır.

6- Bronş tutulumu olan hastalarda SIRT1 ve SIRT2 ekspresyon seviyeleri daha düşük bulunmuştur.

7- Tümör boyutu arttıkça SIRT1 ekspresyon seviyesinde azalma görülmüştür. SIRT2 ekspresyonu ile tümör çapı arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

8- Lenf nodu tutulumuna göre N evresini incelediğimizde, N2 olan hastalarda daha düşük SIRT1 ekspresyonu saptanmasına rağmen SIRT2 ile N düzeyleri arasında istatiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir.

9- Erken evre olgularda SIRT1 ve SIRT2 ekspresyonu daha yüksek seviyelerde tespit edilmiştir.

10- Nükseden hasta grubunda SIRT1 ve SIRT2 ekspresyon düzeyleri nüks etmeyen hastalara oranla daha düşük düzeylerdedir ve istatiksel olarak anlamlıdır.

11- Yüksek SIRT1 ekspresyon seviyelerinde daha uzun sağkalım elde edilmiş ancak istatiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

12- Yüksek SIRT2 ekspresyonu gösteren olguların daha uzun sağkalım sürelerine sahip oldukları tespit edilmiştir.

13- SHKolgularında yüksek SIRT1 seviyelerindedaha kısa genel sağkalım saptanmış, ADK ve adenoskuamöz karsinom tanılı hastalarda yüksek SIRT1 seviyelerinde daha uzun sağkalım tespit edilmiştir.
14- SIRT2 yüksek ekspresyon seviyelerine sahip ADK ve SHK olgularında daha uzun sağkalım saptanmış ve istatiksel açıdan anlamlı bulunmuştur.
15- Yüksek SIRT1 ve SIRT2 seviyelerinde daha uzun hastalıksız sağkalım olmasına rağmen bu farklılık istatiksel açıdan anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır.
16- Tanı tiplerine göre hastalıksız sağkalıma baktığımızda SIRT1 ve SIRT2 ile histolojik alt tipler arasında istatiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır.
17- SIRT1/SIRT2 uyumu ile klinikopatolojik parametreleri karşılaştırdığımızda SIRT1+/SIRT2+ olan hasta grubunda, herhangi biri "-" olan gruplara kıyasla hastaların yaşlarının daha ileri, tümör çapının daha küçük ve sağkalım sürelerinin daha uzun olduğunu gördük.
18- SIRT1+/SIRT2+ olan grupta diğer gruplara kıyasla progresyon gösteren ve plevra invazyonu gösteren hastalar daha az orandaydı.
19- Elde edilen bu veriler neticesinde sirtuinler (SIRT) arasından SIRT1 ve SIRT2 Küçük Hücreli Dışı Akciğer Adenokarsinomları'nda olumlu prognostik biyobelirteçler olarak kullanılabilir, ayrıca SIRT1 ve SIRT2'nin birlikte kullanımı prognoz tahmini açısından daha iyi bir model teşkil etmektedir.
20- Sonuçlarımızın daha geniş hasta sayısının olduğu ve klinik verilerin daha iyi toplanabildiği, iyi tasarlanmış prospektif çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir. İmmünhistokimyasal yöntemi desteleyecek ve doğrulayacak ek yöntemlerin kullanılması da ekspresyon değerlendirmesi açısından fayda sağlayabilir.

7. KAYNAKLAR

1. GLOBOCAN 2020 Database. https://gco.iarc.fr/
2. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JHM, Beasley MB, et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors. Journal of Thoracic Oncology.10(9):1243-60.
3. Kadota K, Yeh YC, Sima CS, Rusch VW, Moreira AL, Adusumilli PS, et al. The cribriform pattern identifies a subset of acinar predominant tumors with poor prognosis in patients with stage I lung adenocarcinoma: a conceptual proposal to classify cribriform predominant tumors as a distinct histologic subtype. Mod Pathol. 2014;27(5):690-700.
4. National Comprehensive Cancer Network.Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN guidelines): Non-small cell lung cancer,version 6.2020. Accessed July 1,2020 (www.nccn.org).
5. Gong J, Wang H, Lou W, Wang G, Tao H, Wen H, et al. Associations of sirtuins with clinicopathological parameters and prognosis in non-small cell lung cancer. Cancer Manag Res. (2018) 10:3341–56.
6. Grbesa, I., Pajares, M. J., Martinez-Terroba, E., Agorreta, J., Mikecin, A. M., Larrayoz, M., et al. (2015). Expression of sirtuin 1 and 2 is associated with poor prognosis in non-small cell lung cancer patients. PLoS One 10: e0124670.
7. Costa-Machado, L.F.; Fernandez-Marcos, P.J. The sirtuin family in cancer. *Cell Cycle* 2019, *18*, 2164–2196.
8. Goksel T, Akkoclu A. Pattern of lung cancer in Turkey, 1994-1998. Turkish Thoracic Society, Lung and Pleural Malignancies Study Group. Respiration. 2002; 69:207-10.
9. Çelik İ, Engin K, Özyardımcı N. Akciğer kanserinde epidemiyoloji. Akciğer Kanserleri Tanı ve Tedavide Temel ilkeler ve Uygulamalar Avrupa Tıp Kitapçılık Ltd Şti Yayınları, İstanbul. 2001:50-6.
10. Doll R. Smoking and Carcinoma of the Lung. British Medical Journal. 1950.
11. Droeser RA, Hirt C, Viehl CT, Frey DM, Nebiker C, Huber X, et al. Clinical impact of programmed cell death ligand 1 expression in colorectal cancer. Eur J Cancer. 2013;49(9):2233-42.
12. KB. Değerlendirilmesi 1993-1994. TC. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Daire Başkanlığı Yayınları. 1997.
13. Lee PN, Forey BA, Coombs KJ. Systematic review with meta-analysis of the epidemiological evidence in the 1900s relating smoking to lung cancer. BMC cancer. 2012;12(1):385.
14. Pesch B, Kendzia B, Gustavsson P, Jöckel KH, Johnen G, Pohlabeln H, et al. Cigarette smoking and lung cancer—relative risk estimates for the major histological types from a pooled analysis of case–control studies. International journal of cancer. 2012;131(5):1210-9.
15. Air pollution and cancer: risk assessment methodology and epidemiological evidence. Report of a task group. Environ Health Perspect. 1978; 22:1-12.

