

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

**KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERLERİNDE
İMMÜNHİSTOKİMYASAL VE MOLEKÜLER YÖNTEM İLE
NTRK FÜZYONU ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
DR. UBEYDULLAH ÖZTÜRK**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. FERDA BİR**

DENİZLİ – 2022

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

**KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERLERİNDE
İMMÜNHİSTOKİMYASAL VE MOLEKÜLER YÖNTEM İLE
NTRK FÜZYONU ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
DR. UBEYDULLAH ÖZTÜRK**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. FERDA BİR**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 14.12.2022 tarih ve 2023TIPF006 nolu kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ – 2022

TEŞEKKÜR

Asistanlığım sürecinde bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, başta tez danışmanım Prof. Dr. Ferda BİR olmak üzere değerli hocalarım Prof. Dr. Neşe ÇALLI DEMİRKAN, Prof. Dr. Nagihan YALÇIN, Prof. Dr. Nilay ŞEN TÜRK, Doç. Dr. Yeliz ARMAN KARAKAYA, Dr. Öğr. Üyesi Emel KILIÇARSLAN, Dr. Öğr. Üyesi Erdem ÇOMUT ve Dr. Öğr. Üyesi Gülsün GÜLTEN'e; yine bu süreçte birlikte çalışmaktan keyif aldığım, desteklerini ve dostluklarını esirgemeyen sevgili asistan arkadaşlarım Dr. Hatice KUZULAR, Dr. Duygu AKÇA, Dr. Ayşegül GÖRMEZ, Dr. Merve BOZKURT, Dr. Nursinem ALKAN, Dr. Hande KARABAŞ, Dr. Hale APAYDIN, Dr. Selma Aybike DURAN, Dr. Gökçe CAN ve Dr. Zülal Seçil İPİN'e; Pamukkale Üniversitesi Hastanesi Patoloji Laboratuvarı'nda çalışan tüm laboratuvar ekibine; asistanlık sürecimin en büyük kazancı olan sevgili eşim Burçin ÖZTÜRK'e; bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan saygıdeğer babama, sevgili anneme ve canım kardeşlerime şükranlarımı sunarım...

Dr. Ubeydullah ÖZTÜRK

İÇİNDEKİLER

| | |
|----------------------------------------------------------------|------|
| TEŞEKKÜR | iv |
| İÇİNDEKİLER | v |
| KISALTMALAR DİZİNİ | vii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | viii |
| RESİMLER DİZİNİ | ix |
| TABLolar DİZİNİ | x |
| ÖZET..... | xi |
| ABSTRACT | xiv |
| GİRİŞ | 1 |
| GENEL BİLGİLER..... | 3 |
| AKCİĞER EMBRİYOLOJİSİ | 3 |
| AKCİĞER HİSTOLOJİSİ | 4 |
| AKCİĞER KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ | 7 |
| AKCİĞER KANSERİ ETYOLOJİSİ | 8 |
| AKCİĞER TÜMÖRLERİ..... | 11 |
| Epitelyal Tümörler | 11 |
| <i>Papillomlar</i> | 11 |
| <i>Adenomlar</i> | 12 |
| <i>Prekürsör Glandüler Lezyonlar</i> | 14 |
| <i>Adenokarsinomlar</i> | 16 |
| <i>Prekürsör Skuamöz Lezyonlar</i> | 23 |
| <i>Skuamöz Hücreli Karsinom</i> | 23 |
| <i>Büyük Hücreli Karsinomlar</i> | 25 |
| <i>Adenoskuamöz Karsinomlar</i> | 26 |
| <i>Sarkomatoid Karsinomlar</i> | 27 |
| AKCİĞER KANSERİNDE MOLEKÜLER DEĞİŞİKLİKLER | 29 |
| NTRK..... | 32 |
| <i>NTRK Füzyon Tespitinde Kullanılan Test Yöntemleri</i> | 33 |
| GEREÇ VE YÖNTEM..... | 35 |
| OLGU SEÇİMİ VE DOKU MİKROARRAY BLOKLARIN HAZIRLANMASI | 35 |

| | |
|-----------------------------------------------------------|-----------|
| İMMÜNHİSTOKİMYA..... | 40 |
| REVERSE TRANSKRİPTAZ POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU . | 41 |
| FLORESAN İN-SİTU HİBRİDİZASYON..... | 44 |
| İSTATİSTİKSEL ANALİZ..... | 45 |
| BULGULAR..... | 46 |
| KLİNİKOPATOLOJİK BULGULAR..... | 46 |
| İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR..... | 64 |
| RT-PCR BULGULARI..... | 69 |
| FISH BULGULARI..... | 71 |
| SAĞKALIM ANALİZİ..... | 72 |
| TARTIŞMA..... | 79 |
| SONUÇLAR..... | 98 |
| KAYNAKLAR..... | 99 |

KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|--------------------------------|----------------------------------------------|
| ABD | :Amerika Birleşik Devletleri |
| AİS | :Adenokarsinoma in situ |
| ALK | :Anaplastik lenfoma kinaz |
| ASK | :Adenoskuamöz karsinom |
| BRAF | :V-raf murin sarkom viral onkogen homolog B1 |
| CEA | :Karsinoembriyonik antijen |
| CK7 | :Sitokertin 7 |
| CK20 | :Sitokertin 20 |
| cm | :Santimetre |
| DNA | :Deoksiribonükleik asit |
| EGFR | :Epidermal büyüme faktör reseptörü |
| EMA | :Epitelyal membran antijeni |
| ERBB2 | :İnsan epidermal büyüme faktörü 2 |
| FDA | :Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi |
| HNF-α | :Hepatosit nükleer faktör alfa |
| IARC | :Uluslararası kanser araştırma ajansı |
| İHK | :İmmünohistokimya |
| İMA | :İnvaziv müsinöz adenokarsinom |
| KHDAK | :Küçük hücreli dışı akciğer karsinomu |
| KOAH | :Kronik obstrüktif akciğer hastalığı |
| KRAS | :Kristen rat sarkom virus |
| LCC | :Büyük hücreli karsinom |
| MİA | :Minimal invaziv adenokarsinom |
| mm | :Milimetre |
| NTRK | :Nörotrofik tirozin reseptör kinaz |
| RET | :Rearanjman eşzamanlı transfeksiyon |
| RNA | :Ribonükleik asit |
| ROS1 | :ROS1 protoonkogen reseptör tirozin kinaz |
| Trk | :Tropomiyozin reseptör kinaz |
| TTF1 | :Tiroid transkripsiyon faktör 1 |
| SMA | :Düz kas aktin |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | Sayfa No |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Şekil 1. Rt-PCR için oluşturulan birinci plakaya ait eğriler | 71 |
| Şekil 2. Rt-PCR için oluşturulan ikinci plakaya ait eğriler | 71 |
| Şekil 3. Tümör çapının total sağkalım ile ilişkisi | 73 |
| Şekil 4. Tümör (T) evresinin total sağkalım ile ilişkisi | 74 |
| Şekil 5. Lenf nodu metastaz evresinin total sağkalım ile ilişkisi | 75 |
| Şekil 6. Uzak metastaz evresinin total sağkalım ile ilişkisi | 75 |
| Şekil 7. Pan-TRK ekspresyonunun total sağkalım ile ilişkisi | 76 |
| Şekil 8. Lenf nodu metastaz evresinin hastalıksız yaşam süresi ile ilişkisi | 77 |
| Şekil 9. Pan-TRK ekspresyonunun hastalıksız yaşam süresi ile ilişkisi | 77 |

RESİMLER DİZİNİ

| | Sayfa No |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Resim 1. Mikroarrey bloğu ve kesiti..... | 40 |
| Resim 2. Lepidik patern, adenokarsinom..... | 52 |
| Resim 3. Asiner patern, adenokarsinom; TTF-1 boyanma | 53 |
| Resim4 . Solid patern, adenokarsinom; TTF-1 boyanma; d-PAS ile mürin birikimi | 53 |
| Resim 5. Papiller patern, adenokarsinom | 54 |
| Resim 6. Mikropapiller patern, adenokarsinom | 54 |
| Resim 7. Mürinöz adenokarsinom..... | 55 |
| Resim 8. Kolloid adenokarsinom | 55 |
| Resim 9. Nonkeratinize tip, skuamöz hücreli karsinom; p40 boyanma | 56 |
| Resim 10. Keratinize tip, skuamöz hücreli karsinom | 57 |
| Resim 11. Bazaloid tip, skuamöz hücreli karsinom..... | 57 |
| Resim 12. Sarkomatoid karsinom, iğsi hücreli komponent | 58 |
| Resim 13. Büyük hücreli karsinom | 58 |
| Resim 14. Olgularda immünhistokimyasal Pan-TRK ekspresyonu | 68 |
| Resim 15. NTRK füzyonu tespit edilen ilk skuamöz hücreli karsinom olgusu, H&E ve Pan-TRK boyanma..... | 69 |
| Resim 16. NTRK füzyonu tespit edilen ikinci skuamöz hücreli karsinom olgusu, H&E ve Pan-TRK boyanma..... | 70 |
| Resim 17. NTRK füzyonu tespit edilen adenokarsinom olgusu, H&E ve Pan-TRK boyanma | 70 |
| Resim 18. FİSH incelemesinde NTRK3 füzyonu | 72 |
| Resim 19. FİSH incelemesinde NTRK1 füzyonu | 72 |

TABLolar DİZİNİ

| | Sayfa No |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Tablo 1. IASCL'nin 8. evreleme sistemi – T, N ve M evresi | 36 |
| Tablo 2. Akciğer tümörleri sınıflaması (DSÖ, 2021)..... | 38 |
| Tablo 3. NTRK genleri ve füzyon partner geni..... | 43 |
| Tablo 4. Olguların klinikopatolojik özelliklerine göre dağılımı..... | 46 |
| Tablo 5. Tümör çapı ve lenf nodu metastaz evresi ilişkisi | 48 |
| Tablo 6. Tümör çapı ve uzak metastaz evresi ilişkisi | 48 |
| Tablo 7. Tümör çapı ve sağkalım durumu ilişkisi | 49 |
| Tablo 8. Rezeksiyon materyali olan olguların histopatolojik özellikleri | 50 |
| Tablo 9. Cinsiyet ve tümör tipi ilişkisi | 51 |
| Tablo 10. Tümör tipi ve nüks durumu ilişkisi | 51 |
| Tablo 11. Anjiolenfatik invazyon ve lenf nodu metastazı ilişkisi..... | 59 |
| Tablo 12. Perinöral invazyon ve nüks durumu ilişkisi | 60 |
| Tablo 13. Olguların evre gruplarına göre dağılımı..... | 61 |
| Tablo 14. Tümör (T) evresi ve sağkalım durumu ilişkisi..... | 62 |
| Tablo 15. Rezeksiyonlu olgularda lenf nodu metastazı ve uzak metastaz ilişkisi .. | 63 |
| Tablo 16. Lenf nodu metastaz evresi ve sağkalım durumu ilişkisi..... | 63 |
| Tablo 17. Uzak metastaz durumu ve sağkalım durumu ilişkisi | 64 |

ÖZET

Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserlerinde İmmünohistokimyasal ve Moleküler Yöntem ile NTRK Füzyonu Araştırılması

Dr. Ubeydullah ÖZTÜRK

Küçük hücreli dışı akciğer karsinomları akciğer kanserlerinin en sık rastlanan tipidir. Küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarının büyük bir kısmını skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom ve büyük hücreli karsinom oluşturmaktadır. Daha seyrek olarak diğer tipler görülmektedir. Küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında prognoz ve tedavideki en önemli parametre hastalığın evresidir. Erken evre tümörlerde cerrahi rezeksiyon önerilirken, ileri evre tümörlerde ise kemoradyoterapi tedavisine ek olarak özellikle son yıllarda immünoterapi ve sürücü onkogenin hedeflendiği tedaviler öne çıkmaktadır.

Küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında terapötik ajanlara uygun hedeflenebilir spesifik genetik değişikliklerin keşfedilmesi, rutin uygulamada bu genetik değişiklikleri saptayan moleküler tanı testlerinin önemini artırmıştır. EGFR, ALK, ROS1, RET, BRAF V600E, MET Ekson 14 ve NTRK genetik değişikliklerini hedefleyen tirozin kinaz inhibitörleri küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarının bazı alt tipleri için onay almıştır.

NTRK genleri sırasıyla TrkA, TrkB ve TrkC proteinlerini kodlayan NTRK1, NTRK2 ve NTRK3'den oluşan bir gen ailesidir. Trk proteinleri fizyolojik olarak nöronal gelişim ve bazı bilişsel fonksiyonların düzenlenmesinde görev alır. Ayrıca bazı tümörlerde temel genetik değişiklik olarak NTRK gen füzyonları tespit edilmiştir. Memenin sekretuar karsinomu, tükürük bezinin meme analogu sekretuar karsinomu, infantil fibrosarkom ve konjenital mezoblastik nefroma gibi nadir görülen tümörlerde NTRK füzyonuna sık rastlanır. Küçük hücreli dışı akciğer karsinomları, kolorektal karsinomlar, papiller tiroid karsinomları gibi daha sık karşılaşılan tümörlerde de nadiren NTRK füzyonları bildirilmiştir.

Yakın zamanda onay alan entrectinib ve larotectinib gibi tirozin kinaz inhibitörlerinin NTRK füzyon pozitif tümörlerde belirgin yanıt sağlaması NTRK füzyonunun saptanmasının önemini artırmıştır. NTRK füzyon tespiti için immünohistokimyasal yöntemler yanı sıra moleküler olarak floresan in situ

hibridizasyon, reverse transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu ve yeni nesil sekanslama testleri kullanılmaktadır.

Bu çalışmaya kurumumuzda tanı almış 295 küçük hücreli dışı akciğer karsinom olgusu alındı. Olguların 148 (%50,2)'inin biyopsi, 147 (%49,8)'sinin ise rezeksiyon materyali mevcuttu. Tüm olguların 188 (%63,7)'i skuamöz hücreli karsinom, 85 (%28,8)'i adenokarsinom, 9 (%3,1)'u küçük hücreli dışı karsinom, 10 (%3,4)'u sarkomatoid karsinom, 3 (%1,0)'ü ise büyük hücreli karsinom tanılıydı. Olguların tümü Pan-TRK immünohistokimyasal ekspresyonu, klinikopatolojik parametreler ve prognoz açısından incelendi. İmmünohistokimyasal Pan-TRK pozitifliği reverse transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile doğrulandı. Reverse transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu ile NTRK füzyonu saptanan olgularda NTRK füzyonu floresan in situ hibridizasyon yöntemi ile tekrar doğrulandı.

Klinikopatolojik verilerden tümör çapı, tümör evresi, lenf nodu metastazı evresi ve uzak metastaz evresi ile olguların total sağkalım süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,05$). Tümör çapı arttıkça, tümör evresi artmakta, lenf nodu metastazı evresi ve uzak metastaz evresi ilerledikçe total sağkalım süresi azalmaktaydı.

İmmünohistokimyasal olarak Pan-TRK (EPR17341 klonu) ekspresyonu 24 (%8,1) olguda izlendi. Dört (%1,4) olguda sitoplazmik, 10 (%3,4) olguda fokal sitoplazmik, 10 (%3,4) olguda fokal nükleer ekspresyon saptandı. Skuamöz hücreli karsinom tanılı 18 (%9,6), adenokarsinom tanılı 3 (%3,5), küçük hücreli dışı akciğer karsinomu, NOS tanılı 2 (%22,2), sarkomatoid karsinom tanılı 1 (%10,0) olguda Pan-TRK ekspresyonu saptanırken, büyük hücreli karsinom olgularının 3 (%100)'ünde de Pan-TRK ile herhangi bir ekspresyon görülmedi.

Pan-TRK ekspresyonu açısından cinsiyet, yaş, tümör odak sayısı, tümör çapı, tümör tipleri, tümör alt tipleri, anjiolenfatik invazyon durumu, perinöral invazyon durumu, tümör stroması, tümör evresi, lenf nodu metastazı, uzak metastaz ve nüks durumuna göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0,05$). Pan-TRK pozitif ve negatif olgular arasında hastalıksız yaşam süresi ve total yaşam süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

İmmünohistokimyasal olarak pozitif saptanan 24 olguya reverse transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu testi uygulandı. Yirmi dört olgudan 3 (%12,5)'ünde

NTRK3 füzyonu tespit edildi. NTRK füzyon pozitif 2 (%67) olgu skuamöz hücreli karsinom, bir (%33) olgu ise adenokarsinomdu. İki olguda ise numune yetersiz olduğu için test uygulanamadı.

Sonuç olarak biz bu çalışmada küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarının %8,1'inde literatüre benzer şekilde immünohistokimyasal olarak Pan-TRK ekspresyonu saptadık. İmmünohistokimyasal olarak pozitif olgularımızın %12,5'unda ise revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu ile NTRK3 füzyonu saptadık ve floresan in situ hibridizasyon ile bulgularımızı konfirme ettik. Bulgularımız deneyimli patologlar tarafından titiz bir inceleme yapılırsa, moleküler testlerin bulunmadığı ortamlarda immünohistokimyanın tarama testi olarak kullanılabileceğini ancak mutlaka moleküler doğrulama gerektirdiğini göstermektedir. Olgularımızın çoğunluğunu oluşturan kısıtlı tedavi seçeneklerine sahip skuamöz hücreli karsinomlarda NTRK3 füzyonu bulgumuz, bu genin sürücü fonksiyonun bu grupta daha etkili olabileceğini düşündürmüştür. Daha geniş seriler ile bulgumuzun desteklenebileceğini düşünmekteyiz.

ABSTRACT

Research of NTRK Fusion by Immunohistochemical and Molecular Methods in Non-Small Cell Lung Cancers

Dr. Ubeydullah OZTURK

Non-small cell lung carcinomas are the most common type of lung cancer. Squamous cell carcinoma, adenocarcinoma and large cell carcinoma constitute the majority of non-small cell lung carcinomas. Other types are seen less frequently. The most important parameter in prognosis and treatment in nonsmall cell lung carcinomas is the stage of the disease. While surgical resection is recommended for early-stage tumors, immunotherapy and treatments targeting the driver oncogene have come to the fore in recent years in addition to chemoradiotherapy for advanced-stage tumors.

The discovery of specific targetable genetic changes suitable for therapeutic agents in non-small cell lung carcinomas has increased the importance of molecular diagnostic tests that detect these genetic changes by routine practice. Tyrosine kinase inhibitors targeting genetic changes in EGFR, ALK, ROS1, RET, BRAF V600E, MET Exon 14, and NTRK genes have been approved for certain subtypes of non-small cell carcinomas.

The NTRK genes are a family of genes consisting of NTRK1, NTRK2, and NTRK3, which encode the TrkA, TrkB, and TrkC proteins, respectively. Trk proteins are physiologically involved in the regulation of neuronal development and some cognitive functions. Moreover, NTRK gene fusions have been identified as the main genetic change in some tumors. NTRK fusion is frequently encountered in rare tumors such as secretory carcinoma of the breast, breast analogue secretory carcinoma of the salivary gland, infantile fibrosarcoma, and congenital mesoblastic nephroma. Furthermore, NTRK fusions have been reported rarely in more common tumors such as non-small cell lung carcinomas, colorectal carcinomas, and papillary thyroid carcinomas.

The distinct response of recently approved tyrosine kinase inhibitors such as entrectinib and larotectinib in NTRK fusion-positive tumors has increased the importance of detecting NTRK fusion. In addition to immunohistochemical methods,

molecular fluorescence in situ hybridization, reverse transcriptase polymerase chain reaction and new generation sequencing tests are used for NTRK fusion detection.

In this study, 295 non-small cell lung carcinoma cases diagnosed in our institution were included. Out of the cases, 148 (50,2%) had biopsy samples available, while 147 (49,8%) had resection material. Of all cases, 188 (63,7%) were diagnosed with squamous cell carcinoma, 85 (28,8%) with adenocarcinoma, 9 (3,1%) with non-small cell lung carcinoma, 10 (3,4%) with sarcomatoid carcinoma, 3 (1,0%) large cell carcinoma. All cases were examined in terms of Pan-TRK immunohistochemical expression, clinicopathological parameters and prognosis. Immunohistochemical examination was applied to all cases for NTRK fusion detection. Immunohistochemical Pan-TRK positivity was confirmed by RT-PCR. NTRK fusion was reconfirmed by fluorescence in situ hybridization method in cases with positive NTRK fusion detected by reverse transcriptase polymerase chain reaction.

A statistically significant difference was found between clinicopathological data in terms of tumor diameter, tumor stage, lymph node metastasis stage and distant metastasis stage, and total survival time of the cases ($p < 0,05$). As the tumor size increased, tumor stage, lymph node metastasis stage and distant metastasis stage progressed, total survival time decreased.

Immunohistochemically, Pan-TRK (clone EPR17341) expression was observed in 24 (8,1%) cases. Cytoplasmic expression was found in four (1,4%) cases, focal cytoplasmic expression in 10 (3,4%) cases, focal nuclear expression in 10 (3,4%) cases. Pan-TRK expression was detected in 18 (9,6%) cases with squamous cell carcinoma, 3 (3,5%) with adenocarcinoma, 2 (22,2%) cases with non-small cell lung carcinoma, NOS, 1 (10,0%) with sarcomatoid carcinoma, although/however no expression was observed with Pan-TRK in 3 (100%) cases of large cell carcinoma.

In terms of Pan-TRK expression statistically significant difference was not observed between the groups according to gender, age, number of tumor foci, tumor diameter, tumor types, tumor subtypes, angiolymphatic invasion status, perineural invasion status, tumor stroma, tumor stage, lymph node metastasis, distant metastasis and recurrence status ($p > 0,05$). There was no statistically significant difference between Pan-TRK positive and negative cases in terms of disease-free survival and total life expectancy ($p > 0,05$).

Reverse transcriptase polymerase chain reaction test was applied to the cases who was found to be positive immunohistochemically. NTRK3 fusion was detected in 3 (12,5%) of 24 cases. Among the fusion positive cases 2 (67%) were squamous cell carcinoma, one (33%) was adenocarcinoma. In two cases, the test could not be performed because the sample was insufficient.

In conclusion, in this study, we identified Pan-TRK expression through immunohistochemistry in 8,1% of non-small cell lung carcinomas, consistent with the literature. Among the immunohistochemically positive cases, we detected NTRK3 fusion by reverse transcriptase polymerase chain reaction in 12,5% of the cases, and we confirmed our findings using FISH. Our results indicate that immunohistochemistry can be used as a screening test in settings where molecular testing is not available, but it always requires molecular validation, as demonstrated by meticulous examination by experienced pathologists. Our finding of NTRK3 fusion in squamous cell carcinomas with limited treatment options, which constitutes the majority of our cases, suggested that the driver function of this gene may be more effective in this group. We believe that our findings can be supported by larger series, which would enhance the generalizability and reliability of our results.