16. Boffetta P. Human cancer from environmental pollutants: the epidemiological evidence. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2006;608(2):157-62.

17. Vineis P, Airoldi L, Veglia F, Olgiati L, Pastorelli R, Autrup H, et al. Environmental tobacco smoke and risk of respiratory cancer and chronic obstructive pulmonary disease in former smokers and never smokers in the EPIC prospective study. Bmj. 2005;330(7486):277.

18. Asami S, Hirano T, Yamaguchi R, Tomioka Y, Itoh H, Kasai H. Increase of a type of oxidative DNA damage, 8-hydroxyguanine, and its repair activity in human leukocytes by cigarette smoking. Cancer res. 1996;56(11):2546-9.

19. Janerich DT, Thompson WD, Varela LR, Greenwald P, Chorost S, Tucci C, et al. Lung cancer and exposure to tobacco smoke in the household. N Engl J Med. 1990;323(10):632-6.

20. Zheng M. Classification and Pathology of Lung Cancer. Surg Oncol Clin N Am. 2016;25(3):447-68.

21. Freudenheim JL, Ritz J, Smith-Warner SA, Albanes D, Bandera EV, Van Den Brandt PA, et al. Alcohol consumption and risk of lung cancer: a pooled analysis of cohort studies. The American journal of clinical nutrition. 2005;82(3):657-67.

22. Raaschou-Nielsen O, Beelen R, Wang M, Hoek G, Andersen ZJ, Hoffmann B, et al. Particulate matter air pollution components and risk for lung cancer. Environ Int. 2016;87:66-73.

23. Garshick E, Schenker MB, Munoz A, Segal M, Smith TJ, Woskie SR, et al. A retrospective cohort study of lung cancer and diesel exhaust exposure in railroad workers. Am Rev Respir Dis. 1988;137(4):820-5.

24. Gamble JF, Nicolich MJ, Boffetta P. Lung cancer and diesel exhaust: an updated critical review of the occupational epidemiology literature. Crit Rev Toxicol. 2012;42(7):549-98.

25. Li D, Zhang L, Zhou J, Chen H. Cigarette smoke extract exposure induces EGFR-TKI resistance in EGFR-mutated NSCLC via mediating Src activation and EMT. Lung Cancer. 2016;93:35-42.

26. Richardson DB, Cardis E, Daniels RD, Gillies M, O'Hagan JA, Hamra GB, et al. Risk of cancer from occupational exposure to ionising radiation: 85 retrospective cohort study of workers in France, the United Kingdom, and the United States (INWORKS). BMJ. 2015;351:h5359.

27. Land CE, Shimosato Y, Saccomanno G, Tokuoka S, Auerbach O, Tateishi R, et al. Radiation-associated lung cancer: a comparison of the histology of lung cancers in uranium miners and survivors of the atomic bombings of Hiroshima and Nagasaki. Radiat Res. 1993;134(2):234-43.

28. Neugut AI, Murray T, Santos J, Amols H, Hayes MK, Flannery JT, et al. Increased risk of lung cancer after breast cancer radiation therapy in cigarette smokers. Cancer. 1994;73(6):1615-20.

29. Van der Bij S, Vermeulen RC, Portengen L, Moons KG, Koffijberg H. Expected number of asbestos-related lung cancers in the Netherlands in the next two decades: a comparison of methods. Occup Environ Med. 2016.

30. Whitwell F, Newhouse ML, Bennett DR. A study of the histological cell types of lung cancer in workers suffering from asbestosis in the United Kingdom. Br J Ind Med. 1974;31(4):298-303.

31. Matakidou A, Eisen T, Houlston RS. Systematic review of the relationship between family history and lung cancer risk. Br J Cancer. 2005;93(7):825-33.

32. David E Midthun MD, James R Jett MD, Sadhna R Vora MD. Overview of the risk factors, pathology. and clinical manifestations of lung cancer. www.uptodate.com Feb 23, 2016.

33. Riely GJ, Kris MG, Rosenbaum D, Marks J, Li A, Chitale DA, et al. Frequency and distinctive spectrum of KRAS mutations in never smokers with lung adenocarcinoma. Clin Cancer Res. 2008;14(18):5731-4.

34. Eren S, Karaman A, Okur A. The superior vena cava sydrome caused by malignant disease. Imaging with multi-detector row CT, Eur J Radiol 2006;59: 93.

35. Shepherd FA, Domerg C, Hainaut P, Jänne PA, Pignon J-P, Graziano S, et al. Pooled analysis of the prognostic and predictive effects of KRAS mutation status and KRAS mutation subtype in early-stage resected non–small-cell lung cancer in four trials of adjuvant chemotherapy. J Clin Oncol. 2013;31(17):2173.

36. Paul Stark MD, James R Jett MD, Sadhna R Vora MD. Imaging of non-small cell lung cancer. www.uptodate.com 2016.

37. Rivera MP, Mehta AC, Wahidi MM. Establishing the diagnosis of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. Chest. 2013;143(5 Suppl):e142S-e65S.

38. Ansari J.,Yun JW, Kompelli AR, Moufarrej YE, Alexander JS, Herrera GA, et al. The liquid biopsy in lung cancer. Genes & Cancer. 2016;7(11-12):355-67.

39. Leora Horn CML, David H. Johnson. Neoplasm of the Lung. Harrison's Principles of Internal Medicine 19th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2015. p. 506-22.