GİRİŞ

Akciğer kanseri en yaygın görülen kanserlerden biridir. Dünya çapında yılda yaklaşık 2 milyon yeni vaka insidansına sahiptir. Mortalite oranı %20'dir [1]. Küçük hücreli dışı akciğer karsinomu (KHDAK) en sık görülen akciğer kanseri türüdür ve tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %80-85'ini oluşturur [2]. KHDAK'ları kategorisinin tamamına yakını adenokarsinom (AK), skuamöz hücreli karsinom (SCC) ve büyük hücreli karsinom (LCC)'dan oluşur; ancak daha az yaygın olan bazı alt tipler de mevcuttur [3, 4].

KHDAK'larının terapötik stratejisi, sürücü onkogenleri hedefleyen moleküler hedefli tedavinin ortaya çıkmasıyla önemli ölçüde değişmiştir. KHDAK vakalarının yaklaşık üçte birinde, tedavi seçeneklerini genişleten ve geleneksel kemoterapiye kıyasla sağkalımı artıran terapötik olarak hedeflenebilir sürücü onkogeni bulunmuştur [5]. Şimdiye kadar, epidermal büyüme faktörü reseptörünü (EGFR), anaplastik lenfoma kinazı (ALK), ROS1 protoonkogen reseptör tirozin kinaz (ROS1) ve serin / treonin protein kinaz BRAF (BRAF)'ı hedefleyen kinaz inhibitör tedavisi standart tedavidir [6].

Tropomyozin reseptör kinaz (Trk) ailesi, TrkA, TrkB ve TrkC olmak üzere üç farklı transmembran proteini kapsar. Bu reseptörler nörotrofik tropomyozin reseptör kinaz (NTRK) gen ailesinin üyeleri olan NTRK1, NTRK2 ve NTRK3 genleri tarafından kodlanır. Yapısal olarak, Trk reseptörlerinin tümü ligand bağlanması için bir hücre dışı alan, bir transmembran segment ve bir hücre içi tirozin kinaz alanından oluşur. Otuz yıldan daha uzun bir süre önce tanımlanmış, merkezi sinir sisteminin gelişiminin farklı aşamalarında ve olgun sinir sisteminde bulunan Trk reseptörlerinin fizyolojik rolü tam olarak anlaşılmamıştır. Bu reseptörlerin kontrolsüz aktivasyonu ile sonuçlanan NTRK genlerindeki değişiklikler, birçok tümör tipinde kanser gelişiminin temel bir özelliği olarak giderek daha fazla kabul görmektedir [7].

Ek olarak, NTRK gen füzyonları, son zamanlarda kanser tedavisinin yeni hedefleri olarak tanımlanmıştır. Birinci nesil Trk inhibitörleri, entrectinib ve larotrectinib, KHDAK da dahil olmak üzere NTRK füzyon pozitif solid tümörlü hastalar için yakın zamanda Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır [8].

Bu çalışmanın amacı son yıllarda önemi vurgulanan NTRK gen füzyonlarının laboratuvarımızda tanı konan KHDAK'larının tmroenezinde ne oranda rol oynadığını saptamak, NTRK gen füzyonlarının klinikopatolojik parametreler ve prognoz ile ilişkisini araştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

AKCİĞER EMBRİYOLOJİSİ

Akciğer gelişimi geleneksel olarak 5 histolojik aşamada tanımlanmıştır. Bu aşamalar embriyonik, psödoglandüler, kanaliküler, sakküler ve alveolar evredir.

Embriyonik Evre: Primitif bağırsağın oluşumunu takiben, akciğer tomurcuğu, gelecekteki yemek borusunun ventral tarafında oluşur [9]. Organogenezin 4-7. haftaları boyunca bu tomurcuk, gelecekteki yemek borusunun her iki tarafında bulunan 2 akciğer tomurcuğunu oluşturmak için dallanır [9]. Akciğerin epitel bileşenleri endodermden, bağ dokusu ise mezodermal germ tabakasından türetilir. Yedinci haftada, ilk lobe ve segmental dallanma işlemlerini takiben hava yolunun segmental dallanması, vaskülogenezle birlikte belirgin hale gelir [9, 10]. Aortik arklardan iki pulmoner arterin gelişimi sonrası, pulmoner arterler dallanarak mezenşime doğru büyür ve bir vasküler pleksus oluşturmak üzere akciğer tübüllerini çevreler [9, 10]. Pulmoner ven tomurcuğu, kalbin sol atriyal kısmından büyüyen küçük bir tübül olarak görünür [10]. Sonra da pulmoner ven ile de bağlantı kurar [9, 10]. Yedi haftalık gebelikte, merkezi vasküler ve hava yolu yapılarının erişkin paterni oluşmuştur [9, 10].

Psödoglandüler Evre: Psödoglandüler evrenin başlangıcında, yedinci haftada her bir akciğer küçük bir tübülo-asiner beze benzer. 7-17. gebelik haftaları boyunca, ön asiner hava yollarının oluşumu meydana gelir [11]. Bu aşamada, primitif hava yolu epiteli büyümeye ve proksimalden distale doğru farklılaşmaya başlar [10, 11].

Kanaliküler Evre: Bu evredeki temel özellikler ince bir hava-kan bariyeri oluşumunun başlaması ve sürfaktan salgılanmasıdır [10, 11]. 16-25. gebelik haftalarında gözlemlenen bu aşama, bronş ağacının terminal dallarının oluşumunu ve olası gaz değişim bölgesi olarak pulmoner parankimin erken gelişimini kapsar [11].

Respiratuar bronşiyoller, bu dönemde bir miktar interstisyel doku ile ortaya çıkar. 20 haftada kübik epitel şeklinde görülen ön hücreler tip 1 ve tip 2 hücrelere farklılaşır. Tip 1 epitel hücreleri, kan-hava bariyeri de dahil olmak üzere alveolar yüzeyin çoğunu kaplar. Tip 2 epitel hücreleri, sürfaktanın hücre içi depolama birimleri olan katmanlı inklüzyon cisimleri içerir [12, 13].

Sakküler Evre: Sakküler evrenin başlangıcı, insan fetüsü için en erken canlılık dönemi ile ilişkilidir. 24-38. haftalara yayılan bu aşamada, primitif terminal hava

boşlukları oluşur ve tip 2 alveolar hücreler tarafından sürfaktan üretimi başlar [13]. Sakküler evrenin başlangıcında, hava yolları ince duvarlı terminal keseciklerle sonlanır, bu keseciklerden daha sonra son nesil hava yolları, alveolar kanallar ve en dış periferdeki alveolar keseler üretilir [9, 13]. Bu aşama ayrıca pulmoner parankim büyümesinin artması, hava boşlukları arasındaki bağ dokusunun incilmesi ve sürfaktan sisteminin daha fazla olgunlaşması ile fetüsü doğum için hazırlar [14]. Hem kanaliküler hem de sakküler aşamalarda kan damarlarının uzunluğu ve çapı büyür [13].

Sürfaktan üretimi gestasyonel yaştan 26. haftasında başlar [9]. Gebeliğin yaklaşık 30. haftasında hava yolu lümenine salgılanmaya başlar, alveolleri kaplar, hava-sıvı ara yüzeyindeki yüzey gerilimini azaltır ve böylece doğum sonrası dönemde akciğerin genişlemesini kolaylaştırır [13].

Alveolar Evre: Alveolar evre doğumdan hemen önce başlar ve yaşamın ilk birkaç yılına kadar sürer [13]. Bu son aşamadaki ana süreçler, alveolar kanalları terminal alveollere bölen sekonder septasyon ve akciğerlerin gaz değişim yüzey alanını arttıran pulmoner anjiyogenezdir [13]. Hava yolu nesillerinin sayısı doğumda tamamlanmış olmasına rağmen, pulmoner parankim morfolojisinin matürasyonu daha sonra olur. Alveollerin %85'inden fazlasının doğumdan sonra oluştuğu artık yaygın olarak kabul edilmektedir [9, 15].

AKCİĞER HİSTOLOJİSİ

Akciğerin iletim kısmı trakeadan terminal bronşiyollere kadar uzanmaktadır [15]. Bu iletim kısmı akciğerlerin dışında burun boşlukları, nazofarenks, larenks ve trakeadan oluşur. Akciğerde bronşlar sağ ana bronş ve sol ana bronşa ayrıldıktan sonra, lobar bronş dallarına ve ardından segmental bronşlara ayrılır [15, 16]. Segmental bronşlar ise kıkırdak dokusunun bulunmadığı küçük bronşiyollere dönüşür. Akciğerlerin iletim bölümünün sonu, terminal bronşiyoller adı verilen son segmenttir. Terminal bronşiyoller respiratuar bronşiyollere açılır [16]. Respiratuar bronşiyoller, akciğerin solunum bölümünün başlangıcıdır.

İletim bölümü, akciğere giren havanın hareketi için yol sağlar [15]. Özel hücreler, solunum yoluna giren parçacıkları ısıtmak, nemlendirmek ve çıkarmak için eş zamanlı olarak çalışır. Solunum epitelinin çoğu silli yalancı çok katlı kolumnar epitelten oluşur [15, 16]. Aşağıdaki beş hücre türü bu bölgededir:

1. Silli hücreler
2. Goblet hücreleri
3. Bazal hücreler
4. Fırçamsı kenar hücreleri
5. Nöroendokrin hücreler

Silli hücreler en bol olanlardır. Bu hücreler akciğerlerin debrileri uzaklaştıran, primer savunma mekanizması olan mukosilyer hareketleri kontrol eder [15, 16]. Goblet hücrelerinin sağladığı mukus, solunan partikülleri hapsederken, silyalar yutmak veya öksürmek için materyali farenkse doğru hareket ettirir [16].

Goblet hücreleri, apikal yüzeylerinde müsün granülleri ile dolu, nükleusları bazal yerleşimli hücrelerdir. Goblet hücrelerinin sayısı, solunum ağacı daraldıkça azalır ve sonunda, respiratuar bronşiyollere ulaştıklarında kulüp hücreleri (önceden Clara hücreleri olarak adlandırılmaktaydı) şeklini alır [16].

Bazal hücreler, bazal membrana oturur; silli hücreler ile goblet hücrelerinin bağlanma tabakasını oluşturur [17]. Silli hücrelere ve goblet hücrelerine dönüşebilen bazal hücrelerin, solunum epitelinin kök hücreleri olduğu düşünülebilir [17].

Tip III pnömositler de olarak adlandırılan fırçamsı kenar hücreleri, solunum mukozasına dağılmış halde bulunur [18]. Fırçamsı kenar hücreleri kolumnar veya şişe benzeri olabilir. Kısa mikrovilli kaplı apikal tabakaları mevcuttur. Fırçamsı kenar hücrelerinin kesin olarak işlevi bilinmemektedir. Popüler bir teori, hava kalitesini tayin eden bir kemoreseptör işlevine sahip olduklarını öne sürmektedir [19]. Bronşiyal mukozada Kulchitsky hücreleri olarak da adlandırılan küçük bir nöroendokrin hücre kümesi bulunur [20]. Nörosekretuar tip granülleri vardır. Bu granüllerden serotonin, kalsitonin, gastrin salan faktörler (bombesin) gibi katekolamin ve polipeptit hormonlar salınır. Nöroendokrin hücreler mukozal epitelin yaklaşık %3'lük küçük bir bölümünü oluşturur.

Bronş epiteli altında submukozal bezler bulunur [21]. Bu bezler, tükürük bezi dokusuna benzer şekilde seröz ve müsünöz hücrelerden oluşur. Salgılar duktuslara ve ardından bronşiyal mukozaya boşaltılır. Özellikle yaşlı bireylerde bu bezlerde onkositik metaplazi görülebilir. Hava akışının düzenlenmesi için hava yolunda düz kas demetleri bulunur. Proksimalden distale doğru bu düz kas lif sayısı azalır [21].

Akciğerde iletim bölümü terminal bronşiyollere kadardır. Sonrasında respiratuar bronşiyollerle başlayan kısım, solunum sisteminin fonksiyonel kısmı olan solunum bölümüdür. Akciğerin solunum bölümü, terminal bronşiyoller, alveolar kanallar, alveolar keselerden oluşur. Solunum bölümü, gaz değişiminin gerçekleştiği ve kanın oksijenlendiği yerdir [21].

Asinus, terminal bronşiyollerin distalindedir ve solunum bölümünün başlangıcını oluşturur. Asinus, terminal bronşiyoller, alveolar kanallar ve alveolar keselerden oluşur. Her respiratuar bronşiyol, karakteristik üzüm salkımı görünümünü oluşturan birkaç alveolar kanal ve alveolar kese meydana getirir. Alveolar keseler, solunum ağacının uçları ve gaz alışverişi bölgesidir [21].

Alveol epiteli, tip I pnömositler, tip II pnömositler ve seyrek fırçamsı kenar hücrelerinden oluşur. Alveol duvarlarında ayrıca kulüp hücreleri ve alveolar makrofajlar bulunur. Alveolar duvarlar, bitişik alveoller arasında iletişime izin veren Kohn porlarını içerir [22]. Bu porlar, havanın bir alveolden diğerine geçmesine izin verir. Kohn porlarının varlığı, havanın alveollere doğrudan girmesini engelleyen herhangi bir tıkanıklık varsa faydalı olabilir.

Tip I pnömositler alveol epitelinin %90-95'ini oluşturur. Tip I pnömositler gaz alışverişine izin veren, plaka benzeri yapılar şeklinde dizilmiş, skuamöz epitel hücreleridir. Frajil membranları, alveoller ve kan damarları arasında gaz geçirgenliğinin daha kolay olmasını sağlar. Tip I pnömositler solunumun primer yapıları olmalarına rağmen çoğalamazlar ve toksik yaralanmalara karşı çok hassastırlar [21].

Tip II pnömositler, alveollerde Tip I pnömositlerden sonra en sık görülen, alveol hücrelerinin %5-10'unu oluşturan hücrelerdir. Pulmoner sürfaktan salgıladıkları için hayati önem taşır. Sürfaktan, hava yolu açıklığını sürdürmek için gereklidir. Yüzey gerilimini düşürür ve inspirasyon sırasında alveollerin kollapsını engeller. Histolojik olarak, bu hücreler, depolanan sürfaktan sebebiyle köpüksü sitoplazmaya sahiptir. Tip II pnömositler mitotik olarak aktiftir ve hasar gören tip I pnömositlerin yerini alabilir. Tip II pnömositler, alveolar boşluğa çıkıntı yapan yuvarlak şekilleri ile tanınabilir [21].

Alveolar makrofajlar (veya toz hücreleri), alveolar boşluk içinde serbest olarak veya bazen alveolar duvara bağlı şekilde bulunabilir. Makrofajlar asinüslere inen partiküller için son savunma mekanizmasını oluşturur. Sigara içenlerin akciğerlerinde

görülen siyah boyanma, makrofajların solunum yoluna giren partikülleri temizlemesinden ve sekestre etmesinden kaynaklanır.

Plevra göğüs boşluklarının içini kaplayan parietal plevra ve akciğer parankimini saran visseral plevra olmak üzere iki bileşenden oluşur [23]. Mikroskopik olarak, plevra beş katmandır. Plevral boşluğa en yakın katman hem visseral hem de parietal plevrada mezotel hücreleri ile döşelidir. Mezotel hücrelerinin altında ince bir bağ dokusu tabakası, yüzeysel bir elastik tabaka, yağ dokusu, damarlar, sinirler ve lenfatikler içeren gevşek, düzensiz bir bağ dokusu tabakası ve alttaki yapıya (akciğer, mediasten, diyafram veya göğüs duvarı) yapışan derin bir fibroelastik tabaka bulunur. Parietal plevrada bu beşinci tabaka endotorasik fasya olarak bilinir [23].

AKCİĞER KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ

En son GLOBOCAN tahminlerine göre, 2020'de dünya çapında 2,2 milyon yeni akciğer kanseri vakası teşhis edilmiştir. Akciğer kanseri erkeklerde prostat kanserinden sonra, kadınlarda ise meme kanserinden sonra en yaygın ikinci kanserdir. Yaşam boyu akciğer kanseri riski, erkeklerde %3,8 ve kadınlarda %1,77'dir [1, 24]. Akciğer kanseri insidansı ve ölüm oranı erkeklerde kadınlara göre dünya genelinde yaklaşık iki kat fazladır; Türkiye'nin de aralarında bulunduğu bazı bölgelerde bu oran çok daha yüksektir [24].

Akciğer kanseri, sigara içmenin yaygın olduğu gelişmekte olan ülkelerde en yüksek insidansa sahiptir. Erkeklerde Rusya, Çin ve Doğu Avrupa, Orta Doğu ve Güneydoğu Asya dahil 37 ülkede en yaygın olan kanserdir. Yalnızca Kuzey Kore'de kadınlar arasında en sık görülen kanserdir. Erkekler arasında Mikronezya/Polinezya ve Macaristan en yüksek insidansa sahip ülkelerdir. Kadınlar arasında, Kuzey Amerika ile Kuzey ve Batı Avrupa, dünya çapında en yüksek insidansın görüldüğü yerlerdir. Batı, Orta ve Doğu Afrika akciğer kanserinin en düşük insidansa sahip olduğu bölgelerdir [1].

National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) programına göre, 2020'de ABD'de tahmini 229.000 yeni akciğer kanseri vakası tanımlanmıştır. Akciğer kanseri tanısı tüm kanser tanılarının %12,7'sini oluşturmaktadır. 2020'de 45,6/100.000'lik mevcut insidans, 1992'de 69,5/100.000'lik insidans ile kıyaslandığında, büyük ölçüde sigarayı bırakmaya bağlı olarak düşüş

göstermiştir. Birçok Batılı ülkede benzer bir eğilim bildirilirken, Çin ve eski Sovyetler Birliği ülkeleri ile gelişmekte olan ülkelere sigarayı bırakma ve ilişkili olarak akciğer kanseri insidansında benzer bir düşüş başarısı görülmemiştir [25].

Akciğer kanseri, dünya çapında erkekler ve kadınlar arasında ayrı ayrı kanser ölümlerinin önde gelen nedenlerindedir. 2018'de akciğer kanseri, dünya çapındaki tüm kanser ölümlerinin %18,4'ünden sorumludur. Yaklaşık 1.761.000 ölüm bildirilmiştir. Bu ölümlerin 1.185.000'ini erkekler, 576.000'ini kadınlar oluşturur.

SEER verilerine göre, ABD'de akciğer kanseri için 2010-2016 yılları arasındaki en son 5 yıllık sağkalım oranı %20,5 dir. 1975'te bildirilen 5 yıllık sağkalım oranı ise %11,5'tir [25]. Sağkalımdaki artışlar muhtemelen daha erken teşhis ve hedefe yönelik ilaçlar (EGFR, ALK, ROS ve BRAF inhibitörleri) ile kemoimmünoterapi ilaçları (PD-1, PDL-1 ve CTLA-4 inhibitörleri) gibi tedavi modalitelerindeki gelişmelerden kaynaklanmaktadır [26].

ABD'de, tanı anında lokalize hastalığı olanlarda (evre I-II) 5 yıllık sağkalım %59,0 iken, rejyonel (evre III) hastalığı olanlarda bu oran %31,7'ye ve metastatik (evre IV) hastalarda %5,8'e düşmektedir [1]. ABD'deki akciğer kanseri vakalarının %57'sine metastaz sonrası tanı konmaktadır [25].

ABD'de akciğer kanseri tanısı için ortalama yaş, erkekler ve kadınlar için 70'tir. Vakaların yaklaşık %53'ü 55-74 yaşları arasında meydana gelirken, yaklaşık %37'si 75 yaş ve üzerinde görülmektedir [27].

AKCİĞER KANSERİ ETYOLOJİSİ

Akciğer tümörlerinin etyolojisinde sigara öyküsü, hava kirliliği, viral enfeksiyonlar, geçirilmiş akciğer enfeksiyonları, mesleki maruziyet, immünolojik ve genetik faktörler gibi pek çok faktör rol oynamaktadır.

Batı dünyasındaki akciğer kanseri vakalarının %80'den fazlasının sigara ilişkili olduğu düşünülmektedir. Tütünün yanması ile polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve N-nitrozaminler dahil olmak üzere 60'tan fazla bilinen kanserojen madde ortaya çıkar. Bu bileşikler, kullanımdan yıllar sonra karsinogenez riskini artıran deoksiribonükleik asit (DNA) hasarına ve mutasyonlara neden olur [1].

Pasif içiciliğe bağlı duman maruziyeti de benzer şekilde akciğer kanseri riski ile doza bağımlı bir ilişki göstermiştir. Pasif sigara içicileri dumandaki belirli

kanserojenlere, sigara filtreleri nedeniyle, sigara içen kişilere göre daha yüksek konsantrasyonlarda maruz kalır [28]. Sigara içenlerin sigara içmeyen eşlerinde akciğer kanseri riskinin %20-30 oranında arttığı bilinmektedir.

Esrarın yanmasıyla, katran ve poliaromatik hidrokarbonlar gibi kanserojen maddelerin, tütünün yanmasına kıyasla daha yüksek miktarda ortaya çıktığı bilinmektedir. Esrar kullanımının, tütüne benzer şekilde bronş epitelinde premalign histolojik değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir [29].

Mesleki karsinojenlere maruziyet, küresel akciğer kanseri vakalarının yaklaşık %5-10'unda mevcuttur. Bunun en yaygın nedeni asbesttir [30]. Asbest, genellikle inşaatlarda kullanılan, alev geciktirici özelliği bulunan bir mineraldir. Asbestin akciğerlerde lif biriktirdiği bilinmektedir. Asbest pnömokonyoz, akciğer kanseri ve mezoteliyoma gibi çeşitli akciğer patolojileri ile ilişkilendirilmiştir [31]. Kuzey Amerika'da düzenli olarak asbestle çalışan, ancak sigara içmeyenlerde akciğer kanseri oranı 3,5 kat arttığı bulunmuştur. Asbestin tütün içimi ile akciğer kanseri üzerinde sinerjik bir etkisi mevcuttur. Bir kohort çalışmasında bu sinerjik etkinin akciğer kanseri riskini 14,4 kat arttırdığı bildirilmiştir [32].

Radon, mutajenik özellikleri olan, topraktaki uranyumun bozunmasıyla doğal olarak ortaya çıkan bir gazdır. Yüksek uranyum konsantrasyonuna sahip coğrafi bölgelerde, bodrum ve madenler gibi yer altı ortamlarda radon maruziyeti artar. Metal veya uranyum madenciliği yapan yeraltı işçilerinde, akciğerlerde ve diğer organlarda SCC riskinde belirgin şekilde artış bildirilmektedir [33]. Sigara içmeyenlerde akciğer kanseri vakalarının %30 kadarı radon ile ilişkilidir [34].

Kötü hava kalitesi akciğer kanseri için risk faktörleri arasındadır. Hava kalitesini fosil yakıtların yanmasından kaynaklanan ve havada asılı kalan kanserojen maddeler belirler. Araç dumanına kronik olarak maruz kalan kamyon şoförlerinde akciğer kanseri riskinin %50 arttığı bildirilmiştir [35]. ABD'deki büyük şehirler üzerinde yapılan bir çalışmada, havada en yüksek partikül madde seviyelerine sahip 6 şehir arasında akciğer kanseri riskinin %40 arttığı saptanmıştır [36].