40. Karl W Thomas MD, James R Jett MD, Geraldine Finlay MD. Selection of modality for diagnosis and staging of patients with suspected non-small cell lung cancer. www.uptodate.com. Apr 2016.

41. Gómez-Caro A, Garcia S, Reguart N, et al. Incidence of occult mediastinal node involvement in cN0 non-small-cell lung cancer patients after negative uptake of positron emission tomography/computer tomography scan. Eur J Cardiothorac Surg 2010; 37: 1168.

42. Husain AN. Robbins Temel Patoloji, Akciğer Tümörleri. 9th ed. İstanbul: Elsevier; 2014.

43. Beasley MB, Brambilla E, Travis WD. The 2004 World Health Organization classification of lung tumors. Seminars in Roentgenology. 2005;40(2):90-7.

44. 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. J Thorac Oncol. 2011;6(2):244-85.

45. Cotran RS, Kumar V, Fausto NR, Nelso Fausto R, Stanley L, Abbas AKR. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. St Louis, Mo: Elsevier Saunders. 2005:542

46. Shaw AT, Yeap BY, Mino-Kenudson M, Digumarthy SR, Costa DB, Heist RS, et al. Clinical features and outcome of patients with non–small-cell lung cancer who harbor EML4- ALK. J Cancer Res Clin Oncol. 2009;27(26):4247.

47. Churg A, Johnston WH, Stulbarg M. Small cell squamous and mixed small cell squamous--small cell anaplastic carcinomas of the lung. Am J Surg Pathol. 1980;4(3):255-63.

48. 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.

49. Barletta JA, Yeap BY, Chirieac LR. Prognostic significance of grading in lung adenocarcinoma. Cancer: Interdisciplinary Int J Am Cancer Soc. 2010;116(3):659-69.

50. Müller-Hermelink HK, Engel P, Kuo T, Ströbel P, Marx A, Harris N, et al. Pathology & genetics, tumours of the lung, pleura, thymus and heart. World Health Organization Classification of Tumors Travis WD, Brambilla E, Müller-Hermelink HK, Harris CC, Eds IARC Press, Lyon. 2004:146-7.

51. Yeh Y-C, Kadota K, Nitadori J-i, Sima CS, Rizk NP, Jones DR, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification predicts occult lymph node metastasis in clinically mediastinal nodenegative lung adenocarcinoma. Eur J Cardio-Thorac Surg. 2015;49(1):e9-e15.

52. Schild ES, Suresh S, Ramalingam MD. Management of stage III non-small cell lung cancer. Last literature review version 18.3: Eylül 2010 .61.

53. Okudela K, Woo T, Mitsui H, Yazawa T, Shimoyamada H, Tajiri M, et al. Proposal of an improved histological sub-typing system for lung adenocarcinoma–significant prognostic values for stage I disease. Int J Clin Exp Pathol. 2010;3(4):348.

54. Silver SA, Askin FB. True papillary carcinoma of the lung: a distinct clinicopathologic entity. Am J Surg Pathol. 1997;21(1):43-51.

55. Warth A, Muley T, Kossakowski C, Stenzinger A, Schirmacher P, Dienemann H, et al. Prognostic impact and clinicopathological correlations of the cribriform pattern in pulmonary adenocarcinoma. J Thorac Oncol. 2015;10(4):638- 44.

56. Guo M, Tomoshige K, Meister M, Muley T, Fukazawa T, Tsuchiya T, et al. Gene signature driving invasive mucinous adenocarcinoma of the lung. EMBO Mol Med. 2017;9(4):462-81

57. Wang Y, Broderick P, Matakidou A, Eisen T, Houlston RS. Role of 5p15.33 (TERT-CLPTM1L), 6p21.33 and 15q25.1 (CHRNA5-CHRNA3) variation and lung cancer risk in never-smokers. Carcinogenesis. 2010;31(2):234-8.

58. Fletcher C. Diagnostic Histopathology of Tumors, 5. Edt. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2019.

59. Filosso PL, Ruffini E, Asioli S, Giobbe R, Macri L, Bruna MC, et al. Adenosquamous lung carcinomas: a histologic subtype with poor prognosis. Lung Cancer. 2011;74(1):25-9.

60. Horn L, Pao W, Johnson DH. Harrison's Principles of Internal Medicine. 18 ed. Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Jameson JL, editors: McGraw-Hill; 2011.

61. Tang Y, He Z, Zhu Q, Qiao G. The 2011 IASLC/ATS/ERS pulmonary adenocarcinoma classification: a landmark in personalized medicine for lung cancer management. Journal of thoracic disease. 2014;6(Suppl 5):S589-S96.

62. Argon A, Nart D, Veral A. The Value of Cytokeratin 5/6, p63 and Thyroid Transcription Factor-1 in Adenocarcinoma, Squamous Cell Carcinoma and NonSmall-Cell Lung Cancer of the Lung. Turk patoloji dergisi. 2015;31(2):81-8.

63. Rossi G, Pelosi G, Graziano P, Barbareschi M, Papotti M. A reevaluation of the clinical significance of histological subtyping of non--small-cell lung carcinoma: diagnostic algorithms in the era of personalized treatments. International journal of surgical pathology. 2009;17(3):206-18.

64. Mukhopadhyay S, Katzenstein AL. Subclassification of non-small cell lung carcinomas lacking morphologic differentiation on biopsy specimens: Utility of an immunohistochemical panel containing TTF-1, napsin A, p63, and CK5/6. The American journal of surgical pathology. 2011;35(1):15-25.

65. Rekhtman N, Ang DC, Sima CS, Travis WD, Moreira AL. Immunohistochemical algorithm for differentiation of lung adenocarcinoma and 85 squamous cell carcinoma based on large series of whole-tissue sections with validation in small specimens. Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc. 2011;24(10): 1348-59.

66. 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. J Thorac Oncol. 2016;11(1):39-51.

67. Koksal D, Aksu F. The review of proposals in the forthcoming 8th TNM classification of lung cancer. Eurasian Journal of Pulmonology. 2016.

68. Detterbeck FC, Boffa DJ, Kim AW, Tanoue LT. The Eighth Edition Lung Cancer Stage Classification. Chest. 2017;151(1):193-203.

69. Ashworth A, Rodrigues G, Boldt G, Palma D. Is there an oligometastatic state in non-small cell lung cancer? A systematic review of the literature. Lung Cancer. 2013;82(2):197-203.

70. Dias M, Antunes A, Campainha S, Conde S, Barroso A. Prognostic impact of M descriptors of the 8th edition of TNM classification of lung cancer. Journal of thoracic disease. 2017;9(3):685-91.

71. Griffioen GH, Toguri D, Dahele M, Warner A, de Haan PF, Rodrigues GB, et al. Radical treatment of synchronous oligometastatic non-small cell lung carcinoma (NSCLC): patient outcomes and prognostic factors. Lung Cancer. 2013;82(1):95-102.

72. Bolliger CT, Sutedja TG, Strausz J, Freitag L. Therapeutic bronchoscopy with immediate effect: laser, electrocautery, argon plasma coagulation and stents. Eur Respir J 2006; 27: 1258-1271.60

73. Mathur PN, Edell E, Sutedja T, Vergnon JM. Treatment of early stage non-small cell lung cancer. Chest 2003;123: 176-81.

74. Rowell NP, Williams CJ. Radical radiotherapy for stage I/II nonsmall cell lung cancer in patients not fit for or declining surgery (medically inoperable): a systematic review. Thorax 2001; 56: 628-38.

75. Cai XW, Xu LY, Wang L, et al. Comparative survival in patients with postresection recurrent versus newly diagnosed non-small-cell lung cancer treated with radiotherapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2010;76: 1100-5.

76. Pisters KM, Evans WK, Azzoli CK, et al. Cancer Care Ontario and American Society of Clinical Oncology adjuvant chemotherapy and adjuvant radiation therapy for stages I-IIIA resectable non small-cell lung cancer guideline. J Clin Oncol 2007;25: 5506-18.

77. Arriagada R, Dunant A, Pignon JP, et al. Long-term results of the international adjuvant lung cancer trial evaluating adjuvant Cisplatin- based chemotherapy in resected lung cancer. J Clin Oncol 2010;28: 35.

78. Calman L, Beaver K, Hind D, et all. Survival benefits from follow-op of patients with lung cancer: a systematıc review and meta-analysis.J Thorac Oncol 2011;6: 1993.

79. Robinson LA, Ruckdeschel JC, Wagner H, Stewens CW. Treatment of nonsmall cell lung cancer-stage IIIA: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. Chest 2007: 132: 243-265.

80. Rosell R, Gomez-Codina J, Camps C, et al. Preresectional chemotherapy in stage IIIA non-small cell lung cancer: a 7-year assessment of a randomized contralled trial.Lung Cancer 1999;26: 7-14

81. Roth JA, Atkinson EN, Fossella F, et al. Long-term follow-up of patients enrolled in a randomized trial comparing perioperative chemotherapy and surgery with surgery alone in resectable stage IIIA non-small cell lung cancer. Lung Cancer 1998;21: 1-6.

82. Initial systemic chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer Last literature review version 18.3: Eylül 2010.

83. Spiro SG, Rudd RM, Souhami RL, et al. Chemotherapy versus supportive care in advanced non-small cell lung cancer: improved survival without detriment to quality of life. Thorax 2004;59: 828-36.

84. Travis WD, Brambilla E, Riely GJ. New pathologic classification of lung cancer: relevance for clinical practice and clinical trials. J Clin Oncol. 2013;31(8):992-1001.

85. Ma BB, Hui EP, Mok TS. Population-based differences in treatment outcome following anticancer drug therapies. The lancet oncol. 2010;11(1):75-84.

86. Alamgeer M, Ganju V, Watkins DN. Novel therapeutic targets in non-small cell lung cancer. Curr Opin Pharmacol. 2013;13(3):394-401.

87. Boolell V, Alamgeer M, Watkins DN, Ganju V. The Evolution of Therapies in NonSmall Cell Lung Cancer. Cancers (Basel). 2015;7(3):1815-46.

88. Roh MS. Molecular pathology of lung cancer: current status and future directions. Tuberc Respir Dis (Seoul). 2014;77(2):49-54.

89. Leighl NB, Rekhtman N, Biermann WA, Huang J, Mino-Kenudson M, Ramalingam SS, et al. Moleculartesting for selection of patients with lung cancer for epidermal growth factor receptor and anaplastic lymphoma kinase tyrosine kinase inhibitors: American Society of Clinical Oncology endorsement of the College of American Pathologists/International Association for the study of lung cancer/association for molecular pathology guideline. J Clin Oncol. 2014;32(32):3673-9.

90. Wang F, Li H, Long J, Ye S. Clinicopathological significance of p14ARF expression in lung cancer: a meta-analysis. OncoTargets and therapy. 2017; 10:2491-9.

91. Cooper WA, Lam DC, O'Toole SA, Minna JD. Molecular biology of lung cancer. J Thorac Dis. 2013;5 Suppl 5: S479-90.

92. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. Nature. 2014;511(7511):543-50.

93. Chen Z, Fillmore CM, Hammerman PS, Kim CF, Wong KK. Non-small-cell lung cancers: a heterogeneous set of diseases. Nature reviews Cancer. 2014;14(8):535-46.

94. Comprehensive genomic characterization of squamous cell lung cancers. Nature. 2012;489(7417):519-25.

95. Kikuchi T, Carbone DP. Proteomics analysis in lung cancer: challenges and opportunities. Respirology (Carlton, Vic). 2007;12(1):22-8.