Yakma ürünlerinden kaynaklanan kapalı alan hava kirliliğine maruziyet, özellikle odun ve odun kömürünün yaygın olarak kullanıldığı kırsal topluluklarda fazladır. Çalışmalar, bu tür pişirme alanlarının havalandırılmasının akciğer kanseri riskini %50'ye kadar azaltabildiğini belirtmiştir [36].

Arsenik, International Agency of Research on Cancer (IARC) tarafından grup 1 kanserojen madde olarak sınıflandırılmış ağır bir metaldir. Maruziyetin primer kaynağı, inorganik arseniğin yeraltı suyuna sızmasıdır. Arseniğe özellikle tarım ve sanayi işçileri maruz kalmaktadır [37]. IACR verilerine göre arsenik, insanlarda deri, akciğer, mesane, prostat, böbrek ve karaciğer kanserlerinde rol oynamaktadır [38]. 1950 ve 1970'lerde, Şili'nin bazı bölgelerinde yaşayan insanlar, içme sularında artan arsenik seviyelerine maruz kalmış ve sonraki 50 yıl içinde bu popülasyonda akciğer kanseri ölüm riskinin 3,6 kat arttığı gösterilmiştir [39].

Solunum yolu enfeksiyonu sırasında oluşan inflamatuvar yanıt ve hücrel hasar, akciğer karsinogenezinde rol oynayabilir. Küresel bir enfeksiyöz ölüm nedeni olan tüberkülozun, bir meta-analiz'e [40] göre akciğer kanserine sebebiyet verme olasılığı %1,76 olarak bildirilmiştir. HIV, sigara içme durumundan bağımsız olarak akciğer kanseri riskini 2,5 kat artırır. En olası patojenik mekanizma, immünoşüpresyon ve bozulmuş kanser sürveyansıdır. İmmünoşüpresif tedaviler alan organ nakli alıcıları, benzer şekilde yüksek akciğer kanseri oranlarına sahiptir [41].

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ile ilişkili inflamasyon ve skar, bağımsız olarak akciğer kanseri gelişme riskini artırır. KOAH'ın akciğer kanseri riskini artırabileceği mekanizmalar arasında, DNA hasarıyla sonuçlanan oksidatif stres, inflamatuvar sitokinlere uzun süre maruz kalma, DNA onarım mekanizmalarının baskılanması ve artmış hücrel proliferasyon yer alır [42]. KOAH, akciğer kanseri için sigara dışında en yaygın bağımsız risk faktörüdür ve akciğer kanseri riskini 6-13 kat artırır [42, 43].

Tütünden bağımsız olarak akciğer kanserinin kalıtsal bir bileşeni de olduğu düşünülmektedir. Orta ve Doğu Avrupa'dan yapılan meta-analizlere göre pozitif bir aile öyküsü akciğer kanseri riskini 1,7 kat artırmaktadır [44]. Birinci derece akrabaları arasında akciğer kanseri olanlarda risk 2-4 kata çıkmaktadır [45]. Akciğer kanseri genomu ile ilgili geniş çaplı çalışmalar, kalıtsal akciğer kanseri riskinin artmasını çeşitli kromozomal bölgelerle ilişkilendirmiştir. Bunlar, telomeraz reverse transkriptaz (TERT) genini içeren 5p15 lokusu [46], G-protein sinyalleşmesini düzenleyen 6p21 lokusu [47] ve nikotin bağımlılığını arttırdığı gösterilen 15q25-26 lokusudur [48]. Bazı bireylerde germline patojenik genetik değişiklikler akciğer kanseri gelişme riskinde artış ile ilişkilendirilmiştir. Akciğer kanseri için iki ana

duyarlılık sendromu tanımlanmıştır. Her iki sendrom AK alt tipi ile ilişkilidir. Sendromlardan birisi TP53 tümör baskılayıcı geninde germline mutasyon izlenen Li-Fraumeni sendromudur. Bu sendrom akciğer kanseri dışında meme kanseri, sarkom, gliom ve lösemi gelişim riskini artırır. Bir diğer sendrom ise EGFR varyantlarının, özellikle T790M'nin neden olduğu EGFR duyarlılık sendromudur. Bu sendromda riskin akciğer kanseri ile sınırlı olduğu belirtilmiştir [49]. Aile öyküsü ve genetik riskin dikkate alınması, özellikle sigara içiciliği gibi komorbid risk faktörleri olanlarda erken tarama programlarının etkinliğini artırabilir [45].

AKCİĞER TÜMÖRLERİ

Epitelyal Tümörler

Papillomlar

Skuamöz hücreli papillomlar, glandüler papillomlar ve mikst tip papillomlar olmak üzere kabaca üç tiptir. Genellikle santral bronş yerleşimlidir, nadiren periferik bronşlarda görülür [50]. HPV papillomatöz lezyonlar ve skuamöz papillomların etyolojisinde rol oynar [51]. Basit skuamöz papillomlarda HPV 6 ve 11 serotipleri görülürken, HPV'nin 16, 18, 31, 33, 35 suşları ise malign transformasyonda rol oynar [52]. Konak DNA ile viral genomun entegrasyonu p53 ve RB1'i baskılayan, E6 ve E7 onkoproteinlerin ekspresyonunda artışa sebep olarak karsinogenezi başlatır [51, 53].

Skuamöz Hücreli Papillom: Skuamöz epitel ile örtülü, gevşek fibrovasküler bağ dokusu korlarından oluşan papiller bir tümördür. Soliter veya multipl olabilir. Yüzey epiteli keratinizedir. Akantoz, parakeratoz ve intraepitelyal nötrofiller yaygındır [54].

Glandüler Papillom: Nonsilyer küboidal hücrelerle döşeli, arada goblet hücreleri de içerebilen papiller bir tümördür. Hyalinize veya vasküler bir stroması vardır. Nükleer atipi, mitoz ve nekroz izlenmez.

Mikst Skuamöz ve Glandüler Papillom: Skuamöz ve glandüler epitelin bir arada bulunduğu endobronşiyal papiller bir tümördür. Lezyonun bu tanıyı alabilmesi için her iki epitel komponenti toplam lezyon hacminin en az üçte birini oluşturmalıdır [55].

Adenomlar

Sklerozan Pnömositom: Sklerozan pnömositom solid, papiller, sklerotik ve hemorajik paternler gösteren pnömosit kökenli bir tümördür. Soliter, periferik yerleşimli bir lezyondur. Nadiren çok sayıda endobronşiyal lezyonlar olarak da görülebilir [56]. Hastalar asemptomatiktir ve lezyonlar tesadüfen fark edilir. Radyografide çoğunlukla soliter, iyi sınırlı bir lezyondur. Nadiren kalsifikasyon veya kistik değişiklik gösterebilir [57]. Patogenezi tam olarak bilinmemekle beraber moleküler çalışmalarda hem yüzey hücrelerinde hem de oval hücrelerde aynı monoklonal model görülmüştür. AKT1 gen değişiklikleri neredeyse tüm sklerozan pnömositomlarda saptanmış ve seçilmiş vakalarda tanı için faydalı olduğu belirtilmiştir [58]. Sklerozan pnömositom histopatolojik olarak neoplastik küboidal yüzey hücreleri ve neoplastik oval stromal hücreler olmak üzere iki hücre tipinden oluşur. Solid, papiller, sklerotik ve hemorajik paternlerin kombinasyonu şeklinde görülebilir [59]. İmmünohistokimya (İHK)'sal olarak epitelyal membran antijen (EMA) ve tiroid transkripsiyon faktör-1 (TTF-1) her iki hücre tipinde pozitif iken, pansitokeratin, CAM5.2, sitokeratin 7 (CK7) ve napsin A yüzey hücrelerinde pozitif, ancak oval hücrelerde negatif veya zayıf pozitifdir [60]. Benign bir tümördür. Nadiren uzak metastaz yapsa da bu durum prognozu olumsuz etkilemez [61].

Alveoler Adenom: Alveoler adenom iğsi bir stroma içerisinde tip 2 pnömositlerle dōşeli kistik boşluklar oluşturan iyi sınırlı bir tümördür. Tipik olarak periferik yerleşimli ve soliterdir. Nadiren hiler bölge yerleşimli olabilir [62]. Çoğunlukla tesadüfen saptanır. Radyolojik olarak iyi sınırlı, homojen ve kalsifikasyon izlenmeyen bir lezyondur. BT ve MRI görüntülemelerinde kistik boşluklar saptanabilir [63]. Karakteristik moleküler profil tespit edilmemiştir. Epitelyal komponentte mikrosatellit anormallikleri izlenmiş, ancak stromal komponentte görülmemiştir [64]. Makroskopik olarak lezyon 6-70 milimetre (mm) boyutunda, iyi sınırlı, multikistik ve sarı-ten renkli bir lezyondur [62]. Histopatolojisinde alveoler boşluklara benzeyen çok sayıda kistik boşluğu dolduran eozinofilik granüler materyal bulunur. Kist yüzeyleri küboidal epitelyal hücreler olan tip 2 pnömositlerle dōşelidir. Stroma ise miksoid, kollagenöz ve iğsi hücreler içerir [65]. Yüzey hücreleri TTF-1, napsin A ve sürfaktan pozitifdir. Stromal hücreler ise düz kas aktin (SMA) ile fokal, S100 ve CD34 ile nadiren

pozitiflik gösterir [65]. Benign bir lezyondur ve tedavide cerrahi eksizyon yeterlidir [65].

Papiller Adenom: Papiller adenom fibrovasküler bir koku döşeyen monomorfik kolumnar hücrelerden oluşan papiller bir neoplazmdır. Periferik yerleşimli soliter bir lezyondur [66]. Patogeneğinde pulmoner kök hücrelerin, tip 2 pnömositler ve kulüp hücrelerine bidiferansiye olduğu düşünülmektedir [67]. Makroskopik olarak 2-60 mm boyutunda iyi sınırlı, kapsülsüz, sarı-ten renkli bir lezyondur [68]. Histopatolojik olarak nükleer atipi ve mitoz izlenmeyen tek sıralı küboidal epitel tabakası ile örtülü fibrovasküler korlardan oluşan nodüler iyi sınırlı bir lezyondur. Ki67 proliferasyon indeksi düşüktür [66]. TTF-1, pansitokeratin, CK7 ve EMA ile yüzey epitel hücreleri pozitif, stromal hücreler ise negatiftir [68]. Sklerozan pnömositom iki hücre tipi içermesi ile [68], alveoler adenom papiller arşitektür göstermeyip iğsi stromaya sahip olması ile [65], papiller AK infiltratif büyüme paterni, daha yüksek proliferasyon indeksi, atipi ve mitoz içermesi ile papiller adenomdan ayrılır. Papiller adenom benign bir lezyondur ve tedavide rezeksiyon yeterlidir [68].

Bronşiyal Adenom/Silyalı Mukonodüler Papiller Tümör: Bronşiyal adenom kesintisiz bir bazal hücre tabakasının üzerine oturan iki tabakalı bronş epitelinden oluşur. Benign, periferik bir akciğer tümörüdür. Radyolojik olarak tesadüfen tespit edilir. Solid veya buzlu cam görünümlü bir nodül oluşturur. Bazılarında kavitasyon görülebilir [69]. En sık BRAF sürücü mutasyonu görülürken; EGFR, HRAS, KRAS ve ALK sürücü değişiklikleri de rapor edilmiştir [70]. Makroskopik olarak kesi yüzleri solid, kistik veya mukoid olabilen, sarı-ten renginde, 2-45 mm boyutunda bir lezyondur. Histopatolojisinde papiller veya glandüler arşitektür gösteren üstte lüminal hücreler, altta bazal hücreler ile döşeli iki tabakalı bir proliferasyon görülür. Yüzey hücrelerinde tip 2 pnömositler, kulüp hücreleri, mukus hücreleri veya silyalı hücrelerden bir tanesi baskındır. Atipi ve mitoz izlenmez [69]. Bazal hücre tabakaları P40 ve CK5/6 ile, lüminal hücreler ise TTF-1 ile pozitifdir [69]. Atipi olmaması ve kesintisiz bazal hücre tabakasının olması ile AK'dan ayrılır [71]. Papillom ise bronşiyal adenomların aksine santral yerleşimli ve endobronşiyal bir lezyondur. Peribronşiyal metaplazi sınırları belirsiz, küçük ve daha çok interstisyel akciğer hastalığı veya küçük hava yolları hasarına bağlı multipl bir süreçtir. Bronşiyal adenom atipik adenomatöz hiperplazi ile ilişkili değildir [72]. Bronşiyal Adenom/Siliyer

Mukonodüler Papiller Tümör benign bir tümördür, rezeksiyonlarından sonra nüks veya metastaz bildirilmemiştir [73].

Müsinöz Kistadenom: Müsinöz kistadenom belirgin atipi ve invazyon göstermeyen, müsinöz kolumnar hücrelerle döşeli kistik bir kitledir. Tümör fibröz bir duvarla çevrili, müsin dolu lokalize kistler şeklinde görülür. Kist epiteli kısa küboidal veya uzun kolumnar hücrelerden oluşan tek sıralı müsinöz epiteldir. Nükleer atipi ve mitoz genelde görülmez. İnvazyon izlenmez [74]. Yüzey hücreleri pansitokeratin ile pozitif, TTF-1 ile genellikle negatiftir [74]. Ayırıcı tanıda en önemli antite kolloid AK'dur; invazyon, atipi ve nekroz görülmesi durumunda akla gelmelidir.

Mukus Gland Adenomu: Mukus gland adenomu serömüsinöz bronş glanlarını andıran, benign ve genellikle ekzofitik bir tümördür. Hastalar öksürük, hemoptizi ve tekrarlayan pnömoni semptomları ile başvurur [75]. Makroskopik olarak kıkırdak yüzeyinde sınırlı, eksofitik, solid veya kistik, kesi yüzü ten renginde veya pembe renkte görülen 8-68 mm boyutunda bir lezyondur [75]. Histopatolojisinde çok sayıda müsinöz materyal ile dolu kistik boşluklar bulunur. Bazen dilate olmayan mikroasiner, glandüler ve tübüler yapılarla birliktelik gösterebilir. Tümör hücreleri yassı, kolumnar veya küboidal morfolojide mukus salgılayan hücrelerdir. Hiperkromazi, pleomorfizm ve mitoz çoğunlukla izlenmez. Stromada genellikle iğsi hücreler görülürken, bazen hyalinize alanlar veya inflamatuvar hücreler içeren alanlar görülebilir. Epitel hücreleri EMA, sitokeratinler ve karsinoembriyonik antijen (CEA) ile pozitif, TTF-1 ile negatiftir. Stromal iğsi hücreler SMA ve S100 ekspresyonu gösterebilir [76]. İntermediate hücrelerin olmaması mukus gland adenomunu mukoepidermoid karsinomdan ayırır. Mukus gland adenomu benign bir tümördür ve tedavide rezeksiyon yeterlidir [77].

Prekürsör Glandüler Lezyonlar

Atipik Adenomatöz Hiperplazisi: Atipik adenomatöz hiperplazi hafif-orta derece atipi gösteren tip 2 pnömositler ve/veya kulüp hücrelerinin alveol duvarını kaplayan lokalize proliferasyonudur. Bazen lezyon bronşiyolde de bulunabilir. Genellikle periferik bir lezyondur, plevraya yakın yerleşim gösterir [78]. Lezyonların çoğu akciğer kanseri sebebiyle rezeksiyon yapılmış cerrahi materyallerde tesadüfen saptanır. Bilgisayarlı tomografilerde genelde geriye dönük incelemelerle tespit edilen

bu lezyonlar birkaç milimetrelik soluk nodüller olarak görülür [79]. Genellikle makroskopik olarak tespit edilmez, ancak bazen milimetrik boyutta sarı-ten rengi nodüller şeklinde saptanabilir. Histopatolojisinde hafif-orta derece atipi gösteren kulüp hücreleri ve/veya tip 2 pnömositlerin alveol duvarında proliferasyonu olduğu görülür. Kulüp hücreleri soluk eozinofilik sitoplazmalı kolumnar hücreler, tip 2 pnömositler ise vakuollü şeffaf sitoplazmalı küboidal hücrelerdir. Mitoz oldukça nadirdir [80]. Bu hücreler TTF-1 ile pozitifdir [81]. Atipik adenomatöz hiperplazi ile adenokarsinoma in situ (AİS) ayrımı zor olabilir. Mutlak bir kriter olmamakla birlikte AİS'ler boyut olarak daha büyüktür. Daha hücresel, kalabalık, homojen hücre popülasyonundan oluşur. AİS'de üst üste binen hücre grupları görülebilir. AİS alanı ile çevre epitel arasında daha keskin bir geçiş vardır [82]. Yine atipik adenomatöz hiperplazi ayırıcı tanısında reaktif pnömosit hiperplazisi akılda tutulmalıdır. Reaktif pnömosit hiperplazisi genellikle parankimal inflamasyon ve fibrozise sekonder olarak ortaya çıkar [82]. Atipik adenomatöz hiperplazi tanısı lezyon çıkarılmadan konmadığı için AK'a ilerlemesini gösteren objektif veri yoktur. Bununla birlikte multipl akciğer kanserli hastaların rezeksiyon materyallerinde, komşu parankimde daha fazla atipik adenomatöz hiperplazi alanı görülmesi bu lezyonların akciğer AK'una ilerlediğine destekçi bir bulgudur [83]. Atipik adenomatöz hiperplazide akciğer AK'unun öncü lezyonu olduğunu destekleyen, KRAS, EGFR ve BRAF sürücü mutasyonları rapor edilmiştir [84]. Bu lezyonda NTRK gen ile ilişkili İngilizce literatürde bulgu mevcut değildir.

Adenokarsinoma İn Situ: AİS var olan alveoler yapıların sınırlı bir alanda neoplastik hücrelerle döşendiği invaziv özellikleri olmayan AK'dur. Genellikle plevraya yakın alanda, periferik yerleşimlidir [85]. Otuz milimetreye kadar ulaşabilen ancak genellikle 20 milimetreden küçük olan bu lezyon, çoğunlukla farklı sebeplerle çekilen bilgisayarlı tomografilerde tesadüfen tespit edilir. Genellikle solid lezyonlar olarak görülmez [86]. AİS, atipik adenomatöz hiperplazi ve minimal invaziv adenokarsinom (MİA) arasında bir formdur; EGFR, KRAS gibi sürücü mutasyonlar içerebilir [87]. Makroskopik olarak 30 milimetreden küçük, kesi yüzü ten renginde ve genellikle hava dolu boşluklar içeren bir lezyondur. İnvazyon olmadığını kanıtlamak için lezyonun tamamının örneklenmesi gerekir. Histopatolojisinde mevcut alveoler yapıları lepidik paternde döşeyen neoplastik hücreler görülür. Stromal, vasküler ve

plevral invazyon görülmez, nekroz izlenmez [88]. Neoplastik hücreler genellikle tek tabaka halinde alveolleri döşer. Bazen hafif tabakalanma ve hücrelerin üst üste bindiği görülür. Hücreler papiller ya da mikropapiller yapılar oluşturmaz, ancak atipik adenomatöz hiperplazide görüldüğü gibi küçük tomurcuklanmalar yapabilir. Tümör içinde, alveollerin içinde veya çevreleyen parankimde tümör hücreleri bulunmaz [88]. TTF-1 ve napsin A ekspresyonu gösterir. AİS, nonmüsinöz ve müsinöz olmak üzere iki alt tipten oluşur. AİS'lerin çoğu nonmüsinöz'dür. Nonmüsinöz tip, tip 2 pnömosit ve kulüp hücrelerinin farklılaşmasıyla ortaya çıkar. Müsinöz tip ise bazal yerleşimli nükleusları olan ve bol miktarda intrasitoplazmik müsin barındıran kolumnar hücrelerden oluşur. Bazen goblet hücreleri eşlik edebilir. Nükleer atipi nonmüsinöz AİS'te nispeten daha belirgindir [88]. Nonmüsinöz AİS, AK-lepidik patern ve atipik adenomatöz hiperplaziden ayırt edilmelidir. Müsinöz AİS ile müsinöz adenokarsinom ayırımında 30 mm eşik değeridir. Otuz mm'den küçük ve invazyon göstermeyen lezyonlar için müsinöz AİS kavramı kullanılmalıdır [89]. AİS sitolojik olarak küçük, monomorfik nükleuslu, ince kromatinli, nispeten düşük dereceli özellikler gösteren hücrelerden oluşur [90]. AİS'li hastalarda rezeksiyon sonrası nüks veya metastaz gözlenmez. On mm'den küçük lezyonlarda yakın klinik takip yeterlidir. Boyut daha büyükse rezeksiyon düşünülmelidir [91].

Adenokarsinomlar

Minimal İnvaziv Adenokarsinom: MİA baskın olarak lepidik patern gösteren ve 5 milimetreden daha küçük bir invaziv alan barındıran, 30 milimetreden küçük tümörler için kullanılan terimdir. Genellikle tesadüfen bilgisayarlı tomografilerde tespit edilir ve invaziv komponenti solid alan olarak dikkat çeker [92]. Histopatolojik olarak invaziv odak ölçülmeli ve 5 milimetreden küçük olmalıdır [93].

MİA erken evre bir AK olduğundan saptanan moleküler değişiklikler, tümörde görülen erken moleküler olayların tespiti açısından değerlidir. AİS'ten MİA'ya geçişte saptanan moleküler değişiklikler EGFR mutasyonu, TERT ve PDCD amplifikasyonu ile TGFBR2 baskılanmasıdır [94].

MİA'nın nonmüsinöz ve müsinöz olmak üzere iki alt tipi vardır. Nonmüsinöz MİA genellikle tip 2 pnömosit veya kulüp hücrelerinin farklılaşmaları ile oluşur. Müsinöz MİA'da ise bol apikal müsinli kolumnar hücreler ve goblet hücreleri görülür

[95]. MİA'nın invaziv bileşeninde miyofibroblastik stromayı invaze etmiş asiner, papiller, mikropapiller ve/veya solid patern gösteren tümör hücreleri bulunur. Nonmüsinöz MİA, TTF-1 ve napsin A gibi pnömositik belirteçleri eksprese ederken, müsinöz MİA pnömositik belirteçler için negatiftir. Sıklıkla hepatosit nükleer faktör alfa (HNF- α) ve sitokeratin20 (CK20) ile pozitifdir [96]. Tümörün rezeksiyonu sonrasında nüks veya metastaz beklenmez [93]

İnvaziv Nonmüsinöz Adenokarsinom: İnvaziv nonmüsinöz AK, glandüler diferansiyasyon gösteren KHDAK'dur. Lepidik, asiner, papiller, mikropapiller ve solid alt tipleri vardır. Genel olarak periferik yerleşimlidir, bazen santral lokalizasyon gösterebilir. Görüntüleme başta küçük bir akciğer nodülü olarak ortaya çıkar ve ilerleyen dönemde solid bir tümöre dönüşür [97]. Solid bileşen tümörün invaziv komponentine, solid olmayan komponenti ise lepidik patern kısmına karşılık gelir [98]. Akciğer AK'ü diğer akciğer kanserlerinin aksine sigara içmeyen kişilerde, özellikle de kadınlarda görülebilir [99]. Patogenezinde EGFR ve KRAS sürücü mutasyonları gibi moleküler değişiklikler ve çoklu tümör süpresör genlerin beraber rol oynadığı düşünülmektedir [100]. EGFR(HER1)/RAS/PI3K yolu ve p53/RB1/p14/STK11 yolu gibi büyüme sinyal yolaklarının aktivasyonu görülebilir [101]. Akciğer AK'larının küçük bir bölümü ise ALK füzyonu gibi genetik rearanjmanlar tarafından indüklenir [102].