96. Giovanella L, Ceriani L, Bandera M, Beghe B, Roncari G. Evaluation of the serum markers CEA, NSE, TPS and CYFRA 21.1 in lung cancer. The International journal of biological markers. 1995;10(3):156-60.

97. Nisman B, Lafair J, Heching N, Lyass O, Baras M, Peretz T, et al. Evaluation of tissue polypeptide specific antigen, CYFRA 21-1, and carcinoembryonic antigen in nonsmall cell lung carcinoma: does the combined use of cytokeratin markers give any additional information? Cancer. 1998;82(10):1850-9.

98. Rami-Porta R, Goldstraw P. Strength and weakness of the new TNM classification for lung cancer. The European respiratory journal. 2010;36(2):237-9.

99. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, Yang CH, Chu DT, Saijo N, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. The New England journal of medicine. 2009;361(10):947-57.

100. Kumarakulasinghe NB, van Zanwijk N, Soo RA. Molecular targeted therapy in the treatment of advanced stage non-small cell lung cancer (NSCLC). Respirology. 2015;20(3):370-8. 33. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Aparicio SA, Behjati S, Biankin AV, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. Nature. 2013;500(7463):415-21.

101. Mitsudomi T, Yatabe Y. Epidermal growth factor receptor in relation to tumor development: EGFR gene and cancer. Febs j. 2010;277(2):301-8.

102. Burgess AW, Cho H-S, Eigenbrot C, Ferguson KM, Garrett TP, Leahy DJ, et al. An open-and-shut case? Recent insights into the activation of EGF/ErbB receptors. Molecular cell. 2003;12(3):541-52.

103. López-Malpartida AV, Ludeña MD, Varela G, Pichel JG. Differential ErbB receptor expression and intracellular signaling activity in lung adenocarcinomas and squamous cell carcinomas. Lung cancer (Amsterdam, Netherlands). 2009;65(1):25-33.

104. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non–small-cell lung cancer to gefitinib. N Engl J Med. 2004;350(21):2129-39.

105. Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. Science. 2004;304(5676):1497-500.

106. Cohen MH, Williams GA, Sridhara R, Chen G, Pazdur R. FDA drug approval summary: gefitinib (ZD1839)(Iressa®) tablets. The oncologist. 2003;8(4):303-6.

107. Kosaka T, Yatabe Y, Endoh H, Kuwano H, Takahashi T, Mitsudomi T. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene in lung cancer: biological and clinical implications. Cancer Res. 2004;64(24):8919-23.

108. Pao W, Miller VA, Politi KA, Riely GJ, Somwar R, Zakowski MF, et al. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. PLoS Med. 2005;2(3):e73.

109. 109 Sequist LV, Waltman BA, Dias-Santagata D, Digumarthy S, Turke AB, Fidias P, et al. Genotypic and histological evolution of lung cancers acquiring resistance to EGFR inhibitors. Sci Transl Med. 2011;3(75):75ra26.

110. Yu HA, Arcila ME, Rekhtman N, Sima CS, Zakowski MF, Pao W, et al. Analysis of tumor specimens at the time of acquired resistance to EGFR-TKI therapy in 155 patients with EGFR-mutant lung cancers. Clin Cancer Res. 2013;19(8):2240-7.

111. Sirkisoon SR, Carpenter RL, Rimkus T, Miller L, Metheny-Barlow L, Lo H-W. EGFR and HER2 signaling in breast cancer brain metastasis. Front Biosci (Elite edition). 2016;8:245.129. Weissberg D, Kaufman M, Schwecher I. Pleuroscopy in clinical evaluation and staging of lung cancer. Poumon Coeur. 1981;37(4): 241-3.

112. Shigematsu H, Takahashi T, Nomura M, Majmudar K, Suzuki M, Lee H, et al. Somatic mutations of the HER2 kinase domain in lung adenocarcinomas. Cancer Res. 2005;65(5):1642-6.

113. Pallis AG, Syrigos KN. Lung cancer in never smokers: disease characteristics and risk factors. Critical reviews in oncology/hematology. 2013;88(3):494-503.

114. Mar N, Vredenburgh JJ, Wasser JS. Targeting HER2 in the treatment of non-small cell lung cancer. Lung Cancer. 2015;87(3):220-5.

115. Peters S, Zimmermann S. Targeted therapy in NSCLC driven by HER2 insertions. Translational lung cancer research. 2014;3(2):84.

116. Kuyama S, Hotta K, Tabata M, Segawa Y, Fujiwara Y, Takigawa N, et al. Impact of HER2 gene and protein status on the treatment outcome of cisplatinbased chemoradiotherapy for locally advanced non-small cell lung cancer. Journal of Thoracic Oncology. 2008;3(5):477-82.

117. Arcila ME, Chaft JE, Nafa K, Roy-Chowdhuri S, Lau C, Zaidinski M, et al. Prevalence, clinicopathologic associations, and molecular spectrum of ERBB2 (HER2) tyrosine kinase mutations in lung adenocarcinomas. Clinical cancer research. 2012;18(18):4910-8.

118. Mazieres J, Peters S, Lepage B, Cortot AB, Barlesi F, Beau-Faller M, et al. Lung cancer that harbors an HER2 mutation: epidemiologic characteristics and therapeutic perspectives. Journal of clinical oncology. 2013;31(16):1997-2003.

119. Britten CD. Targeting ErbB receptor signaling: a pan-ErbB approach to cancer. Mol Cancer Ther. 2004;3(10):1335-42.

120. Buttitta F, Barassi F, Fresu G, Felicioni L, Chella A, Paolizzi D, et al. Mutational analysis of the HER2 gene in lung tumors from Caucasian patients: mutations are mainly present in adenocarcinomas with bronchioloalveolar features. Int J Cancer. 2006;119(11):2586-91.

121. Hirsch F, Varella-Garcia M, Franklin W, Veve R, Chen L, Helfrich B, et al. Evaluation of HER-2/neu gene amplification and protein expression in non-small cell lung carcinomas. Br J Cancer. 2002;86(9):1449.

122. Zhu QG, Zhang SM, Ding XX, He B, Zhang HQ. Driver genes in non-small cell lung cancer: Characteristics, detection methods, and targeted therapies. Oncotarget. 2017;8(34):57680-92.

123. Sasaki T, Rodig SJ, Chirieac LR, Jänne PA. The biology and treatment of EML4-ALK non-small cell lung cancer. Eur J Cancer. 2010;46(10):1773-80.

124. Inamura K, Takeuchi K, Togashi Y, Hatano S, Ninomiya H, Motoi N, et al. EML4- ALK lung cancers are characterized by rare other mutations, a TTF-1 cell lineage, an acinar histology, and young onset. Modern Pathology. 2009;22(4):508.

125. Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, et al. Identification of the transforming EML4–ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. Nature. 2007;448(7153):561.

126. Horn L, Pao W. EML4-ALK: honing in on a new target in non–small-cell lung cancer. Am Soc Clin Oncol, 2009.

127. Cagle PT. Precision Molecular Pathology of Lung Cancer. Cagle PT, editor. Houston, TX, USA: Springer 2018.

128. Go H, Kim DW, Kim D, Keam B, Kim TM, Lee SH, et al. Clinicopathologic analysis of ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer

129. Facchinetti F, Loriot Y, Kuo MS, Mahjoubi L, Lacroix L, Planchard D, et al. Crizotinib-Resistant ROS1 Mutations Reveal a Predictive Kinase Inhibitor Sensitivity Model for ROS1- and ALK-Rearranged Lung Cancers. Clin Cancer Res. 2016;22(24):5983-91.

130. Bos M, Gardizi M, Schildhaus H-U, Buettner R, Wolf J. Activated RET and ROS: two new driver mutations in lung adenocarcinoma. Transl Lung Cancer Res. 2013;2(2):112.

131. Bergethon K, Shaw AT, Ou S-HI, Katayama R, Lovly CM, McDonald NT, et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. J Clin Oncol. 2012;30(8):863.

132. Peruzzi B, Bottaro DP. Targeting the c-Met signaling pathway in cancer. Clin Cancer Res. 2006;12(12):3657-60.

133. 133.Bean J, Brennan C, Shih JY, Riely G, Viale A, Wang L, et al. MET amplification occurs with or without T790M mutations in EGFR mutant lung tumors with acquired resistance to gefitinib or erlotinib. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007;104(52):20932-7.

134. Tsao MS, Marguet S, Le Teuff G, Lantuejoul S, Shepherd FA, Seymour L, et al. Subtype Classification of Lung Adenocarcinoma Predicts Benefit From Adjuvant Chemotherapy in Patients Undergoing Complete Resection. J Clin Oncol. 2015;33(30):3439-46.

135. Kiessling MK, Curioni-Fontecedro A, Samaras P, Atrott K, Cosin-Roger J, Lang S, et al. Mutant HRAS as novel target for MEK and mTOR inhibitors. Oncotarget. 2015;6(39):42183-96.

136. Alvarez JGB, Otterson GA. Agents to treat BRAF-mutant lung cancer. Drugs Context. 2019;8:212566.

137. Dankner M, Rose AAN, Rajkumar S, Siegel PM, Watson IR. Classifying BRAF alterations in cancer: new rational therapeutic strategies for actionable mutations. Oncogene. 2018;37(24):3183-99.

138. Neuzillet C, Tijeras-Raballand A, de Mestier L, Cros J, Faivre S, Raymond E. MEK in cancer and cancer therapy. Pharmacol Ther. 2014;141(2):160-71.

139. Scheffler M, Ihle MA, Hein R, Merkelbach-Bruse S, Scheel AH, Siemanowski J, et al. K-ras Mutation Subtypes in NSCLC and Associated Cooccuring Mutations in Other Oncogenic Pathways. J Thorac Oncol. 2019;14(4):606-16.

140. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csőszi T, Fülöp A, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1–positive non–small-cell lung cancer. New England Journal of Medicine. 2016;375(19):1823-33.

141. Arbour KC, Jordan E, Kim HR, Dienstag J, Helena AY, Sanchez-Vega F, et al. Effects of co-occurring genomic alterations on outcomes in patients with KRAS-Mutant non–small cell lung cancer. Clinical Cancer Research. 2018;24(2):334-40.

142. Blumenschein Jr G, Smit E, Planchard D, Kim D-W, Cadranel J, De Pas T, et al. A randomized phase II study of the MEK1/MEK2 inhibitor trametinib (GSK1120212) compared with docetaxel in KRAS-mutant advanced non-smallcell lung cancer (NSCLC). Annals of Oncology. 2015;26(5):894-901.

143. Lopez-Chavez A, Thomas A, Rajan A, Raffeld M, Morrow B, Kelly R, et al. Molecular profiling and targeted therapy for advanced thoracic malignancies: a biomarker-derived, multiarm, multihistology phase II basket trial. Journal of clinical oncology. 2015;33(9):1000.

144. Pylayeva-Gupta Y, Grabocka E, Bar-Sagi D. RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. Nature Reviews Cancer. 2011;11(11):761.

145. Engelman JA, Chen L, Tan X, Crosby K, Guimaraes AR, Upadhyay R, et al. Effective use of PI3K and MEK inhibitors to treat mutant Kras G12D and PIK3CA H1047R murine lung cancers. Nature medicine. 2008;14(12):1351.

146. Sos ML, Fischer S, Ullrich R, Peifer M, Heuckmann JM, Koker M, et al. Identifying genotype-dependent efficacy of single and combined PI3K-and MAPKpathway inhibition in cancer. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2009;106(43):18351-6.