Makroskopik olarak akciğer AK'ları antrakoz pigmenti ve santral skar barındıran, çevre plevrayı çekintiye uğratan, beyaz-gri birbiri ile birleşme eğiliminde nodüller olarak görülür [87].

Histopatolojik olarak akciğer AK'ları genellikle lepidik, asiner, papiller, mikropapiller ve solid arşitektürel yapıların karışımından oluşur. Baskın paterne göre alt tiplere ayrılır [88].

Lepidik paternde, alveol duvarı boyunca büyüyen neoplastik tip 2 pnömositler ve kulüp hücreleri mevcuttur. Lepidik AK'da 5 mm'den daha büyük bir invazyon bileşeni mevcut olabilir. Minimal invaziv AK ile lepidik AK karışabilir. Otuz milimetreden büyük tümörler lepidik AK olarak sınıflandırılır. Alveol duvarı boyunca yayılan tümör 30 milimetreden küçük ve 5 milimetreden büyük parankimal invazyon alanı içeriyorsa, anjiolenfatik invazyon veya plevra invazyonu, nekroz mevcutsa, lepidik AK olarak kabul edilir [93].

Asiner patern miyofibroblastik stroma içerisinde, oval nükleuslu neoplastik hücrelerin döşediği lüminal boşluklardan oluşan, düzensiz sınırlı glandüler yapılar şeklindedir [103]. İntrasitoplazmik veya lüminal müsin görülebilir. Miyofibroblastik stroma içindeki neoplastik glandüler yapılar arka plandaki akciğer alveoler arşitektürünün yerini alırken, lepidik paternde alveoler arşitektür korunmuştur. Asiner paternin bir formu olan kribriform patern araya giren stroma olmaksızın tümöral glandların sıkıştırılarak çoklu boşluklar oluşturduğu paterndir ve kötü prognozla ilişkilendirilir [104].

Papiller patern fibrovasküler bir kor yüzeyi boyunca tümör hücrelerinin proliferasyonudur [103]. Lepidik AK tanjansiyel kesitleri kollaps olan dokuda papiller patern ile karışabilir [105]. Papiller AK papiller yapıların boyutu ve sitolojik derecesine göre değişkenlik gösteren prognostik bir spektrum gösterir [106]. Kohortunda 674 akciğer AK' u olan bir çalışma [106] papiller patern gösteren akciğer AK' larını üç alt tipe ayırmıştır. Tip 1' de belirgin elastik lif yıkımı görülen küçük-orta büyüklükte papiller yapılar ve hafif nükleer atipi; tip 2' de belirgin stromal proliferasyon, orta büyüklükte papiller yapılar ile orta dereceli nükleer atipi; tip 3' de ise belirgin boyut ve şekil farklılığı gösteren papiller yapılar ile belirgin nükleer atipi ve pleomorfizm mevcuttur [106]. Mevcut çalışmada tip 3 paternine sahip tümörlerin daha kötü sağkalım, daha ileri evre, lenf nodu metastazı, uzak metastaz ve daha yüksek proliferasyon indeksine sahip olduğu bildirilmiştir [106].

Solid patern tabakalar şeklinde dizilmiş lepidik, asiner, papiller ve mikropapiller arşitektür göstermeyen poligonal tümör hücrelerinden oluşur. Bu tümörlerde glandüler diferansiasyonu doğrulamak için İHK' sal olarak TTF-1 ve napsin A gibi pnömositik belirteçlerin pozitifliği ve p40' ın negatifliğinin görülmesi gerekir. Histokimyasal müsin boyaları d-PAS veya müsikarmen ile pozitiflik tanıya yardım eder [88]. Solid paterndeki tümörlerde bahsedilen histokimyasal belirteçler ile yaklaşık 0.4 mm²' lik bir alanda 5 veya daha fazla sayıda hücrede müsin görmek tanı koydurucudur [88].

Mikropapiller patern duvar ile bağlantılı ve/veya bağlantısız fibrovasküler kor içermeyen, küçük papiller kümelerde büyüyen tümör hücrelerinden oluşur. Yuvarlak şekilli glandüler yapılar alveol içlerinde yüzebilir. Psammom cisimleri görülebilir [88]. Lepidik, asiner ve papiller patern izlenen alveol boşluklarında mikropapiller patern varlığı, kötü prognozla ilişkilidir [107].

Berrak hücre ve taşlı yüzük hücre değişiklikleri diğer tüm paternler ile birlikte görülebilen özelliklerdir [88]. Bu nedenle bunlar kapsamlı histolojik paternlere dahil edilmez. Ancak bu paternlerin yüzdesinin verilmesi nüks veya metastaz durumlarında ilk tümör ile karşılaştırma açısından fayda sağlar.

Bir akciğer tümöründe hava yolu yayılımı, ana tümörün çevresinde akciğer parankimindeki hava boşlukları içerisinde tümör hücre kümelerinin görülmesi olarak tanımlanır [108]. Hava yolu yayılımı mikropapiller, solid veya diskoheziv tek hücreler şeklinde 3 morfolojik paternde görülebilir [108]. Havayolu yayılımı tüm histolojik alt tipleri için kötü klinik sonuçla ilişkilidir [108].

İHK akciğer AK'ında primer-metastaz ayrımı için yararlı bir yardımcıdır. Akciğer AK'ı için %100 duyarlılık ve özgüllüğe sahip bir belirteç olmasa da TTF-1 ve napsin A vakaların çoğunda pozitifdir [109]. Özellikle cerrahi rezeksiyon materyallerinde TTF-1'in napsin A'ya kıyasla daha iyi bir performansı vardır [110]. Ayrıca TTF-1'in nükleer reaktivite göstermesi yorumlamayı kolaylaştırmaktadır [110]. TTF-1'in uygulanan protokol ve kullanılan klona göre duyarlılığı ve özgüllüğü farklılık gösterebilmektedir. Yüzde 5'ten fazla pozitif reaktivite gösteren tümörlerde TTF-1 duyarlılığı %80, özgüllüğü ise %90 olarak belirlenmiştir. TTF-1 için tümör hücrelerinin %5 ve üzerindeki immünreaktivitesi pozitif olarak kabul edilmektedir [110]. TTF-1 ile pozitif boyanan sınırlı bir odak olması bile glandüler farklılaşmaya işaret eder. P40 ve TTF-1 ile çift pozitif boyanan olgularda bu bulgu genellikle AK lehinedir, ancak adenoskuamöz karsinom (ASK)'da akılda tutulmalıdır [110]. AK'ların yaklaşık %20-30 kadarında p63 ile immünreaktivite görülebilir. P40 ise çok daha nadir olarak fokal ve zayıf boyanma gösterebilir [110]. CK7 ise akciğer AK'da TTF-1 ve napsin A'ya kıyasla %50-93 arasında değişen düşük özgüllük, % 92-100 arasında yüksek duyarlılık göstermektedir [110]. TTF-1'in en yaygın kullanılan klonları fare monoklonal antikorları SPT24 ile 8G7G3/1 ve tavşan monoklonal antikor SP141'dir [110]. Akciğer AK'da SPT24'ün 8G7G3/1'e göre duyarlılığının daha fazla olduğu bildirilmiştir. SP141'e ait çok fazla çalışma bulunmasa da duyarlılığının SPT24 ile benzer olduğu düşünülmektedir [110].

Akciğer AK'larında derecelendirme baskın histolojik paterne göre ve prognoz ile ilişkilidir. Lepidik patern iyi, asiner ve papiller patern orta, solid ve mikropapiller patern kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir. Lepidik baskın AK'da kötü prognostik

paternler %20'nin altındaysa iyi diferansiye, asiner veya papiller baskın AK'da kötü prognostik paternler % 20'nin altındaysa orta derece diferansiye, herhangi bir paternde %20'nin üzerinde kötü prognostik patern mevcut AK ise kötü diferansiye olarak sınıflandırılır [88].

Akciğer AK'ların ayırıcı tanısına diğer primer akciğer kanserleri, mezoteliyoma, akciğer AK'nın intrapulmoner metastazı ve uzak metastazlar girer. Diğer akciğer kanserlerinden ayırmada morfoloji ve İHK genellikle yeterlidir. İntrapulmoner metastaz ayırımında ilk primerin morfolojik özellikleri ile benzerliği yanısıra karşılaştırmalı moleküler profil de yardımcı olabilir [111]. Akciğer dışı metastazlardan ayırımı morfolojik bulgular, immün fenotipleme ve moleküler bulgular yanısıra radyolojik ve klinik korelasyona dayanır.

Akciğer AK'nın sitolojisinde vakuollü sitoplazmalı, nükleer oluklar, intrasitoplazmik ve intranükleer inklüzyonlar içeren, belirgin nükleollü hiperkromatik olmayan nükleuslu hücreler bulunur [112].

Akciğer AK'ında evre, tedavi seçiminin belirlenmesinde ve prognoz tayininde önemlidir. Tümör boyutu 25 milimetreden büyük, solid veya mikropapiller paternli tümörler kötü prognozlu iken, evre 1 lepidik patern AK'ın prognozu mükemmeldir [113].

Akciğer tümörleri çoğunlukla birbirini dışlayan sürücü mutasyonlara sahiptir. EGFR mutasyonu ALK/ROS1/RET rearanjmanı, BRAF p.V600E mutasyonu saptanan tümörlerde hedefe yönelik tedaviye yanıt olasılıkları güçlüdür [114].

İnvaziv Müsinöz Adenokarsinom: İnvaziv Müsinöz Adenokarsinom (İMA) intrasitoplazmik müsin içeren kolumnar veya goblet hücre morfolojisinde primer bir akciğer tümörüdür. Sıklıkla periferik yerleşimli ve multifokaldır [115]. Görüntülemeye solid, semisolid ve pnömoni benzeri gibi tutulumlar yapabilir [116]. Akciğer AK'larının yaklaşık %3-10'u İMA'dır [113]. İMA'lar en sık KRAS sürücü mutasyonu yolu ile gelişir [117]. KRAS mutasyonu olmayanlarda en çok NRG1 füzyonu ve PI3K/AKT sinyal yolağı aktivasyonu görülür [118]. Makroskopik olarak İMA iyi sınırlı, içerisi jelatinimsi mukoid materyal ile dolu bir lezyondur. Histopatolojisinde bazal yerleşimli nükleusları olan ve intrasitoplazmik müsin içeren goblet hücreleri ve/veya kolumnar hücreler görülür. Çevre alveol boşluklarında müsin birikimi izlenir. İMA'lar genellikle lepidik büyüme paterni gösterir. Bazı vakalarda

asiner, solid, papiller invazyon alanları da görülür [119]. Hem müsinöz hem nonmüsinöz komponent içeren tümörler, her iki komponent %10'un üzerinde ise mikst invaziv müsinöz ve nonmüsinöz AK olarak isimlendirilir. İMA İHK'sal olarak CK7 ekspresyona eder. Fokal odaklarda CK20 ve CDX2 koekspresyonu izlenebilir, ancak TTF-1 ve napsin A negatiftir [120, 121]. İMA morfolojik olarak benzer görünümlü akciğer dışı metastatik AK'lardan ayrılmalıdır. GATA-3 ve östrojen ekspresyonu memenin müsinöz karsinomunu, SATB2, CDX2 ve CK20 ekspresyonu müsinöz kolorektal AK'ı İMA'dan ayırmada yardımcıdır [121, 122]. İlk çalışmalar İMA'nın prognozunu, nonmüsinöz AK'lara göre orta-kötü olduğunu bildirmiştir [113].

Akciğerin Kolloid Adenokarsinomu: Kolloid AK dilate alveol boşlukları içerisinde geniş ekstraselüler müsin gölcükleri izlenen, akciğer parankimini destrüksiyona uğratan invaziv bir AK'dır. Genellikle periferik akciğer yerleşimlidir [123]. Görüntülemeye tesadüfen saptanır [124]. Makroskopik olarak kapsülsüz, soliter, jelatinimsi bir nodül şeklindedir. Boyutu 5 ile 100 mm arasındadır [125]. Tümör hücreleri taşlı yüzük morfolojisindeki hücrelerin de görüldüğü müsin dolu küboidal hücrelerdir. Tümör hücreleri iyi diferansiye görünümlü hücreler olabileceğinden özellikle küçük biyopsilerde tanısal zorluk oluşturabilir. İHK'sal olarak CK20, CDX2, MUC-2 gibi intestinal belirteçleri ekspresyona eder. CK7 ile pozitif boyanabilir, ancak TTF-1 ve napsin A gibi pnömositik belirteçlerle ya odaksal zayıf pozitif boyanır ya da negatiftir. [123, 126, 127]. Ayırıcı tanı diğer bölgelerin müsinöz AK'larının metastazlarını içerir. Akciğerin İMA'sında genellikle kolloid AK'da görülen alveol duvarını destrükte eden geniş müsin gölcükleri bulunmaz. Kolloid AK diyebilmek için tümörün %50'den fazlasının bu özellikte olması gerekir. Farklı bir komponentin eşlik etmediği kolloid AK'un prognozu tam bir rezeksiyon sonrasında genellikle iyidir [123].

Akciğerin Fetal Adenokarsinomu: Fetal AK psödoglandüler evre fetal akciğere benzeyen bir akciğer tümörüdür. Düşük dereceli ve yüksek dereceli olmak üzere iki tiptir. Düşük dereceli fetal AK tesadüfen saptanır. 10-120 mm arasında değişen boyutlarda, periferik yerleşimli, iyi sınırlı bir tümördür. Düşük dereceli tümör genellikle genç hastalarda, yüksek dereceli tümör ise sigara içen yaşlı hastalarda görülür [128]. Patogenezinde WNT sinyal yolağındaki aberan değişiklikler özellikle düşük dereceli tümörlerde önemli rol oynar [128]. Makroskopik olarak iyi sınırlı, solid,

gri-beyaz renkli lobüler bir tümördür [129]. Histopatolojisinde berrak-hafif eozinofilik, subnükleer vakuollü, glikojenden zengin sitoplazmalı psödostratifikasyon gösteren küboidal hücrelerden oluşmuş kompleks glandüler, kribriform ve tübülopapiller arşitektür sergileyen fetal akciğer benzeri morfoloji görülür [128]. Düşük dereceli fetal AK'da nispeten küçük, oval ve monoton nükleuslu ve düşük derecede nükleer atipi gösteren hücreler ile morül oluşumu mevcuttur [130]. Yüksek dereceli fetal AK'da ise daha belirgin nükleer atipi ve geniş nekroz alanları görülür. Morül oluşumu genellikle görülmez. Yüksek dereceli fetal AK genellikle yüksek dereceli nöroendokrin karsinom, hepatoid ve enterik karsinomlar ile diğer AK paternleri ile karıştırılabilir. Tanı için tümörün en az %50'sinin yüksek dereceli fetal AK komponenti taşıması gerekir [131]. Düşük dereceli tümörlerde Beta-katenin'in nükleer/sitoplazmik ekspresyonu görülürken, yüksek dereceli tümörlerde ise membranöz boyanma saptanır [132]. Düşük dereceli fetal AK'da TTF-1 genellikle pozitif saptanırken, yüksek dereceli fetal AK'ların %50'sinde TTF-1 negatiftir. Tüm fetal AK'larda nöroendokrin belirteçler pozitifdir. Yüksek dereceli tümörler AFP, SALL4 ve glipikan-3 gibi onkofetal protein ekspresyonu gösterir [133]. Düşük dereceli fetal AK'da CTNBB1 mutasyonu sık görülür [134]. Düşük dereceli fetal AK iyi bir prognoz gösterirken; yüksek dereceli fetal AK'da 5 yıllık sağkalım oranı %44'tür [129, 135].

Enterik Tip Adenokarsinom: Enterik tip AK kolorektal AK benzeri primer bir akciğer tümörüdür. Çoğu ileri evre hastalığı olan yaşlı ve sigara içen hastalardır [136]. Makroskopik olarak 10-115 mm arasında, gri beyaz renkli, iyi sınırlı ve coğrafik nekroz içeren bir tümördür [137]. Histopatolojisi tıpkı kolorektal AK gibi asiner, kribriform veya lümen içerisinde nekrotik hücreler izlenen tübülopapiller yapılar şeklindedir [136]. Hücrelerin nükleusları puro şekilli, kolumnar özelliktedir. Tümörün stroması genellikle desmoplastiktir ve sıklıkla inflamatuvar hücre infiltratları içerir. Enterik patern diğer paternler ile birlikte görülebilir; ancak tümörün %50 sinden fazlası enterik paternde ise enterik AK tanısı verilmelidir [136, 137]. İHK'sal olarak CK20 vakaların yarısında, MUC-2 üçte birinde, CDX2 ise çoğunda pozitifdir [138, 139]. TTF1 ekspresyonu olguların yarısından fazlasında görülmez. CK7 %80'ininden fazlasında eksprese edilir. Bu da kolorektal AK metastazı ayırıcı tanısında faydalıdır.

Ayrıca SAT-B2 ile nadiren pozitiflik görülür [138, 139]. KRAS mutasyonlarına enterik AK'da diğer AK'lardan daha fazla rastlanır [140].

Prekürsör Skuamöz Lezyonlar

Akciğerde Skuamöz Displazi ve Karsinoma İn Situ: Bronş epitelinde meydana gelen SCC öncülleridir. Hava yollarının herhangi bir yerinde ortaya çıkabilir, tek veya multipl olabilir [141]. Preinvaziv skuamöz lezyonlar sıralı genetik ve epigenetik değişikliklerden kaynaklanır. Erken evrede normal epitelde 3p ve 9p21'in heterozigot kaybı görülür. Sonrasında ise 8p21-p23, 13q14 (RB1), 17p13 (TP53), 5q21 (APC) bölgeleri etkilenir [142]. Makroskopik olarak 1-2 mm'lik polipoid bir lezyon, mukozada düzensizlik ve fokal kalınlaşma şeklinde görülebilir [143].

İrritan maddelere ve karsinojenlere maruziyet sonucunda epitelde önce bazal hücre hiperplazisi ve/veya skuamöz metaplazi gelişir. Bu lezyonlar preneoplastik lezyonlar olarak kabul edilmese de devam eden maruziyet sonucunda hafif, orta ve yüksek dereceli displazi ile skuamöz hücreli karsinoma in situya ilerleyebilir. Displaziler anjiogenik veya papiller olabilir ancak bu morfolojik paternlerin prognostik bir önemi yoktur [144, 145]. İHK'sal olarak preinvaziv skuamöz lezyonlar invaziv SCC'ye benzer profil gösterir; CK5/6, p40 ve p63 ile pozitifdir. Ki67 proliferasyon indeksinde ve p53 ekspresyonunda artış izlenir [146]. Şiddetli displazilerin yaklaşık %37'si, in situ olanların ise %88'i invaziv lezyonlara ilerler [147].

Skuamöz Hücreli Karsinom

Skuamöz Hücreli Karsinom: SCC, keratinizasyon, hücreler arası köprüleşme ve İHK'sal olarak da gösterilebilen skuamöz diferansiasyonun görüldüğü malign epitelyal bir tümördür. Daha çok santral yerleşimli olsa da yaklaşık üçte biri periferik yerleşimlidir. Periferik yerleşim insidansı gün geçtikçe artmaktadır [148]. Hastalar diğer akciğer kanserlerine benzer şekilde hemoptizi, öksürük ve tekrarlayan pnömoni semptomları ile gelir. Sigara ile ilişkisi AK'lara göre daha yüksektir [149]. Akciğer SCC'nin sık görülen moleküler değişiklikleri arasında 3p kazanımı; 7p, 8p ve 9p kaybı vardır [150]. Yaygın olarak mutasyon saptanan genler TP53, CDKN2A, PIK3CA, PTEN, KMT2 (MLL2), KEAP1, HLA-A, NOTCH1, NFE2L2 ve RB1'dir [151]. Ayrıca AK'larda daha sık görülen, sigara kullanmayan bazı SCC hastalarında EGFR ve ALK gibi genlerde sürücü mutasyonları saptanabilir [152].

Makroskopik olarak akciğer SCC sert, beyaz-gri renkli kesi yüzüne sahip, nekroza bağlı merkezi kavitasyon oluşturabilen bir tümördür. Histopatolojik olarak keratinize, nonkeratinize ve bazaloid olmak üzere üç alt tiptir.

Keratinize Skuamöz Hücreli Karsinom: Keratinize tipte keratinizasyon yanısıra hücreler arası köprüler görülür. Keratinizasyonun derecesi diferansiasyon ile ilişkilidir. Daha az diferansiye tümörlerde keratinizasyon sadece fokal görülebilir.

Nonkeratinize Skuamöz Hücreli Karsinom: Nonkeratinize tipte ise keratinizasyon görülmediği için skuamöz diferansiasyonun İHK'sal olarak gösterilmesi gerekmektedir. Birkaç hücrede görülen intrasitoplazmik müsin tanıyı dışlamaz.

Bazaloid Skuamöz Hücreli Karsinom: Bazaloid tipte skuamöz morfoloji olmaksızın periferik palisadlanma gösteren küçük-orta büyüklükte bazaloid hücreler mevcuttur. Ancak İHK'sal olarak skuamöz belirteçleri eksprese eder. Mitoz oranı yüksektir. Keratin inciler görülebilir. Rozet yapılar izlenebilir. Bazaloid bileşen %50'den fazla ise bazaloid SCC olarak isimlendirilir.

SCC ayrıca iğsi hücre ve berrak hücre değişiklikleri ile papiller, psödoasküler ve alveoler dolum paterni gibi olağan dışı morfolojik görünüm sergileyebilir. İHK'sal olarak p40 SCC'ler için en spesifik belirteç olarak kabul edilirken, yüksek moleküler ağırlıklı sitokeratinler, desmocollin, desmoglein ve p63 skuamöz diferansiasyon için daha az spesifiktir [110, 153]. P40'ın yaygın kullanımından önce p63 skuamöz diferansiasyonu göstermek için daha yaygın kullanılmaktaydı. Ancak akciğer AK'larının %20-30 kadarında, bazı sarkomlarda, myoepitelyal tümörlerde ve lenfomalarda p63 reaktivitesi görülebilir [110]. P63 ile immünreaktivite gösterebilen ancak p40 ile boyanmayan tümörler de mevcuttur. P63 pozitifliği küçük hücreli karsinoma karşı KHDAK tanısını desteklemektedir [110]. P40 için tümör hücrelerinin %50'sinden fazlasının immünreaktivite göstermesi pozitif boyanma olarak kabul edilir [110]. CK7 ile SCC'lerin %5-77'sinde immünreaktivite görülebilir [110].