147. Scheffler M, Bos M, Gardizi M, König K, Michels S, Fassunke J, et al. PIK3CA mutations in non-small cell lung cancer (NSCLC): genetic heterogeneity, prognostic impact and incidence of prior malignancies. Oncotarget. 2015;6(2):1315.

148. Song Z, Yu X, Zhang Y. Mutation and prognostic analyses of PIK3CA in patients with completely resected lung adenocarcinoma. Cancer Med. 2016;5(10):2694-700.

149. Marchetti A, Felicioni L, Malatesta S, Grazia Sciarrotta M, Guetti L, Chella A, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer harboring BRAF mutations. J Clin Oncol. 2011;29(26):3574-9

150. Paik PK, Arcila ME, Fara M, Sima CS, Miller VA, Kris MG, et al. Clinical characteristics of patients with lung adenocarcinomas harboring BRAF mutations. J Clin Oncol. 2011;29(15):2046.

151. Haeger SM, Thompson JJ, Kalra S, Cleaver TG, Merrick D, Wang XJ, et al. Smad4 loss promotes lung cancer formation but increases sensitivity to DNA topoisomerase inhibitors. Oncogene. 2016;35(5):577-86.

152. Huang J, Song H, Liu B, Yu B, Wang R, Chen L. Expression of Notch-1 and its clinical significance in different histological subtypes of human lung adenocarcinoma. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. 2013;32(1):84.

153. Pecuchet N, Laurent-Puig P, Mansuet-Lupo A, Legras A, Alifano M, Pallier K, et al. Different prognostic impact of STK11 mutations in non-squamous nonsmall-cell lung cancer. Oncotarget. 2017;8(14):23831-40.

154. Schabath MB, Welsh EA, Fulp WJ, Chen L, Teer JK, Thompson ZJ, et al. Differential association of STK11 and TP53 with KRAS mutation-associated gene expression, proliferation and immune surveillance in lung adenocarcinoma. Oncogene. 2016;35(24):3209-16.

155. Planchard D, Popat S, Kerr K, Novello S, Smit E, Faivre-Finn C, et al. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Annals of Oncology. 2018;29(Supplement_4):iv192-iv237.

156. 156.Rogerio C Lilenbaum MD, James R Jett MD, Steven E Schild MD, Sadhna R Vora MD. Immunotherap of non-small cell lung cancer with immune checkpoint inhibition. www.uptodate.com.(Accessed on Mar 2016)62

157. Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, et all. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. Nature 2014;515: 563

158. Postow MA, Callahan MK, Wolchok JD. Immune Checkpoint Blockade in Cancer Therapy. J Clin Oncol. 2015;33(17):1974-82.88.

159. Nomi T, Sho M, Akahori T, Hamada K, Kubo A, Kanehiro H, et al. Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death-1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer. Clin Cancer Res. 2007;13(7):2151-7.

160. Azuma K, Ota K, Kawahara A, Hattori S, Iwama E, Harada T, et al. Association of PD-L1 overexpression with activating EGFR mutations in surgically resected nonsmall-cell lung cancer. Ann Oncol. 2014;25(10):1935-40.

161. Thompson RH, Dong H, Kwon ED. Implications of B7-H1 expression in clear cell carcinoma of the kidney for prognostication and therapy. Clin Cancer Res. 2007;13(2 Pt 2):709s-15s.

162. Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, Hwu WJ, Topalian SL, Hwu P, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. N Engl J Med. 2012;366(26):2455-65.

163. Scott Antonia, Sarah B Goldberg, Ani Balmanoukian, Jamie E Chaft, Rachel E Sanborn et all. Safety and antitumour activity of durvalumab plus tremelimumab in non-small cell lung cancer: a multicentre, phase 1b study. The Lancet OncologyVolume 17, No. 3, p299–308, March 2016.

164. Michan S and Sinclair D (2007) Sirtuin in mammals: insights into their biological function. Biochem. J., 404(1): 1-13.

165. Poulose N and Raju R (2015) Sirtuin regulation in aging and injury. Biochim. Biophys. Acta, 1852(11): 2442–2455.

166. Zhao, E.; Hou, J.; Ke, X.; Abbas, M.N.; Kausar, S.; Zhang, L.; Cui, H. The roles of sirtuin family proteins in cancer progression. Cancers 2019, 11, 1949.

167. Sauve A A (2010) Sirtuin chemical mechanisms. Biochim. Biophys. Acta, 1804(8): 1591- 1603.

168. Roth M and Chen W Y (2014) Sorting out functions of sirtuins in cancer Oncogene, 33(13): 1609–1620.

169. Olmos Y, Brosens J J and Lam E W (2011) Interplay between SIRT proteins and tumour suppressor transcription factors in chemotherapeutic resistance of cancer. Drug Resistance Updates, 14(1): 35–44.

170. Liu T, Liu P Y and Marshall G M (2009) The critical role of the class III histone deacetylase SIRT1 in cancer. Cancer Res., 69(5): 1702-1705.

171. Wang R H, Zheng Y, Kim H S, Xu X, Cao L, Luhasen T, Lee M H, Xiao C, Vassilopoulos A, Chen W, Gardner K, Man Y G, Hung M C, Finkel T and Deng C X (2008) Interplay among BRCA1, SIRT1, and Survivin during BRCA1- associated tumorigenesis. Mol. Cell, 32: 11-20.4.

172. Jung W, Hong K D, Jung W Y, Lee E, Shin B K, Kim H K, Kim A and Kim B H (2013) SIRT1 expression is associated with good prognosis in colorectal cancer. Korean J. Pathol., 47(4): 332–339.

173. Noguchi A, Li X, Kubota A, Kikuchi K, Kameda Y, Zheng H, Miyagi Y, Aoki I and Takano Y (2013) SIRT1 expression is associated with good prognosis for head and neck squamous cell carcinoma patients. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol., 115(3): 385–392.