Lenfoepitelyal Karsinom: Lenfoepitelyal karsinom genellikle EBV ile ilişkili, değişken bir lenfoplazmositik infiltrasyon ile birlirtelik gösteren, kötü diferansiye bir SCC'dir. Sıklıkla periferik yerleşimli bu tümörler nadiren intrabronşiyal bir bileşen barındırır [154]. Çoğu tesadüfen fark edilir. En sık hemoptizi ve öksürük ile kendini gösterir [154]. Nadir görülür. Daha çok genç, Asyalı, sigara içmeyen bireylerde

saptanır. Medyan görülme yaşı 51'dir [155]. Patogenezinde p53, EGFR ve KRAS mutasyonları ile ALK ve ROS translokasyonlarının görülmemesi KHDAK'lardan farklı bir tümöröenez mekanizmasının olduğunu düşündürür [154]. Makroskopik olarak oval, yuvarlak, soliter 10-110 mm arasında değişen boyutlarda bir tümördür [155]. Histopatolojisinde sinsityal bir büyüme paterni gösteren tümör adaları arasına yerleşmiş lenfoplazmositik infiltrasyon dikkat çeker. Nadiren SCC'nin histolojisine benzerlik gösteren, lenfoplazmositik infiltrasyonu daha sınırlı alanda görülen tümörler bulunabilir [155]. Fokal keratinizasyon ve amiloid birikimi görülebilir [155]. Tümör akciğer parankimine doğru itici bir patern gösterir [156]. İHK'sal olarak tümör hücreleri CK5/6, p40 ve p63 ile pozitifdir. Lenfositik infiltratta CD3 ve CD20 ile mikst boyanma saptanır. Ayırıcı tanıda az diferansiye KHDAK, nazofarenksin nonkeratinize SCC metastazı, NUT karsinom ve NonHodgkin lenfomalar akılda tutulmalıdır. Ayrıntılı bir klinik öykü ile metastaz olasılığı araştırılmalıdır. NUT negatifliği ile NUT karsinom; epitelyal belirteçlerin pozitifliği ile lenfoma ekarte edilebilir [154]. EBV'nin gösterilmesi genellikle EBER probu kullanılarak yapılan in situ hibridizasyon yöntemi ile sağlanır. Bu tümörlerde sağkalım KHDAK'a göre daha iyidir. Erken evre hastalarda tam rezeksiyon kür için primer yaklaşım iken; lokal ileri evre hastalar neoadjuvan/adjuvan kemoradyoterapi ve immünoterapi alabilir [157].

Büyük Hücreli Karsinomlar

LCC akciğerin SCC, AK ve küçük hücreli karsinomu gibi diğer karsinomların sitolojik, morfolojik ve İHK'sal özelliklerini taşımayan ve iri hücrelerden oluşan bir tümördür. Tanısı biyopsi veya sitoloji materyalleri ile konulmaz. Tanı içi tamamı örneklenmiş rezeksiyon materyali gerekir. Son SEER verilerine göre LCC tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %1,5'ini oluşturur [158, 159]. LCC diğer akciğer kanserleri ile benzer bir patogeneze sahiptir. Akciğer AK'larında görülen onkojenik sürücü değişiklikleri LCC'lerin üçte ikisinde tanımlanmıştır [160]. LCC'lerdeki genomik profilleme epitelyal mezenkimal geçişe bir kanıt oluşturmuştur. Bu durum diğer akciğer karsinomlarına kıyasla LCC'nin daha az diferansiye olmasıyla bağdaşmaktadır [161]. LCC'ler makroskopik olarak sıklıkla nekroz ve kavitasyon barındıran, büyük solid bir kitle şeklinde karşımıza çıkar. Histopatolojisinde genellikle tabakalar, yuvalanmalar ve solid adalar şeklinde gelişim gösteren bu tümörde veziküle

nükleuslu, nükleollerini belirgin, orta genişlikte sitoplazmaya sahip poligonol hücreler görülür [162]. Histokimyasal olarak müsin boyaları ile ~0,4 mm²'lik alanda 5'ten fazla müsin içeren hücre görülmemelidir. İHK'sal incelemede ise en uygun antikor çifti TTF-1 ve p40'tır. TTF-1 ve p40 ile boyanmayan tümörler 'LCC-null immüfenotip' olarak raporlanır. TTF-1 ile boyanma olmayan ancak odaksal p40 immünreaktivitesi olan olgular ise 'LCC-belirsiz immüfenotip' şeklinde belirtilmelidir. Eğer İHK uygulanamıyor ise 'LCC- ek boyalar yok' tanısı kullanılır [163]. Ayırıcı tanıda en önemli araç İHK'sal incelemedir. AK TTF-1 reaktivitesi ile, SCC yoğun p40 boyanması ile ve büyük hücreli nöroendokrin karsinom ise nöroendokrin belirteçleri eksprese etmesi ile LCC'den ayrılabilir [160]. Ayrıca LCC'yi sarkomlardan ve lenfomalardan ayırmak için sitokeratin pozitifliği kullanılabilir [164]. Prognozu diğer akciğer karsinomları gibi tanı sırasındaki evre ile çok yakın ilişkilidir. Ancak benzer evre AK ve SCC'lere kıyasla LCC-null immüfenotip tümörler daha kötü sağkalım göstermektedir [165]

Adenoskuamöz Karsinomlar

ASK tümör haciminin %10'undan fazlasını oluşturan hem SCC hem de AK komponenti içeren tümörler için kullanılan terimdir. Tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %2-3 kadarı ASK'dır [166]. Farklı iki morfolojik tip gösteren bu tümörün patogeneğinde bu iki komponentin ortak sürücü mutasyonunun bulunması klonal olarak aynı kökten geldiğini düşündürür [167]. Makroskopik olarak diğer KHDAK'ları ile benzerlik gösterir. Histopatolojisinde skuamöz komponent keratinize SCC formu ile AK komponenti ise glandüler formu ile hematoksin eozin kesitlerle tanı konabilecek şekilde karşımıza çıkabilir. Ancak SCC komponenti nonkeratinize veya bazaloid SCC şeklinde, AK komponenti ise solid formda da görülebilir. Bu durumlarda histokimyasal ve İHK'sal çalışmalar tanıda yardımcıdır. AK'lar için en iyi belirteç TTF-1, SCC için ise p40'tır. TTF-1 ile fokal reaktivite göstermeyen AK'larda glandüler farklılaşmanın kanıtı olarak müsin gösterilmelidir [167]. Tanı için her iki komponentin yüzdesi önemli olduğu için çapı 30 mm'den küçük tümörler tamamen örneklenmeli, 30 mm'den büyük tümörlerde ise 10 mm başına en az bir örnek alınmalıdır. Ayırıcı tanıya SCC ve AK dışında mukoepidermoid karsinom ve reaktif lezyonlar alınmalıdır. Özellikle yüksek dereceli mukoepidermoid karsinom ayırıcı

tanıda güçlük çıkarabilir. Mukoepidermoid karsinom için düşük dereceli mukoepidermoid karsinom alanlarının bulunması, müsinöz, skuamoid ve intermediate hücre formlarının birlikteliği, keratinizasyon olmaması, skuamöz hücreli karsinoma in situ alanları barındırmaması, tübüler, asiner ve papiller arşitektür göstermemesi gibi özellikleri ile ASK'dan ayrılabilir. MAML2 rearanjmanının varlığı mukoepidermoid karsinoma özgü bir bulgudur [168]. ASK'ların genetik özellikleri AK ve SCC'nin bir ara formu gibidir. EGFR, KRAS, AKT1, ERBB2, PIK3CA ve STK11 gen mutasyonları; ALK, ROS1 ve RET rearanjmanları; FGFR1 amplifikasyonu görülebilir [169]. ASK KHDAK'larına kıyasla daha agresif bir tutum sergiler. Rezeksiyon sonrası %37-60 oranında 5 yıllık sağkalım bildirilmiştir [170].

Sarkomatoid Karsinomlar

Pleomorfik Karsinom: En az %10'luk bir bir komponenti iğsi hücreli veya dev hücreli olmak üzere SCC, AK, LCC gibi komponentler barındırabilen az diferansiye bir akciğer karsinomudur. Tamamen iğsi ve/veya dev hücreli komponentten oluşabilir. Kesin tanı cerrahi spesmenlerde konulmalıdır. Sıklıkla periferik, nadiren endobronşial yerleşimlidir [171]. Bu tümör cerrahi rezeksiyon materyallerinde KHDAK'ların %2-3 kadarını oluşturur [172]. Pleomorfik karsinom patogenezinde sarkomatoid komponentin epitelyal mezenkimal geçiş aktivasyonu sonucunda karsinom komponentinden köken aldığı düşünülmektedir [173]. Makroskopik olarak merkezinde kavitasyon veya nekroz görülebilen, iyi sınırlı, beyaz-gri renkte bir tümördür [174]. Histopatolojisinde epitelyal ve mezenkimal hücrelerin iç içe geçtiği ya da keskin bir sınırla ayrıldığı iğsi veya dev hücreli alanlara eşlik edebilen SCC, AK, LCC komponenti görülür. Ayrıca osteoklastik dev hücreler bulunabilir [173]. Miksoid veya kollagenöz bir stroma izlenen bu tümörde nekroz, hemoraji ve vasküler embolus izlenebilir. Havayolu yayılımına da sık rastlanır [174]. Dev hücreli karsinom ve iğsi hücreli karsinom olmak üzere iki alt tipi vardır. Dev hücreli karsinomda inflamatuvar hücrelerin sıklıkla eşlik ettiği belirgin pleomorfizm gösteren, eozinofilik sitoplazmalı ve bazen multilobe nükleuslu hücreler görülür. İğsi hücreli karsinomda ise diğer elementlerin bulunmadığı neoplastik iğsi hücreler mevcuttur [175]. İHK'sal olarak iğsi veya dev hücreli komponent sitokeratinler ile değişken bir immünreaktivite gösterirken, KHDAK komponenti ise pozitifdir. Diferansiyasyon biçimine göre TTF-1,

napsin A ve p40 gibi belirteçler kullanılabilir [176]. Pleomorfik karsinomların ayrııcı tanısında metastatik sarkomatoid karsinomlar yanısıra pulmoner blastom, karsinosarkom, sarkom, melanom, germ hücreli tümörler ve sarkomatoid/bifazik mezoteliyoma yer alır [176]. Pleomorfik karsinomlarda sağkalım öncelikli olarak diğer akciğer karsinomlarında olduğu gibi tümör evresine bağlıdır. Ancak KHDAK'a kıyasla prognozu daha kötüdür [177].

Pulmoner Blastom: Primitif mezenkimal stromaya sahip iyi diferansiye/düşük dereceli fetal AK morfolojisinde bifazik bir akciğer tümörüdür. Heterolog elemanlar barındırabilir, ancak tanı için şart değildir. Sarkomatoid karsinomların nadir bir alt tipi olan pulmoner blastom rezeksiyon yapılmış akciğer tümörlerinin %0,1'inden azını oluşturur [175]. Patogenezinde CTNNB1, p53 ve DICER1 mutasyonları sorumlu tutulmaktadır [178, 179]. Makroskopik olarak ortalama çapı 100 mm olan bu tümör gri, beyaz, sarı renkli, solid ve iyi sınırlıdır [180]. Histopatolojisinde glandüler ve mezenkimal komponentten oluşan bifazik bir morfoloji gösterir. Bu iki komponent yalnızca epitel mezenkimal geçişinde bir arada bulunabileceği gibi iç içe geçmiş bir şekilde de görülebilir. Glandüler morfoloji endometrioid karsinomu andırır [181]. Vakaların bir kısmında morül oluşumu, nadiren de keratinizasyon izlenebilir [181]. Bazı olgularda glandüler yapılarda klasik AK benzeri atipik bez yapıları ve yaprak benzeri bir arşitektür görülebilir [180]. Mezenkimal komponent kademeli bir geçiş gösteren matür fibroblast benzeri hücreler ile oval-iğsi, küçük, primitif, blastemel hücrelerden oluşur. Bazen mezenkimal komponentte anormal şekilli hücreler izlenebilir. Bazı olgularda ise kemik, çizgili kas, kıkırdak dokusu gibi heterolog elemanlar görülebilir [180]. İHK'sal olarak epitelyal komponent TTF-1, EMA ve sitokeratinler ile pozitifdir. Mezenkimal komponent ise vimentin ile immünreaktivite gösterirken, heterolog elemanların olması durumunda bu alanlarda dokuya özgü spesifik antijenler eksprese edilir. Epitelyal komponentte, blastemel hücrelerde ve morüllerde sitoplazmik ve nükleer β -katenin ekspresyonu mevcuttur [181]. Ayrııcı tanıda fetal AK, karsinosarkom, sarkomatoid karsinom yanı sıra endometriozis de göz önünde bulundurulmalıdır. Özellikle nükleer β -katenin ekspresyonu pulmoner blastomu ayırmada çok önemli bir kriterdir [182]. Prognozu evre ile yakından ilişkili olan pulmoner blastomlarda uzak metastaz ve nüks yaygın olarak görülür [180].

Karsinosarkom: Genellikle AK veya SCC morfolojisinde KHDAK'a en az bir heterolog eleman içeren sarkomatöz komponentin eşlik ettiği tümördür. Bu sarkomatöz komponent rabdomyosarkom, osteosarkom veya kondrosarkom morfolojisi gösterebilir. Karsinosarkom akciğer kanserlerinin %0.2'den daha az kısmını oluşturan nadir görülen bir tümördür [183]. Her iki komponentte ortak olarak görülen EGFR mutasyonu aynı klonal orijine işaret etmektedir. Ayrıca daha nadir olarak TP53 ve KRAS mutasyonları bildirilmiştir [184]. Karsinosarkom makroskopik olarak büyük çaplı, nekroz ve hemoraji alanları içerir [185]. Histopatolojik olarak iki farklı komponentten oluşan bu bifazik tümörler için komponentlerden herhangi biri için minimum bir yüzde oranı belirlenmemiştir. Epitelyal komponent en sık SCC sonra sırasıyla AK ve LCC morfolojisi görülür [185]. Sarkomatöz komponentler ise tek bir morfolojik tipte görülebildiği gibi kombine halde de bulunabilir. Nadir vakalarda liposarkom veya anjiosarkom gibi heterolog morfoloji görülebilir [186, 187]. İHK'sal olarak epitelyal komponent AK morfolojisinde ise TTF-1 ve napsin A ile; SCC morfolojisinde ise p40 ile immünreaktivite gösterir. Sarkomatöz komponentte ise heterolog elemanlara özgü antikorlar ile ekspresyon görülür. Kondrosarkom morfoloji S100 ile, rabdomyosarkom morfoloji ise desmin ile pozitifdir [110]. Karsinosarkomun ayırıcı tanısına pleomorfik karsinom, sarkom, pulmoner blastom ve mezoteliyoma girer. Karsinosarkom heterolog eleman içermesi ile pleomorfik karsinomdan ayrılır. Pulmoner blastom β -katenin ile nükleer reaktivite gösterirken, karsinosarkom membranöz boyanır. Karsinosarkomda prognoz diğer sarkomatoid karsinomlar ile benzerlik gösterir [188].

AKCİĞER KANSERİNDE MOLEKÜLER DEĞİŞİKLİKLER

EGFR, KHDAK'larında en sık rastlanılan sürücü mutasyondur. Beyaz ırkta %10-20 oranında, Asyalılarda ise %50'yi aşan oranlarda saptanır [189]. EGFR mutasyonu ağırlıklı olarak sigara içmeyen, genç, kadın ve AK olgularında tespit edilir [190]. EGFR ErbB tirozin kinaz reseptör ailesine ait dört yüzey reseptöründen biridir. EGFR reseptörüne hücre dışı bir ligand bağlandığında sitoplazmik tarafta bulunan tirozin kinaz alanı fosforillenir. Fosforillenme sonucunda PI3K/AKT/mTOR ve RAS/RAF/MAPK gibi hücre içi sinyal yolları aktiflenir. Bu aktiflenme hücre proliferasyonunu ve apoptozun önlenmesini tetikler [191]. Ekzon 19 delesyonu ve

L858R nokta mutasyonu gibi klasik aktive edici mutasyonlar, EGFR mutasyonlarının büyük çoğunluğunu oluşturur. Ayrıca EGFR geninin 18-25 ekzonlarında meydana gelen nokta mutasyonlar, duplikasyonlar, insersiyonlar ve delesyonlar gibi düşük frekanslı mutasyonlar da mevcuttur [189]. EGFR mutasyonunu barındıran hastalarda EGFR tirozin kinaz inhibitörleri standart tedavi haline gelmiştir. Erlotinib, gefitinib, afatinib gibi tirozin kinaz inhibitörleri ile, başarılı tedaviye yanıt oranları ve progresyonsuz sağkalım mevcuttur. Ancak bu hastalarda tedavi esnasında farklı mutasyonların oluşması, tedaviye direnç ortaya çıkmasına neden olabilir. Bu mutasyonlardan en sık rastlanan EGFR kinaz bölgesinde görülen T790M mutasyonudur [191].

Kristen Rat Sarkom Virüs (KRAS) hücre iskeletinin düzenlenmesi, hücre proliferasyonu ve hayatta kalma gibi fonksiyonları olan GTPaz aktivitesi gösteren proteini kodlayan bir onkogendir. KRAS 12. kromozomda uzun kol yerleşimli, membran ilişkili G proteinlerinden RAS ailesinin bir üyesidir. EGFR gibi tirozin kinaz reseptörlerinin aşağı akış yolu üzerinde bulunan KRAS, RAS/RAF/MAPK, MEK, ERK gibi sinyal yolları ile ilişkilidir [191]. KRAS mutasyonu KHDAK'larının yaklaşık %25-35 kadarında saptanır. Özellikle solid morfolojideki AK'larda bu oran daha yüksektir. KRAS mutasyonu kemoterapiye yanıtızsızlık ve olumsuz sonuçlar ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca KRAS mutasyonunda senkron bir tümör olasılığının arttığı tespit edilmiştir. KRAS mutasyonu mevcut tümörlerde gefitinib, erlotinib gibi tirozin kinaz inhibitörlerine direncin daha yüksek olduğu bildirilmiştir [191].

Anaplastik lenfoma kinaz (ALK) çok çeşitli kanser türlerinde yaklaşık 30 adet proteinin onkojenik füzyon partneri olarak tanımlanmış, insülin reseptör ailesinin üyesi bir tirozin kinaz reseptörüdür [192]. ALK anaplastik büyük hücreli lenfomada t(2,5) (p23,q35) translokasyonun sonucunda ortaya çıkan bir protein olarak tespit edilmiştir. ALK reseptörü hücre zarı yerleşimlidir ve bir ligand aracılığıyla aktiflenir [193]. KHDAK'da tanımlanan 20'nin üzerinde ALK füzyon partneri bulunurken bunlardan en yaygın olanı tüm füzyonların yaklaşık %29-33'ünü oluşturan EML4'tür. Bu füzyon tirozin kinaz bölgesinde ligand bağımsız bir aktivasyona neden olur. Bunun sonucunda aşağı akış sinyalinin kontrolsüz aktiflenmesi ile karsinogenez uyarılır [194]. EML4-ALK füzyonu daha çok genç, sigara içmeyen ve ileri evre hastalığı olanlarda görülür. Akciğer AK'da EML4-ALK füzyon pozitifliği %3-5 olarak

bildirilmiştir [195]. FDA krizotinib başta olmak üzere brigatinib, lorlatinib, seritinib ve alektinib gibi ALK inhibitörlerine onay vermiştir [194].

ROS1 geni 6. kromozom q21 lokusunda bulunan insülin reseptör ailesinin üyesi olan bir tirozin kinaz genidir. ROS1 rearanjmanı KHDAK'da %1-2 oranında bulunur. Genellikle sigara içmeyen genç kadın popülasyonunda saptanır. Krizotinib ve seritinib gibi hedefe yönelik ajanların ROS1 füzyonu olan hastalarda etkinliği gösterilmiştir [196].

BRAF mutasyonları malign melanom dışında çeşitli karsinomlar, nöral kökenli tümörler ve hematopoetik sistem tümörleri gibi geniş bir spektrumda tespit edilmiştir. KHDAK'da %1,5-3,5 oranında saptanmış olan BRAF mutasyonları MAPK sinyal yolağının aşağı akışını aktifler [196]. BRAF mutasyonları arasında en yaygın olarak görülen V600E mutasyonudur. BRAF mutasyonlu hastalarda FDA tarafından onaylanmış vemurafenib, dabrafenib gibi hedefe yönelik ajanlar mevcuttur [196].

İnsan Epidermal Büyüme Faktörü 2 (ERBB2) (HER2/neu), tıpkı EGFR gibi ErbB ailesine üye bir tirozin kinazdır. ERBB2 mutasyonu özellikle gastrointestinal sistem ve meme malignitelerinde sık görülür. Ayrıca KHDAK'da %13-22,8 oranında HER-2 amplifikasyonu bildirilmiştir [197].

MET geni hepatosit büyüme faktörü reseptörü (HGFR) olarak da bilinir. MET geni hücre membran yerleşimli bir tirozin kinaz reseptörünü kodlar [197]. Ekson 14'teki somatik değişiklikler anjiogenezi ve metastazı indükler. KHDAK'ın %3-4'ünde görülür. Özellikle sarkomatoid akciğer kanserlerinde bu oranın arttığı bildirilmiştir. FDA METex14 değişiklikleri gösteren metastatik akciğer karsinomu olan hastalar için kapmatinib ve temotinib gibi ajanlara onay vermiştir [194].

Rearanjman eşzamanlı transfeksiyon (RET), nöral krest gelişimini düzenleyen glial hücre hattı nörotropik faktör ailesinden tirozin kinaz aktivitesi olan bir protoonkogendir. Ko-reseptör kompleksine bağlandığında MAP/RAS yolağını indükleyerek aşağı akış sinyalini aktifler [198]. RET rearanjmanları KHDAK'ın %1-3'ünde saptanmıştır. Özellikle AK morfolojisinde, genç ve kadın hastalarda sık görülür [199]. Selpercatinib ve pralsetinib FDA tarafından onaylanmış güçlü seçici RET inhibitörleridir [200, 201].