174. Marshall G M, Liu P Y, Gherardi S, Scarlett C J, Bedalov A, Xu N, Iraci N, Valli E, Ling D, Thomas W, van Bekkum M, Sekyere E, Jankowski K, Trahair T, Mackenzie K L, Haber M, Norris M D, Biankin A V, Perini G and Liu T (2011) SIRT1 promotes N-Myc oncogenesis through a positive feedback loop involving the effects of MKP3 and ERK on N-Myc protein stability. PLoS Genet., 7(6): e1002135.

175. Meyerholz DK, Beck AP. Principles and approaches for reproducible scoring of tissue stains in research. *Lab Invest.* 2018; 98:844–855.

176. Yang LP, Feng HQ, Ma JC et al (2020) SIRT2 expression exhibits potential to serve as a biomarker for disease surveillance and prognosis in the management of cervical cancer patients. Medicine (Baltimore) 99(11): e18668.

177. Tseng RC, Lee CC, Hsu HS, Tzao C and Wang YC: Distinct HIC1-SIRT1-p53 loop deregulation in lung squamous carcinoma and adenocarcinoma patients. Neoplasia 11: 763-770, 2009.

178. Lin SY, Peng F. Association of SIRT1 and HMGA1 expression in non-small cell lung cancer. Oncol Lett. 2016; 11: 782-788.

179. Zhu L, Chiao CY, Enzer KG, Stankiewicz AJ, Faller DV, Dai Y. SIRT1 inactivation evokes antitumor activities in NSCLC through the tumor suppressor p27. Mol Cancer Res. 2015; 13: 41-49.

180. Chen X, Hokka D, Maniwa Y, Ohbayashi C, Itoh T, Hayashi Y. Sirt1 is a tumor promoter in lung adenocarcinoma. Oncol Lett. 2014; 8: 387-393.

181. Noh SJ, Baek HA, Park HS, Jang KY, Moon WS, Kang MJ, Lee DG, Kim MH, Lee JH, Chung MJ. Expression of SIRT1 and cortactin is associated with progression of non-small cell lung cancer. Pathol Res Pract. 2013; 209: 365-370.

182. Gharabaghi MA. Diagnostic investigation of BIRC6 and SIRT1 protein expression level as potential prognostic biomarkers in patients with non-small cell lung cancer. Clin Respir J. 2016.

183. A. Brunet, L.B. Sweeney, J.F. Sturgill,K.F. Chua, P.L. Greer, Y. Lin, H. Tran, S.E. Ross, R. Mostoslavsky, H.Y. Cohen, L.S. Hu, H.L. Cheng, M.P. Jedrychowski, S.P. Gygi, D.A. Sinclair, F.W. Alt, M.E. Greenberg, Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase, Science 303 (2004) 2011–2015.

184. W.Y.Chen, D.H.Wang,R.C.Yen,J. Luo,W. Gu, S.B.Baylin, Tumor suppressor HIC1 directly regulates SIRT1 to modulate p53-dependent DNA-damage responses, Cell 123 (2005) 437–448.

185. E. Langley, M. Pearson, M. Faretta, U.M. Bauer, R.A. Frye, S. Minucci, P.G. Pelicci, T.Kouzarides,HumanSIR2deacetylatesp53 andantagonizes PML/p53-induced cellular senescence, EMBO J. 21 (2002) 2383–2396.

186. J. Luo,A.Y. Nikolaev, S.Imai, D.Chen, F. Su,A. Shiloh, L. Guarente,W. Gu, Negative control of p53 by Sir2alpha promotes cell survival under stress, Cell 107 (2001) 137–148.

187. M.C. Motta, N. Divecha, M. Lemieux, C. Kamel, D. Chen, W. Gu, Y. Bultsma, M. McBurney, L. Guarente, Mammalian SIRT1 represses forkhead transcription factors, Cell 116 (2004) 551–563.

188. H. Vaziri, S.K. Dessain, E. Ng Eaton, S.I. Imai, R.A. Frye, T.K. Pandita, L. Guarente, R.A. Weinberg, hSIR2(SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase, Cell 107 (2001) 149–159.

189. F. Yeung, J.E. Hoberg, C.S. Ramsey, M.D. Keller, D.R. Jones, R.A. Frye, M.W. Mayo, Modulation of NF-kappaB-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase, EMBO J. 23 (2004) 2369–2380.

190. Lee B, Kim Y, Kim D, Cho E Y, Han J, Kim H K, Shim Y M and Kim D H (2019) Metformin and tenovin-6 synergistically induces apoptosis through LKB1- independent SIRT1 down-regulation in non-small cell lung cancer cells. J. Cell Mol. Med., 23(4): 2872-2889.

191. Chen Y, Wang T, Wang W, et al. Prognostic and clinicopathological significance of SIRT1 expression in NSCLC: a meta-analysis. *Oncotarget.* 2017;8(37):62537–62544.

192. Cai-xia-gao.; Bin Chen.; Hui-Kang Xie.; Chao-Nan Han. And Jie Luo J. İmmunhistochemistry and clinical value of sirtuin 2 in non-metastasized non-small cell lung cancer J Thorac Dis.2019 Sep; 11(9): 3973-3979.

193. Ying L, Huang Y, Chen H, Wang Y, Xia L, Chen Y, Liu Y, Qiu F. Downregulated MEG3 activates autophagy and increases cell proliferation in bladder cancer. *Mol Biosyst.* 2013 ;9: 407–411.

194. Li, Z.; Huang, J.; Yuan, H.; Chen, Z.; Luo, Q.; Lu, S. SIRT2 inhibits non-small cell lung cancer cell growth through impairing Skp2-mediated p27.

195. Lıu, P. Y., XU, N., Malyukova, A., Scarlett, C. J., Sun, Y. T., Zhang, X. D., Lıng, D., S-P, S., Nelson, C., Chang, D. K. "The histone deacetylase SIRT2 stabilizes Myc oncoproteins", Cell Death & Differentiation, 2013; 20:503-51.