NTRK

NTRK gen ailesi Trk-A proteinini kodlayan kromozom 1q23.1 yerleşimli NTRK1, Trk-B proteinini kodlayan kromozom 9q21.33 yerleşimli NTRK2 ve Trk-C proteinini kodlayan kromozom 15q25.3 yerleşimli NTRK3 genlerinden oluşur [202]. Nöronal gelişimde görevli olan bu proteinler nörotrofin ligandlar aracılığı ile oligomerizasyon yoluyla aktiflenir [203]. Aktive Trk proteinleri nöronal gelişim yanısıra hafızanın, iştahın, vücut ağırlığının, ağrının, hareketin, propriyosepsiyonun ve ruh halinin düzenlenmesinde görev alır [204]. Farklı erişkin ve pediatrik tümörlerde tanımlanmış olan NTRK gen füzyonları herhangi bir NTRK geninde 5' bölgesi ile yan yana gelen bir 3' bölgesi partner geninin yol açtığı kromozomal rearanjman kaynaklıdır [202]. Bazı tümörlerde NTRK genlerinde füzyonlar yanı sıra nokta mutasyonlar ve amplifikasyonlar tanımlanmış olsa da bu anormalliklerin tümörögenezdeki rolü tam olarak saptanamamıştır [205]. NTRK gen füzyonları çok farklı tümör tiplerinde saptanabilen ancak sık görülen tümörlerde nadiren görülebilen anormalliklerdir. Memenin sekretuar karsinomu, tükürük bezinin meme analogu sekretuar karsinomu, infantil fibrosarkom, konjenital mezoblastik nefroma gibi nadir tümörlerde ise NTRK gen füzyonları siktir [206]. İlk tespit edilen ETV6-NTRK3 füzyonu (12;15) (p13;q25) translokasyonu ile ortaya çıkmıştır. Bu füzyon infantil fibrosarkomların %90'ından fazlasında görülmektedir [207]. Ayrıca KHDAK'u, kolorektal karsinom, malign melanom, papiller tiroid karsinomu, gliomlar, gastrointestinal stromal tümör, pankreatik AK gibi sık rastlanan tümörler ve yumuşak doku tümörlerinde nadiren saptanmaktadır [7, 208, 209]. NTRK füzyonu KHDAK'da %0.1-1 oranında tespit edilmiştir [210-212]. Nadiren saptansa da, NTRK füzyonuna yönelik kullanılan tirozin kinaz inhibitör tedavisi hastaların çoğunda belirgin bir yanıtla sonuçlanmaktadır [7, 211].

NTRK gen füzyonları saptanan tümörlerde tümörögenezde primer sürücüler olduğu düşünülmektedir. Bu füzyonlar sonucunda ortaya çıkan ve tirozin kinaz aktivitesi gösteren proteinlerin bir kısmı onay almış ajanlar ile hedeflenebilmektedir. İlk Pan-Trk inhibitörü olan larotrektrinib, Trk-A, Trk-B ve Trk-C için güçlü ve seçici bir ajandır. Entrktinib yine üç Trk proteininin fosforilasyonunu ve aşağı akış sinyal moleküllerini baskılayan bir başka hedefe yönelik ajandır [213]. Ayrıca repotrektrinib

ve selirektinib gibi henüz onay almamış yeni nesil ajanlar ile ilgili çalışmalar devam etmektedir [213].

NTRK Füzyon Tespitinde Kullanılan Test Yöntemleri

NTRK gen füzyon tespitinde İHK, floresan in situ hibridizasyon (FISH), reverse transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ve yeni nesil sekanslama (NGS) gibi yöntemler kullanılır.

İHK yüksek Trk protein ekspresyonunu saptamak için üç Trk proteininin hepsinin C-terminal alanında ortak antijenlere bağlanan bir antikor kullanır. Bu yöntem, çoğu normal hücrenin düşük Trk ekspresyonu göstermesine karşın, NTRK gen füzyonunu barındıran tümör hücrelerinin tipik olarak yüksek Trk protein seviyeleri göstermesi prensibiyle çalışır. TrkA, TrkB ve TrkC ekspresyonu, nöronlar, miyenterik pleksus, endotel hücreleri ve podositler gibi normal hücrelerde gözlemlenebilir. İHK, NTRK gen rearanjmanının tespitinde dolaylı yoldan faydalı bir test yöntemidir. Ancak, bu testte değişken oranlarda duyarlılık (%75-88) ve özgüllük (%81-96) bildirilmiştir [209, 214]. Bu farklılığın, dokuların fiksasyon farklılığından, farklı İHK'sal prosedürlere ve farklı klonlara ait antikor kullanımından kaynaklanabileceği yorumları yapılmaktadır. Pan-TRK (EPR17341 klonu) kullanılarak yapılan bir İHK'sal çalışmada pozitif ve negatif prediktif değerlerin sırasıyla %11,2 ve %99,8 olduğu bildirilmiştir [214]. Duyarlılık ise NTRK genleri arasında farklılık göstermektedir; NTRK1 için %88-%96, NTRK2 için %89-%100, NTRK3 için ise %55-%79 olarak belirtilmiştir [209, 214]. Ayrıca boyanma paternleri de bu tipler arasında farklılık göstermektedir. NTRK1 ve NTRK2 füzyonu olan tümörlerde sitoplazmik, NTRK3 füzyonu olan tümörlerde nükleer boyanma daha sık rapor edilmiştir [215, 216].

İHK, sonuç verme süresi kısa, ulaşılabilirliği kolay ve ucuz bir test yöntemidir. Pan-TRK'nın yaklaşık %10 oranında yanlış negatif sonuç verdiği kabul edilmektedir [209]. İHK'sal olarak negatif olan ancak NTRK füzyon olasılığı yüksek olan tümörlerde genomik yöntem uygulanmalıdır. İHK faydalı bir tarama yöntemi olarak kullanılabilir. Ancak santral sinir sistemi tümörleri, nöroendokrin tümörler, myojenik ve nöral farklılaşma gösteren sarkomlar fokal Trk ekspresyonu gösterebileceğinden sadece diffüz boyanma pozitif olarak değerlendirilmelidir [215].

FİSH yönteminde ilgili genin bulunduğu alanı işaretleyen DNA problrı kullanılır. Her bir NTRK geninin farklı füzyon partnerlerine ait problr kullanılabilir. Ancak üç NTRK genini de içeren füzyon partnerlerini kullanmak daha uygun bir seçenektir [217, 218]. Birçok laboratuvarda bulunan ve nispeten ucuz bir yöntem olan FİSH, kısa sürede sonuç verebilen bir yöntemdir. Ancak test sonuçlarının yorumlanmasında, işlem sırasında oluşabilecek artefaktlar doğru sonuca ulaşma konusunda engel teşkil edebilir. Bu sebeple test sonuçlarının yorumlanması özel bir uzmanlık ve dikkat gerektirmektedir. Pediatrik sarkomlarda FİSH yöntemi ile %30'a varan oranlarda yanlış negatif sonuçlar çıkabilmektedir [219].

RT-PCR, füzyon genlerinin ribonükleik asit (RNA) transkriptlerini saptama prensibiyle çalışır. RT-PCR testi, yaklaşık olarak 1 µg RNA (50.000 tümör hücresi) gerektirmektedir. Bu testin güvenilirliğindeki en önemli nokta RNA örneğinin kalitesidir [220]. RT-PCR hızlı sonuç veren, ucuz ve yaygın olarak kullanılan bir testtir. Multiplex RT-PCR, tek analizle bir dizi NTRK füzyon geninin primer setlerinin kullanıldığı bir tekniktir. Ancak, bu teknik ile füzyon partneri bilinmeyen NTRK füzyonları belirlenemez. Bu testin, infantil fibrosarkomda saptanan ETV6-NTRK3 gibi spesifik bir füzyon partneri beklenen durumlarda doğrulama amaçlı kullanılması önerilir [221].

NGS, NTRK füzyonlarının oldukça hassas ve spesifik olarak tespit edilmesine olanak sağlayan moleküler bir testtir. NGS aralarında NTRK füzyonlarının da bulunduğu çok sayıda onkolojik sürücünün eşzamanlı olarak değerlendirilmesine ve füzyon partnerlerinin saptanmasına olanak sağlar. DNA bazlı NGS'de işlevsel olan ve olmayan tüm füzyonlar tespit edilir. Bu sebeple tespit edilen füzyonların karsinogenezde etkili olup olmadığının anlaşılabilmesi, işlevselliğinin belirlenebilmesi için RNA bazlı NGS ile doğrulama yapılmalıdır [220].

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada etik açıdan sakınca olmadığı 30.11.2021 tarihli Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Toplantısı'nda 03.12.2012-136452 Evrak Tarih ve Sayılı belge ile bildirilmiştir. Bu proje Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

OLGU SEÇİMİ VE DOKU MİKROARRAY BLOKLARIN HAZIRLANMASI

Bu çalışmaya Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı'nda 2012-2023 yılları arasında KHDAK tanısı alan; wedge rezeksiyon, segmentektomi, lobektomi, bilobektomi, pnömonektomi rezeksiyon materyalleri ve bloktaki dokusu mikroarray yöntemine uygun bronkoskopik biyopsi veya tru-cut biyopsi materyallerinden rastgele seçilmiş 295 hasta dahil edildi. Olgulara ait preparatlar ve parafin bloklar Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden alındı. Olgulara ait yaş, cinsiyet, biyopsi tipi, tümör lokalizasyonu, tümör adedi, histolojik tümör tipi, tümör çapı, anjiolenfatik invazyon durumu, perinöral invazyon durumu, tümör stromasının durumu, bronş cerrahi sınır durumu, plevra invazyonu, lenf nodu metastazı, uzak metastaz durumu, hastaliksız yaşam süresi, total yaşam süresi, neoadjuvan tedavi durumu bilgileri Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji, Göğüs hastalıkları hasta dosyalarından ve Tıbbi Patoloji raporlarından elde edildi. Uluslararası Akciğer Kanseri Çalışma Derneği'nin (IASCL) 8. Evreleme Sistemi ile küçük biyopsisi bulunan olguların klinik evresi, rezeksiyon materyalleri bulunan olguların ise patolojik evresi belirlendi (Tablo 1).

Tüm materyallere ait preparatlar iki patolog (FB ve UÖ) tarafından tekrar değerlendirilerek, DSÖ 2021 kriterlerine göre güncel histopatolojik tiplendirme yapıldı ve patoloji raporlarında bulunan histopatolojik özellikler doğrulandı (Tablo 2).

Tablo 1. IASCL'nin 8. evreleme sistemi – T, N ve M evresi

| | | |
|-----|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tx | | Primer tümör değerlendirilemiyor veya malign hücrelerin balgam ya da bronşiyal yıkama sıvısında saptandığı ancak tümörün bronkoskopi veya görüntüleme yöntemleri ile saptanamadığı durumlar |
| T0 | | Primer tümör kanıtı yok |
| Tis | | Karsinoma in situ (adenokarsinoma in situ ve skuamöz hücreli karsinoma in situ'yu kapsar) |
| T1 | | Ana bronş tutulumu olmadan akciğer veya visseral plevra ile çevrili, en geniş çapı ≤ 3 , bronkoskopik olarak lob bronşundan daha proksimalde invazyon bulgusu olmayan tümör (örn. ana bronşta olmayan) ¹ |
| | T1mi | Minimal invaziv adenokarsinom ² |
| | T1a | Tümörün en geniş çapı ≤ 1 cm ² |
| | T1b | Tümörün en geniş çapı > 1 cm, ≤ 2 cm |
| | T1c | Tümörün en geniş çapı > 2 cm, ≤ 3 cm |
| T2 | | Tümörün en geniş çapı > 3 cm, ≤ 5 cm; veya aşağıdaki özelliklerden en az birine sahip olan tümör ³ *Karinayı invaze etmeden, karinaya uzaklığına bakılmaksızın ana bronşu tutan tümör *Visseral plevra invazyonu *Hiler bölgeye uzanan atelektazi veya obstrüktif pnömoni (atelektazi/pnömoni akciğerin bir bölümünü veya tümünü kapsayabilir) |
| | T2a | Tümörün en geniş çapı > 3 cm, ≤ 4 cm |
| | T2b | Tümörün en geniş çapı > 4 cm, ≤ 5 cm |
| T3 | | Tümörün en geniş çapı > 5 cm, ≤ 7 cm veya aşağıdaki yapılardan birine direkt invazyon; *Göğüs duvarı (superior sulkus tümörleri dahil), frenik sinir, parietal perikard *Primer tümörle aynı lobda nodül(ler) |
| T4 | | Tümörün en geniş çapı > 7 cm veya aşağıdaki yapılardan birine invazyon; *Diyafram, mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, rekürren laringeal sinir, özefagus, vertebra gövdesi, karina *Primer tümörle aynı akciğerde fakat farklı lobda nodül(ler) |
| Nx | | Bölgesel lenf bezleri değerlendirilemiyor |
| N0 | | Bölgesel lenf bezi metastazı yok |
| N1 | | İpsilateral peribronşiyal ve/veya ipsilateral hiler lenf bezlerine ve/veya intrapulmoner lenf bezlerine metastaz veya direkt invazyon |
| N2 | | İpsilateral mediastinal ve/veya subkarinal lenf bezlerine metastaz |
| N3 | | Kontralateral mediastinal, kontralateral hiler, ipsilateral veya kontralateral skalen veya supraklavikuler lenf bezlerine metastaz |
| M0 | | Uzak metastaz yok |
| M1 | | Uzak metastaz var |

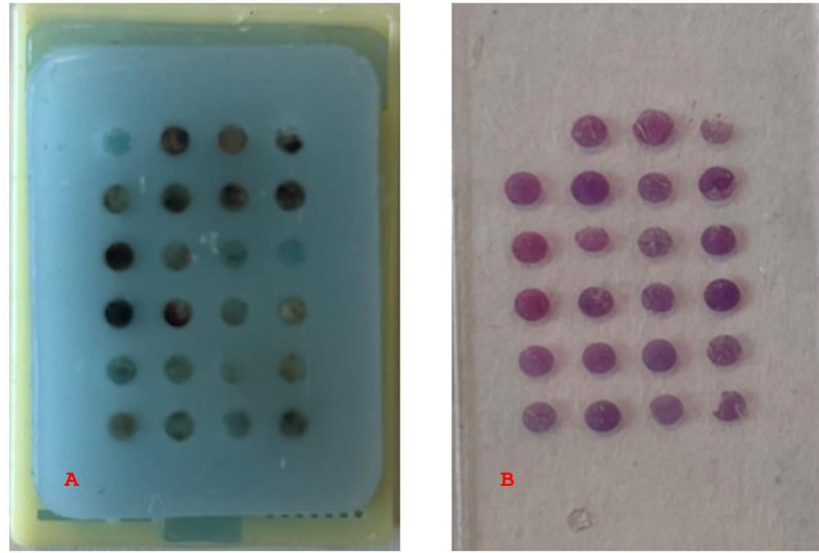
| | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | M1a | Karşı akciğerde metastatik nodül(ler), plevral veya perikardiyal metastatik nodüller veya malign plevral veya perikardiyal efüzyon ⁴ |
| | M1b | Tek bir ekstratorasik organda, tek metastaz ⁵ |
| | M1c | Bir veya birden çok organda multipl ekstratorasik metastaz |
| <p>¹ Ana bronşun proksimaline uzanan, bronşiyal duvara sınırlı invazyon gösteren herhangi bir büyüklükteki nadir yüzeysel tümör yayımı da T1a olarak sınıflandırılır.</p> <p>² Soliter adenokarsinom (3 cm'den daha büyük boyutta olmayan), daha baskın olarak lepidik paternli ve herhangi bir odakta 5 mm'den daha büyük boyutta invazyona sahip olmayan</p> <p>³ Bu özellikleri ile T2 tümör; eğer ≤ 4 cm veya büyüklüğü belirlenemiyor ise T2a; eğer > 4 cm fakat ≤ 5 cm ise T2b olarak sınıflandırılır.</p> <p>⁴ Akciğer kanseriyle birlikte olan çoğu plevral (perikardiyal) efüzyonlar tümöre bağlı gelişir. Bazı hastalarda multipl mikroskopik incelemelerde plevral (perikardiyal) sıvı tümör açısından negatif ve sıvı hemorajik ve eksudatif değildir. Bu bulgular varsa ve klinik değerlendirme efüzyonun tümörle ilgili olmadığı yönündeyse, efüzyon evreleme belirleyicisi olmaktan çıkarılmalıdır.</p> <p>⁵ Bu durum bölgesel olmayan tek bir uzak lenf bezi metastazını kapsar.</p> | | |

Tablo 2. Akciğer tümörleri sınıflaması (DSÖ, 2021)

| | | | |
|--------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Epitelyal tümörler | Papillomlar | Skvamöz Hücreli Papillom, NOS | |
| | | Skvamöz Hücreli Papillom, İnvarted | |
| | | Glandüler Papillom | |
| | Adenomlar | Mikst Skvamöz Hücreli ve Glandüler Papillom | |
| | | Sklerozan Pnömositom | |
| | | Alveoler Adenom | |
| | | Papiller Adenom | |
| | | Bronşiyal Adenom/Silyalı Mukonodüler Papiller Tümör | |
| | | Müsinöz Kistadenom | |
| | Prekürsör Glandüler Lezyonlar | Mukus Gland Adenomu | |
| | | Atipik Adenomatöz Hiperplazi | |
| | Adenokarsinomlar | Adenokarsinoma İn Situ | Müsinöz Adenokarsinoma İn Situ |
| | | | Nonmüsinöz Adenokarsinoma İn Situ |
| | | Minimal İnvaziv Adenokarsinom | Müsinöz Minimal İnvaziv Adenokarsinom |
| | | | Nonmüsinöz Minimal İnvaziv Adenokarsinom |
| | | İnvaziv Nonmüsinöz Adenokarsinom | Lepidik Adenokarsinom |
| | | | Asiner Adenokarsinom |
| | | | Papiller Adenokarsinom |
| | | | Mikropapiller Adenokarsinom |
| | | İnvaziv Müsinöz Adenokarsinom | Solid Adenokarsinom |
| | | | Mikst İnvaziv Müsinöz ve Nonmüsinöz Adenokarsinom |
| | Kolloid Adenokarsinom | | |
| | Fetal Adenokarsinom | | |
| | Skvamöz Prekürsör Lezyonlar | Enterik Tip Adenokarsinom | |
| | | Adenokarsinom, NOS | |
| | | Skvamöz Hücreli Karsinoma İn Situ | |
| | | Hafif Skvamöz Displazi | |
| Skvamöz Hücreli Karsinomlar | Skvamöz Hücreli Karsinom, NOS | Keratinize Skvamöz Hücreli Karsinom | |
| | | Nonkeratinize Skvamöz Hücreli Karsinom | |
| | Bazaloid Skvamöz Hücreli Karsinom | | |
| Büyük Hücreli Karsinomlar | Lenfoepitelyal Karsinom | | |
| Adenoskvamöz Karsinomlar | Büyük Hücreli Karsinom | | |
| Sarkomatoid Karsinomlar | Adenoskvamöz Karsinom | Dev Hücreli Karsinom | |
| | | İğsi Hücreli Karsinom | |
| | Pulmoner Blastom | | |
| Diğer Epitelyal Tümörler | Karsinosarkom | | |
| | NUT Karsinom | | |
| Tükürük Bezi Tipinde Tümörler | SMARCA4 Eksikliği Olan Torasik Andiferansiye Tümör | | |
| | Pleomorfik Adenom | | |
| | Adenoid Kistik Karsinom | | |

| | | | |
|--------------------------------------------|-------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | Epitelyal Myoepitelyal Karsinom | |
| | | Mukoepidermoid Karsinom | |
| | | Hyalinize Şeffaf Hücreli Karsinom | |
| | | Myoepitelyoma | |
| | | Myoepitelyal Karsinom | |
| Akciğerin Nöroendokrin Neoplazmları | Prekürsör Lezyon | Diffüz İdiyopatik Nöroendokrin Hücre Hiperplazisi | |
| | Nöroendokrin Tümörler | Karsinoid Tümör, NOS / Nöroendokrin Tümör, NOS | Tipik Karsinoid / Nöroendokrin Tümör, Grade 1 Atipik Karsinoid / Nöroendokrin Tümör, Grade 2 |
| | Nöroendokrin Karsinomlar | Küçük Hücreli Karsinom Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom | Kombine Küçük Hücreli Karsinom Kombine Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom |
| Ektopik Dokuların Tümörleri | Melanom | | |
| | Meningiom | | |
| Akciğere Özgü Mezenkimal Tümörler | Pulmoner Hamartom | | |
| | Kondrom | | |
| | Diffüz Lenfanjiomatozis | | |
| | Pleuropulmoner Blastom | | |
| | İntimal Sarkom | | |
| | Konjenital Peribronşiyal Miyofibroblastik Tümör | | |
| | EWSR1-CREB1 Füzyonlu Pulmoner Miksoid Sarkom | | |
| | PEKomatöz Tümörler | Lenfanjioleomyomatozis PEKoma, Benign PEKoma, Malign | |
| Hematolenfoid Tümörler | MALT Lenfoma | | |
| | Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma, NOS | | |
| | Lenfomatoid Granülomatozis, NOS | Lenfomatoid Granülomatozis, Grade 1 | |
| | | Lenfomatoid Granülomatozis, Grade 2 | |
| | | Lenfomatoid Granülomatozis, Grade 3 | |
| | İntravasküler Büyük B Hücreli Lenfoma | | |
| | Langerhans Hücreli Histiositozis | | |
| Erdheim-Chester Hastalığı | | | |

Yine iki patolog tarafından preparatlardaki nekroz içermeyen, selülaritesi yüksek ve tümör dışı doku en az izlenen alanlar mikroarray bloğu hazırlanmak için seçildi. Seçilen preparatlara ait bloklar arşivden çıkarıldı. Preparat üzerinde seçilen alana uygun olacak şekilde bloktan çıkartılarak uzun ekseninde 6 satır, kısa ekseninde 4 sütun olacak şekilde 24 adet doku yuvası bulunan mikroarray bloğuna haritalandırılarak yerleştirildi. Haritalandırma kooperasyonu açısından bloğun 1.satır ve 1.sütununa denk gelen yuva boş bırakıldı. Tümöral dokular tanılarına göre ve küçük biyopsi-rezeksiyon ayırımına göre sınıflandırılarak 20 adet mikroarray parafin bloğu elde edildi (Resim 1).



Resim 1. A. Adenokarsinom olgularından hazırlanmış mikroarray bloğu.
B. Mikroarray bloğuna ait hematoksilin eozin (HE) boyalı lam

İMMÜNHİSTOKİMYA

Mikroarray yöntemi ile oluşturulmuş yeni bloklardan elektrostatik yüklü lamlara 4-5 μm kalınlığında kesitler alındı. Pozitif kontrol olarak kullanılmak üzere serebral dokuya ait bloktan ve daha önce Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı'nda memenin sekretuar karsinomu şeklinde yorumlanmış materyale ait bloklardan alınan kesitler her bir mikroarray bloğundan alınan kesitin lamına eklendi. Bu kesitler etüvde 60°C'de en az iki saat kurutuldu. Deparafinizasyon ve antijen açığa çıkarma işlemleri de dahil olmak üzere, tüm boyama süreci VENTANA,

Benchmark Ultra, Ventana Medical Systems, USA tam otomatik İHK boyama cihazında gerçekleştirildi. Primer antikor olarak VENTANA Pan-TRK (EPR17341 klonu) testi, parafine gömülü doku kesitlerinde TRK epitopuna bağlanarak ve spesifik antikor, OptiView DAB IHC Tespit Kiti kullanılarak görselleştirildi. Kesitlerin dehidratasyonu, ksilen ile şeffaflandırılmaları ve lamel ile kapatılma aşamaları elde yapılarak İHK boyama protokolü tamamlandı.

Değerlendirme her iki patolog tarafından semikantitatif olarak yapıldı. Tümör hücrelerindeki %1 ve daha fazla nükleer, sitoplazmik ve membranöz boyanma pozitif kabul edildi.

REVERSE TRANSKRİPTAZ POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU

İHK'sal olarak pozitif saptanan 24 olguya 'RNeasy® FFPE Handbook RNA izolasyon kiti ve geneMAP™ NTRK Fusion Transcript Detection Kiti kullanılarak RT-PCR yöntemi uygulandı.

RNA İzolasyonu: Olgulara ait dokulardan 10 µm kalınlığında alınan kesitler 2 ml mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi. Tüplere 160 µl deparafinizasyon solüsyonu eklenip, 10 sn vortekslendi ve santrifüj edildi. 56°C'de 3 dakika inkübasyon sonrasında oda sıcaklığında (15–25°C) soğumaya bırakılan tüplere akabinde 150 µl Buffer PKD eklenip vortekslendi. Tüpler 1 dakika süreyle 11.000 x g'de (10.000 rpm) santrifüjlendi. Ardından alttaki berrak faza 10 µl Proteinaz K eklendi. Yukarı ve aşağı pipetleme yaparak yavaşça karıştırıldı. 56°C'de 15 dakika, ardından 80°C'de 15 dakika inkübe edilen tüpler her 3–5 dakikada bir vortekslendi. Tüpün dibinde kalan renksiz faz yeni bir 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. Buz üzerinde 3 dakika inkübe edilip sonrasında 20.000 x g'de (13.500 rpm) 15 dakika santrifüjlendi. Süpernatant yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. Toplam numune hacminin 1/10'una eşdeğer DNase Booster Buffer ve 10 µl DNase I stok solüsyonu eklenip tüp ters çevrilerek karıştırıldı ve kısa bir santrifüj yapıldı. Oda sıcaklığında 15 dakika inkübasyon sonrası 320 µl Tampon RBC eklenip ve lizat iyice karıştırıldı. Numuneye 720 µl etanol (%100) eklendi. Pipetleme yapılarak iyice karıştırıldı. 700 µl numune 2 ml'lik bir toplama tüpüne yerleştirilmiş RNeasy MinElute döndürme kolonuna aktarıldı. Kapağı yavaşça kapatılarak 15 saniye ≥ 8000 x g'de (≥ 10.000 rpm) santrifüjlendi. RNeasy MinElute döndürme kolonuna 500 µl Buffer RPE eklenip kapağı yavaşça kapatılarak

15 saniye $\geq 8000 \times g$ 'de (≥ 10.000 rpm) santrifüjlendi. Bu adım tekrar yapılarak sonrasında spin kolon membranını yıkamak için 2 dakika $\geq 8000 \times g$ 'de (≥ 10.000 rpm) santrifüjlendi. RNeasy MinElute döndürme kolonu yeni bir 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirildi. Döndürme kolonunun kapağını açılarak tam hızda 5 dakika santrifüjlendi. Akışlı toplama tüpüne atıldı. RNeasy MinElute döndürme kolonu yeni bir 1,5 ml'lik toplama tüpüne yerleştirildi. Doğrudan spin kolon membranına 14–30 μ l RNaz içermeyen su eklendi. Kapak yavaşça kapatılarak tam hızda 1 dakika santrifüj sonrası RNA ayrıştırıldı. İzolasyonun ardından RNA konsantrasyonları spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Elde edilen RNA örneklerinin konsantrasyonu ve saflıkları 260 ve 280 nm'deki absorpsiyonlarının ölçülmesiyle belirlendi. Elde edilen RNA'lar -20°C'de saklandı.

Komplementer DNA (cDNA) Sentezi: Her reaksiyon karışımı için ayrı ayrı 6 Mastermix hazırlandı. 15,5 μ l NTRK reaksiyon karışımı ve 1,5 μ l OneStep enzim karışımı kullanılarak toplam hacmi 17 μ l olan PCR Mastermix elde edildi. Bu ana karışım PCR tüplerine bölündü. Bu tüplerin içerisine nükleik asitlerinden 3 μ L eklendi. Böylelikle toplam reaksiyon hacmi 20 μ l olan cDNA karışımları elde edildi.

Real-time PCR: Daha sonra tüm vakalar negatif ve pozitif kontrolleri ile birlikte sistematik bir şekilde plakaya yerleştirildi. Bu plakalar Cobas z480 cihazında çalışılarak ve geneMAP™ NTRK Fusion Transcript Detection Kiti kullanıcı manuelinde belirtildiği gibi “Absolute quantitation Fit Point” yöntemi ile analiz edildi ve internal kontrol (referans gen) geni çalışıp, NTRK 1-2-3 füzyon bölgelerinde ct alınmayanlar negatif olarak değerlendirildi. NTRK 1-2-3 füzyon bölgelerinde ct değeri veren amplifiye olmuş örnekler ise NTRK füzyonu açısından pozitif olarak değerlendirildi. RT-PCR yönteminde kullanılan füzyon partnerleri Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. NTRK genleri ve füzyon partner geni

| Füzyon Partner Geni | NTRK Genleri |
|----------------------------|------------------------------------|
| NFASCex20 | NTRK1 ex9, ex10, ex11, ex15 |
| IRF2B2ex1-a | NTRK1 ex9, ex10, ex11, ex15 |
| IRF2B2ex1-b | NTRK1 ex9, ex10, ex11, ex15 |
| TFGex4 | NTRK1 ex9, ex10, ex11, ex15 |
| F11rex4 | NTRK1 ex9, ex10, ex11, ex15 |
| TPM3ex7 | NTRK1 ex9, ex10, ex11, ex15 |
| TPRex21 | NTRK1 ex9, ex10, ex11, ex15 |
| SQSTM1ex5 | NTRK1 ex9, ex10, ex11, ex15 |
| LMNAex2 | NTRK1 ex9, ex10, ex11, ex15 |
| LMNAex6 | NTRK1 ex9, ex10, ex11, ex15 |
| TPM3ex8 | NTRK1 ex9, ex10, ex11, ex15 |
| STRNex16 | NTRK2 ex12, ex13, ex15, ex16, ex17 |
| AFAPex14 | NTRK2 ex12, ex13, ex15, ex16, ex17 |
| NACC2ex4 | NTRK2 ex12, ex13, ex15, ex16, ex17 |
| QKIex6 | NTRK2 ex12, ex13, ex15, ex16, ex17 |
| TRIM24ex12 | NTRK2 ex12, ex13, ex15, ex16, ex17 |
| PAN3ex1 | NTRK2 ex12, ex13, ex15, ex16, ex17 |
| ETV6ex3 | NTRK3 ex14, ex15 |
| ETV6ex4 | NTRK3 ex14, ex15 |
| STRNex3 | NTRK3 ex14, ex15 |
| STRN3ex3 | NTRK3 ex14, ex15 |
| EML4ex2 | NTRK3 ex14, ex15 |
| SQSTM1ex5 | NTRK3 ex14, ex15 |
| RBPM5ex5 | NTRK3 ex14, ex15 |

FLORESAN İN-SİTU HİBRİDİZASYON

RT-PCR sonucunda NTRK3 füzyon saptanan olgular ZytoLight SPEC NTRK3 çift renk breakapart probu kullanılarak, FISH yöntemi ile füzyon durumu değerlendirildi. Ayrıca rastgele seçilen tümörü korunmuş 11 olguluk bir mikroarray bloğunda FISH yöntemi ile ZytoLight SPEC NTRK1 çift renk breakapart probu kullanılarak NTRK1 füzyonu araştırıldı.

İşlemler sırasıyla şu şekilde gerçekleştirildi. Hazırlanan parafin kesitler deparafinizasyon için 56-60°C'de 16 saat inkübe edildi. İki ayrı kaptaki %100 ksilenlerde 10'ar dakika bekletildi. Rehidratasyon için %100, %85, %70 etanollerden her birinde 3'er dakika olmak üzere geçirildi ve distile suda 3 dakika yıkandı. 99,9°C'de su banyosunda bekleyen pretreatment solüsyonu içinde lamalar 45 dakika bekletildi. Distile su içinde 2 dakika durulandı. Böylelikle hibridizasyon öncesi işlemler gerçekleştirilmiş oldu. Kesitler üzerine pepsin solüsyonu damlatılarak 15 dakika 37°C'de etüvde bekletildi. Bir dakika boyunca distile suda ve 5 dakika 2X SSC (Salin-sodyum sitrat) içinde yıkandı. Sırasıyla %70, %85, %100 etanollerde 1'er dakika bekleterek dehidratasyon gerçekleştirildi. Lamlar karanlık odada oda sıcaklığında kurulandı. Sonraki işlemlere karanlık ortamda devam edildi. FISH probu kesit üzerine eklendi ve doku büyüklüğüne göre uygun lamel kullanılarak kapatıldı. Lamel kenarları kauçuk çimento (rubber cement) ile kapatıldı. Su banyosunda, 80°C'de 5 dakika prob ve hedef DNA denatürasyonu gerçekleştirildi. Kesitler 37°C'de gece boyu hibridizasyon için inkübe edildi. Yine karanlık ortamda; lamel kenarındaki rubber cement dikkatlice çıkarıldı ve lamelin lamdan ayrılması sağlandı. Wash buffer I (Thermofisher) solüsyonunda 2 dakika, 72°C su banyosunda wash buffer II (Thermofisher) solüsyonunda 30 dakika, wash buffer III (Thermofisher) solüsyonunda 1 dakika bekletildi. Sırasıyla %70, %85, %100 etanollerde 1'er dakika bekletilerek dehidratasyon gerçekleştirildi. Lamlar oda sıcaklığında kurutuldu. Her lam üzerine DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol) zemin boyası damlatıldı, lamel ile kapatıldı. DAPI damlatıldıktan sonra en az +4°C'de, en az 2 saat bekletildikten sonra floresan mikroskopunda incelemeye hazır hale geldi.

ZytoLight SPEC NTRK1 çift renk breakapart proba ve ZytoLight SPEC NTRK3 çift renk breakapart proba uygun dalga boyu aqua, yeşil, mavi ve turuncu filtre içeren Leica marka DM 6000 B model floresan mikroskopunda, karanlık ortamda

değerlendirme gerçekleştirildi. Her bir vakada yeşil ve kırmızı floresan sinyaller, en az 50 adet üst üste binmeyen nükleusta uygun filtrelerle sayıldı. Hedef prob kırmızı floresan sinyal ile hibridize olurken, kontrol probu ise yeşil floresan sinyal ile hibridize oldu. Normal bir hücrede, iki adet kırmızı ve yeşil sinyal çifti yan yana görülmektedir. NTRK füzyonu olan anormal bir hücrede bir çift yan yana iken diğer kırmızı ve yeşil sinyal çiftinde ayrılma izlendi. Füzyon pozitif kabul etmek için %20'lik eşik değeri belirlendi.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler, IBM SPSS Statistics 22 paket programı kullanılarak analiz edildi. Kategorik veriler için frekans dağılımı ve yüzdesel veriler tablolar eklenerek sürekli değişkenler için ise medyan değeri, standart sapma, en düşük ve en yüksek değerleri tanımlayıcı istatistikler şeklinde sunuldu. Normal dağılıma uyan sürekli değişkenlerde parametrik T testleri, normal dağılıma uymayanlarda ise nonparametrik T testleri kullanıldı. Kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar "Ki-kare" analizi ile değerlendirildi. Sağkalım analizlerinde, "Kaplan-Meier" yöntemi ve Log Rank değeri kullanıldı. Multivaryasyon analizinde ise Cox regresyon analizi ve Hazard Ratio oranı uygulandı. Tüm analizlerde $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

KLİNİKOPATOLOJİK BULGULAR

Kurumumuzda KHDAK tanısı alan rastgele seçilmiş toplam 295 olgu çalışmaya alındı. Olguların demografik özellikleri ve klinik özellikleri PAÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji ve Göğüs Hastalıkları arşiv kayıtlarından, olguların makroskopik özellikleri PAÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji raporlarından elde edildi. Olguların klinikopatolojik özelliklerine göre dağılımı Tablo 4’te özetlenmiştir.

Tablo 4. Olguların klinikopatolojik özelliklerine göre dağılımı

| Klinikopatolojik Özellikler | | Hasta Sayısı | % |
|-----------------------------|------------|--------------|------|
| Yaş | <50 | 11 | 3,7 |
| | 50-65 | 125 | 42,4 |
| | >65 | 159 | 53,9 |
| Cinsiyet | Kadın | 25 | 8,5 |
| | Erkek | 270 | 91,5 |
| Tümör Yerleşimi | Sağ | 179 | 60,7 |
| | Sol | 106 | 35,9 |
| | Bilinmiyor | 10 | 3,4 |
| Tümör Çapı | <3 cm | 69 | 23,4 |
| | 3-5 cm | 91 | 30,8 |
| | 5-7 cm | 64 | 21,7 |
| | >7 cm | 62 | 21,0 |
| | Bilinmiyor | 9 | 3,1 |
| Len Nodu Metastazı | Var | 125 | 42,4 |
| | Yok | 149 | 50,5 |
| | Bilinmiyor | 21 | 7,1 |
| Uzak Metastaz | Var | 62 | 21,0 |
| | Yok | 215 | 72,9 |
| | Bilinmiyor | 18 | 6,1 |
| Nüks | Var | 37 | 12,5 |
| | Yok | 258 | 87,5 |
| Ex | Var | 235 | 79,7 |
| | Yok | 60 | 20,3 |

Olgulara ait materyallerin 148 (%50,2)'i biyopsi, 92 (%31,2)'si lobektomi, 3 (%1)'ü bilobektomi, 12 (%4,1)'si pnömonektomi, 34 (%11,5)'ü wedge rezeksiyon ve 6 (%2,0)'sı segmentektomiydi. Tümör lokalizasyonu 99 olguda (%33,6) sağ üst lob, 11 olguda (%3,7) sağ orta lob, 53 olguda (%18,0) sağ alt lob, 63 olguda (%21,3) sol üst lob, 32 olguda (%10,8) sol alt lob, 8 olguda (%2,7) sağ hiler bölge, 4 olguda (%1,4) sol hiler bölge, 6 olguda (%2,0) sağ akciğer (tam lokalizasyon bilinmiyor), 7 olguda (%2,4) sol akciğer (tam lokalizasyon bilinmiyor), 2 (%0,7) olgu sağ akciğer üst ve alt lob olarak tespit edildi. On (%3,4) olguda ise lokalizasyon verisine ulaşamadı.

Olguların 270 (%91,5)'i erkek, 25 (%8,5)'i kadındı. Olguların minimum yaşı 35, maksimum yaşı 92'ydi. Ortalama yaş 65,1 ($\pm 8,71$)'di. Cinsiyet grupları ve yaş grupları arasında tümör alt tipleri, anjiolenfatik invazyon, visseral plevra invazyonu, tümör çapı, lenf nodu metastazı, uzak metastaz, evre grupları, sağkalım durumu ve nüks durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tümör odağı sayısı 274 (%92,9) olguda tek, 21 (%7,1) olguda ise birden fazladır. Birden fazla odak bulunan tümörlerin tamamında farklı odaklarda aynı tümör tipi görüldü. SCC olgularının 176 (93,6)'sında tek odak, 12 (%6,4)'ünde iki odak mevcuttu. AK olgularının 76 (%89,4)'sında tek odak, 9 (%10,6)'unda ise iki odak bulunuyordu. Diğer tümör tiplerinin tamamı tek odak şeklindeydi. Tümör odağı sayısı ile tümör alt tipleri, anjiolenfatik invazyon, visseral plevra invazyonu, tümör çapı, lenf nodu metastazı, uzak metastaz, evre grupları, sağkalım durumu ve nüks durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tümör çapı 15 milimetre ile 150 milimetre arasında değişmekteydi. Ortalama tümör çapı 48 ($\pm 23,8$) milimetreydi. Olgular tümör çaplarında göre 0-3 santimetre (cm), 3-5 cm, 5-7 cm ve 7 cm üzeri olmak üzere gruplara ayrıldı. Altmış dokuz (%23,4) olguda 0-3 cm aralığında, 91 (%30,8) olguda 3-5 cm aralığında, 64 (%21,7) olguda 5-7 cm aralığında, 62 (%21,0) olguda ise 7 cm'den büyüktü. Dokuz (%3,1) olguda tümör çapı bilgisine ulaşamadı. Tümör çapı grupları arasında lenf nodu metastazı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,001$). Tümör çapı büyük olgularda lenf nodu evresi daha ileri idi (Tablo 5). Tümör çapı grupları arasında uzak metastaz açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0,001$). Tümör çapı büyük olgularda uzak metastaz daha sık görüldü (Tablo 6). Tümör çapı grupları arasında sağkalım durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü ($p=0,017$).

Tümör çapı büyük olgularda vefat eden hasta oranı daha yüksekti (Tablo 7). Tümör çapı grupları arasında nüks durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 5. Tümör çapı ve lenf nodu metastaz evresi ilişkisi

| | | Lenf Nodu Metastaz Evresi | | | | |
|----------------------|--------------|---------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | | BİLİNMIYOR | N0 | N1 | N2 | N3 |
| Tümör Çapı | BİLİNMIYOR | 7 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| | | %77,8 | %11,1 | %0,0 | %11,1 | %0,0 |
| Hasta Sayısı/ | 0-3 CM | 0 | 45 | 6 | 11 | 7 |
| | | %0,0 | %65,2 | %8,7 | %15,9 | %10,2 |
| %yüzde | 3-5 CM | 5 | 40 | 14 | 24 | 8 |
| | | %5,5 | %44,0 | %15,4 | %26,3 | %8,8 |
| | 5-7 CM | 4 | 26 | 3 | 20 | 11 |
| | | %6,2 | %40,6 | %4,7 | %31,3 | %17,2 |
| | 7 CM ve ÜSTÜ | 5 | 13 | 8 | 28 | 8 |
| | | %8,1 | %21,0 | %12,9 | %45,2 | %12,9 |

Tablo 6. Tümör çapı ve uzak metastaz evresi ilişkisi

| | | Uzak Metastaz Evresi | | | | |
|----------------------|--------------|----------------------|-------|------|-------|-------|
| | | BİLİNMIYOR | M0 | M1A | M1B | M1C |
| Tümör Çapı | BİLİNMIYOR | 6 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| | | %66,7 | %11,1 | %0,0 | %0,0 | %22,2 |
| Hasta Sayısı/ | 0-3 CM | 1 | 58 | 0 | 1 | 9 |
| | | %1,4 | %84,2 | %0,0 | %1,4 | %13,0 |
| %(yüzde) | 3-5CM | 4 | 73 | 4 | 2 | 8 |
| | | %4,4 | %80,2 | %4,4 | %2,2 | %8,8 |
| | 5-7CM | 1 | 41 | 2 | 8 | 12 |
| | | %1,6 | %64,0 | %3,1 | %12,5 | %18,8 |
| | 7 CM ve ÜSTÜ | 6 | 42 | 3 | 4 | 7 |
| | | %9,7 | %67,7 | %4,8 | %6,5 | %11,3 |

Tablo 7. Tümör çapı ve sağkalım durumu ilişkisi

| | | Sağkalım Durumu | |
|-----------------------|--------------|-----------------|---------|
| | | Ölü | Yaşıyor |
| Tümör Çapı | BİLİNMIYOR | 9 | 0 |
| | | %100,0 | %0,0 |
| Hasta Sayısı / | 0-3 CM | 49 | 20 |
| | | %71,0 | %29,0 |
| %(yüzde) | 3-5CM | 69 | 22 |
| | | %75,8 | %24,2 |
| | 5-7CM | 51 | 13 |
| | | %79,7 | %20,3 |
| | 7 CM VE ÜSTÜ | 57 | 5 |
| | | %91,9 | %8,1 |

Olguların patolojik özellikleri PAÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji arşiv kayıtlarından ve iki patolog tarafından preparatların tekrar değerlendirilmesi sonucunda elde edildi. Biyopsi materyalleri mevcut 114 (%77,0) olgu SCC, 25 (%16,9) olgu AK, 9 (%6,1) olgu ise KHDAK tanılıydı. Yüz kırk yedi rezeksiyon materyalinde ise 74 (%50,4) olgu SCC, 60 (%40,8) olgu AK, 10 (%6,8) olgu sarkomatoid karsinom, 3 (%2,0) olgu ise LCC tanısı almıştı. Tüm olguların 188 (%63,7)'i SCC, 85 (%28,8)'i AK, 9 (%3,1)'u KHDAK, 10 (%3,4)'u sarkomatoid karsinom, 3 (%1,0)'ü ise LCC tanılıydı. D-PAS ve Mayers Müsikarmen histokimyasal boyaları ile tespit edilen müsün AK olgularında 68 (%89,2) vakada mevcuttu. On yedi (%10,8) vakada herhangi bir müsün birikimi izlenmedi. Olguların tümör tiplerine ve diğer histopatolojik özelliklerine göre dağılımı Tablo 8'de özetlenmiştir.

Tablo 8. Rezeksiyon materyali olan olguların histopatolojik özelliklerine göre dağılımı

| Histopatolojik Özellikler | | Hasta Sayısı | %(yüzde) |
|---------------------------------------------|--------------------------|---------------------|-----------------|
| Tümör Tipi | Skvamöz Hücreli Karsinom | 74 | 50,4 |
| | Adenokarsinom | 60 | 40,8 |
| | Sarkomatoid Karsinom | 10 | 6,8 |
| | Büyük Hücreli Karsinom | 3 | 2,0 |
| Skvamöz Hücreli Karsinom Alt Tipleri | Keratinize | 6 | 8,1 |
| | Nonkeratinize | 60 | 81,1 |
| | Bazaloid | 8 | 10,8 |
| Adenokarsinom Alt Tipleri | Nonmüsinöz | 57 | 95 |
| | Müsinöz | 3 | 5 |
| Nonmüsinöz Adenokarsinom Alt Tipleri | Asiner | 32 | 56,1 |
| | Lepidik | 4 | 7,0 |
| | Solid | 10 | 17,6 |
| | Papiller | 9 | 15,8 |
| | Mikropapiller | 2 | 3,5 |
| Anjiolenfatik İnvazyon | Var | 87 | 59,2 |
| | Yok | 60 | 40,8 |
| Perinöral İnvazyon | Var | 12 | 8,2 |
| | Yok | 135 | 91,8 |
| Tümör Stroması | Desmoplastik | 77 | 52,4 |
| | Lenfositik | 70 | 47,6 |

Tümör tipleri arasında cinsiyet grupları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($r=17.698$, $p<0.001$). Adenokarsinomlar kadınlarda daha fazla görüldü (Tablo 9).

Tablo 9. Cinsiyet ve tümör tipi ilişkisi

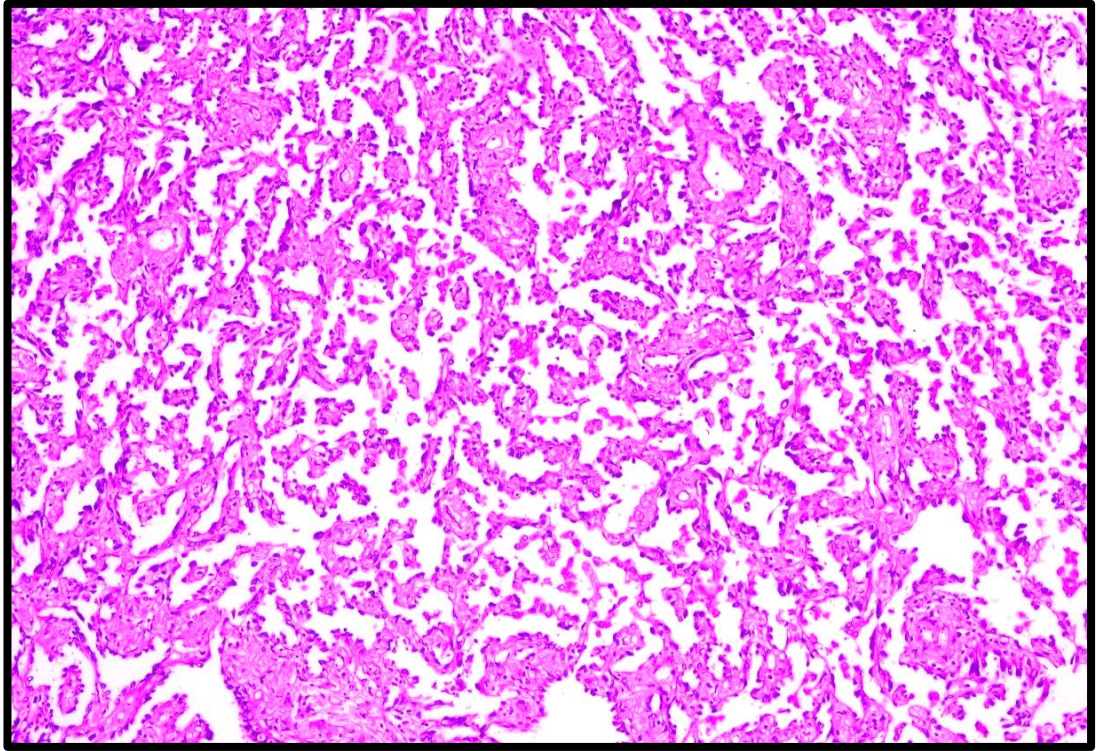
| | | Cinsiyet | |
|-----------------------|--------------------------|----------|-------|
| | | Erkek | Kadın |
| TÜMÖR Tipi | SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOM | 180 | 8 |
| | | %95,7 | %4,3 |
| Hasta Sayısı / | ADENOKARSİNOM | 69 | 16 |
| | | %81,2 | %18,8 |
| %(yüzde) | DİĞER | 21 | 1 |
| | | %95,5 | %4,5 |

Tümör tiplerine göre gruplar arasında anjiolenfatik invazyon, visseral plevra invazyonu, tümör evresi, lenf nodu metastazı, uzak metastaz, evre grupları ve sağkalım durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Tümör tiplerine göre gruplar arasında nüks durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,025$). Adenokarsinomların daha fazla nüks ettiği görüldü (Tablo 10).

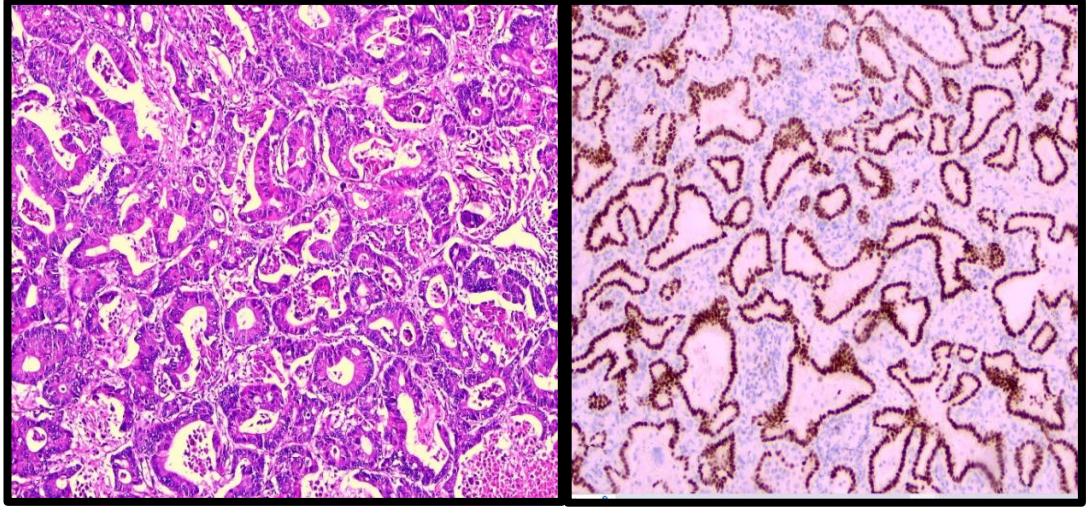
Tablo 10. Tümör tipi ve nüks durumu ilişkisi

| | | Nüks Durumu | |
|---------------------|--------------------------|-------------|-------|
| | | Yok | Var |
| Tümör Tipi | SKUAMÖZ HÜCRELİ KARSİNOM | 169 | 19 |
| | | %89,9 | %10,1 |
| Hasta Sayısı | ADENOKARSİNOM | 68 | 17 |
| | | %80,0 | %20,0 |
| / %(yüzde) | DİĞER | 21 | 1 |
| | | %95,5 | %4,5 |

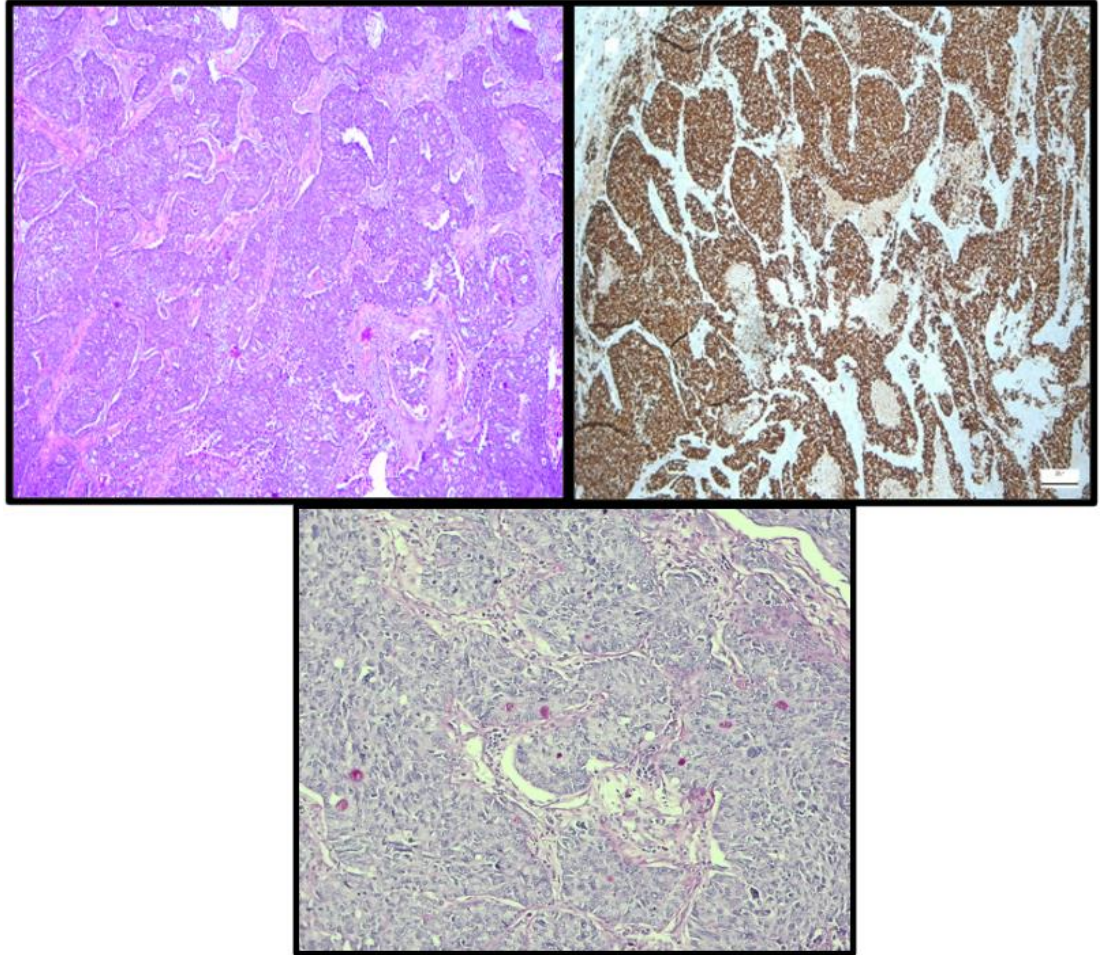
AK tanısı konulan 60 adet rezeksiyon materyalinde 57 (%95,0) olgu invaziv nonmüsinöz AK, 1 (%1,7) olgu invaziv müsinöz AK, 1 (%1,7) olgu kolloid AK, 1 (%1,6) olgu ise enterik tip AK'du. Nonmüsinöz AK'ların 32 (%56,1)'si asiner, 4 (%7,0)'ü lepidik, 10 (%17,6)'u solid, 9 (%15,8)'u papiller, 2 (%3,5)'si ise mikropapiller tipteydi. Adenokarsinom tanılı olgularda baskın paternlere göre gruplar arasında anjiolenfatik invazyon, visseral plevra invazyonu, tümör evresi, lenf nodu metastazı, uzak metastaz, evre grupları, nüks durumu ve sağkalım durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).



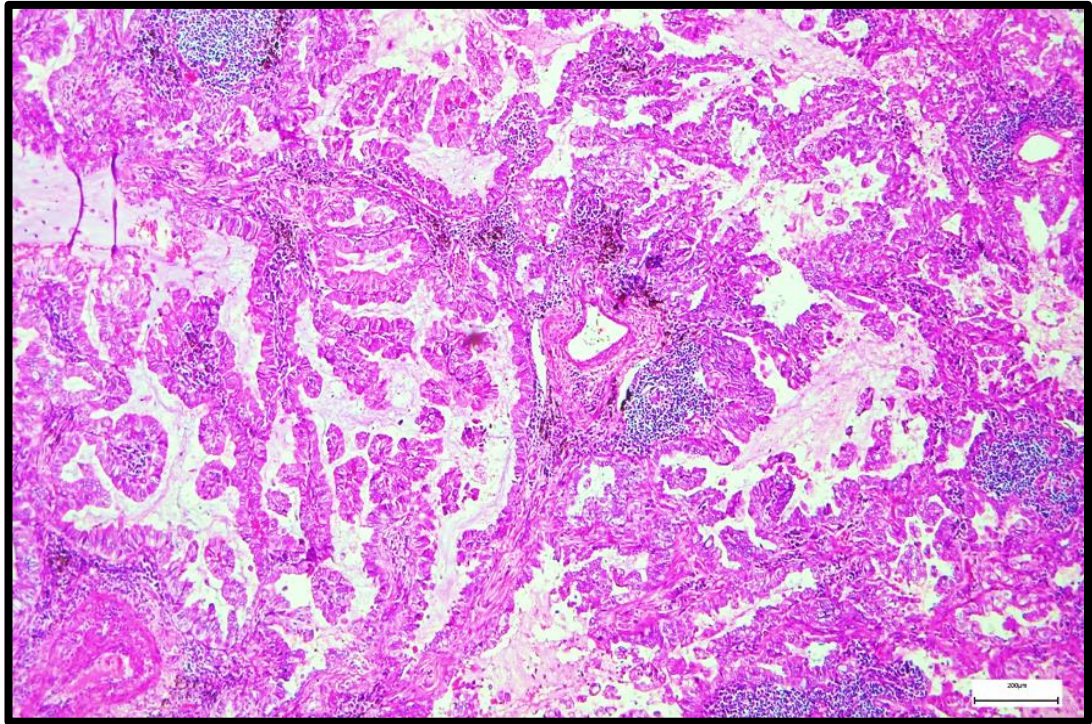
Resim 2. Lepidik Patern, Adenokarsinom (H&E, x100)



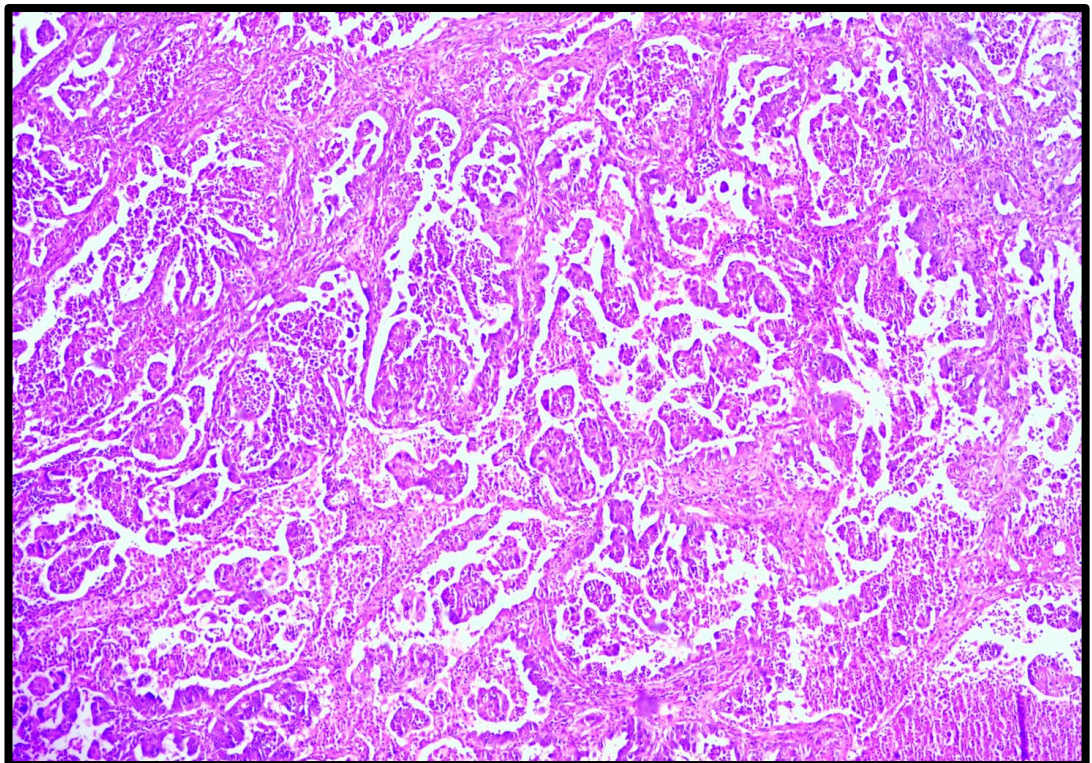
Resim 3. Asiner Patern, Adenokarsinom (H&E, x100, sol); İHK'sal olarak TTF-1 boyanma (x100, sağ)



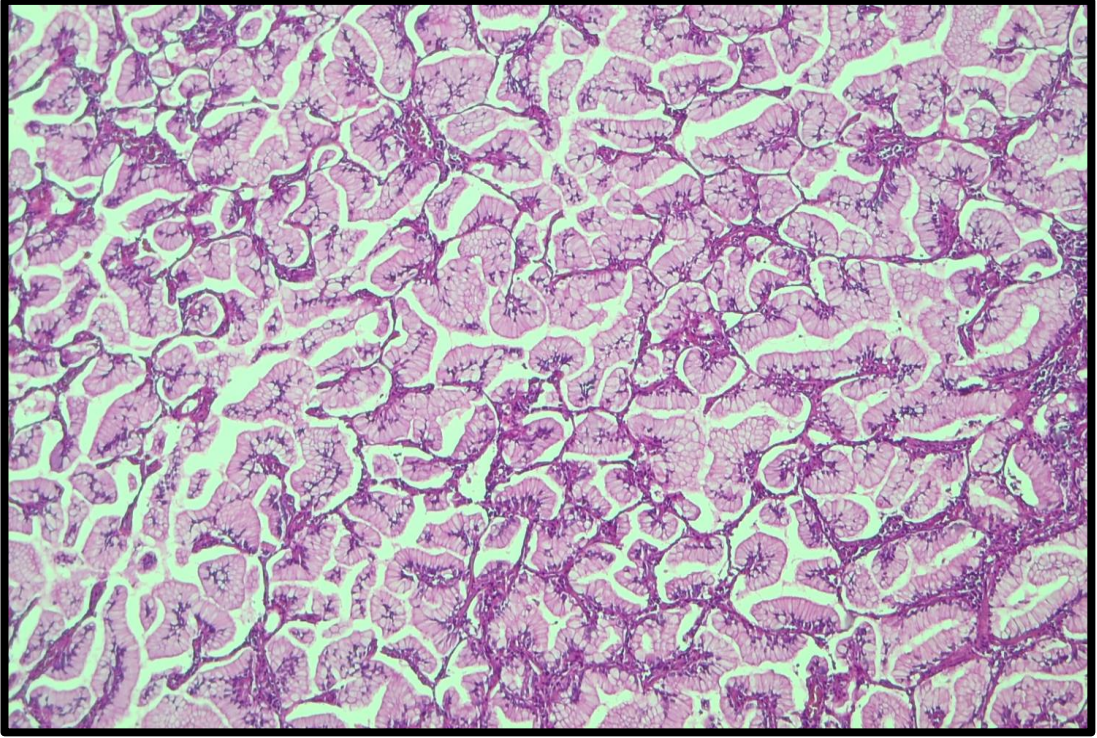
Resim 4. Solid Patern, Adenokarsinom (H&E, x100, sol üst); İHK'sal olarak TTF-1 boyanma (x100, sağ üst); d-PAS histokimyasal boyası ile mûsin birikimi (x100, alt)



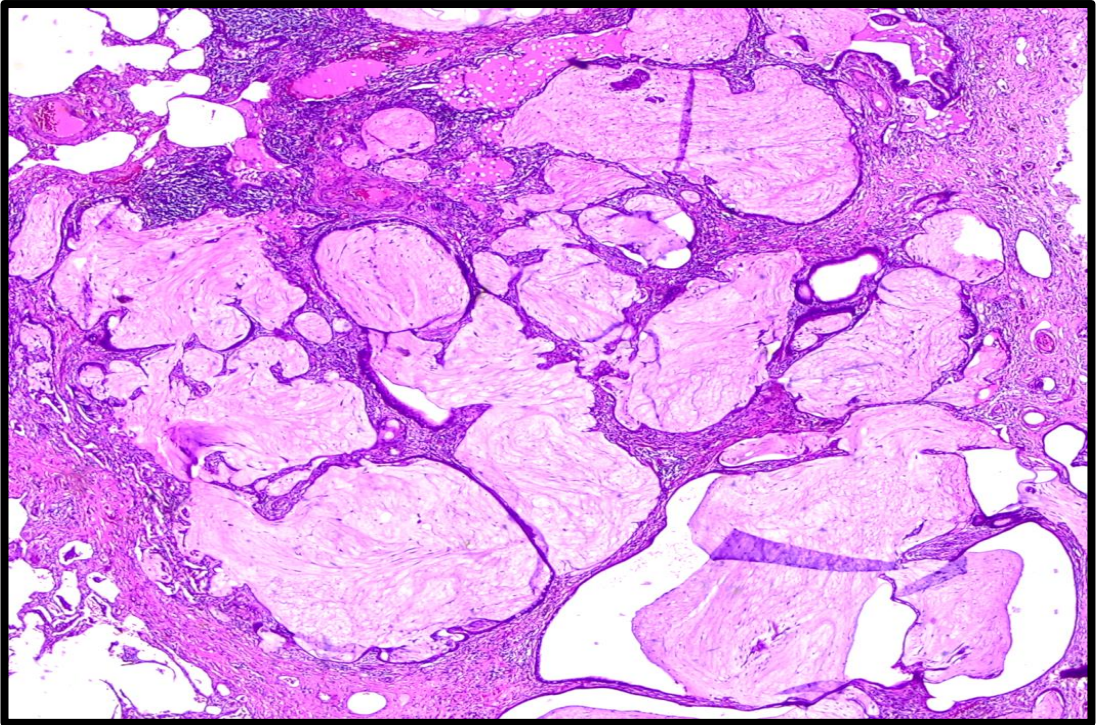
Resim 5. Papiller Patern, Adenokarsinom (H&E, x40).



Resim 6. Mikropapiller Patern, Adenokarsinom (H&E, x100).

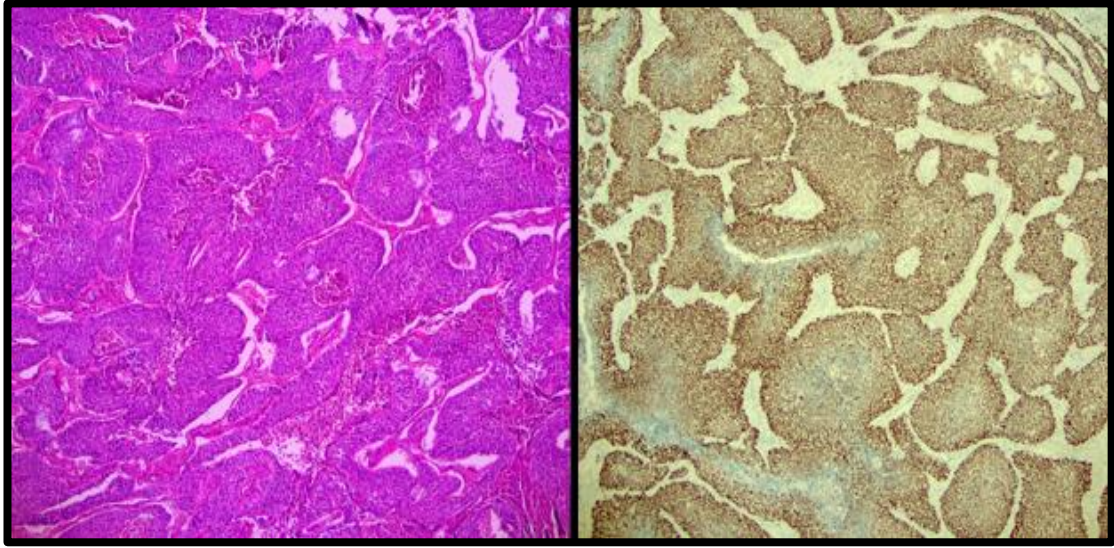


Resim 7. Müsinöz Adenokarsinom (H&E, x40).

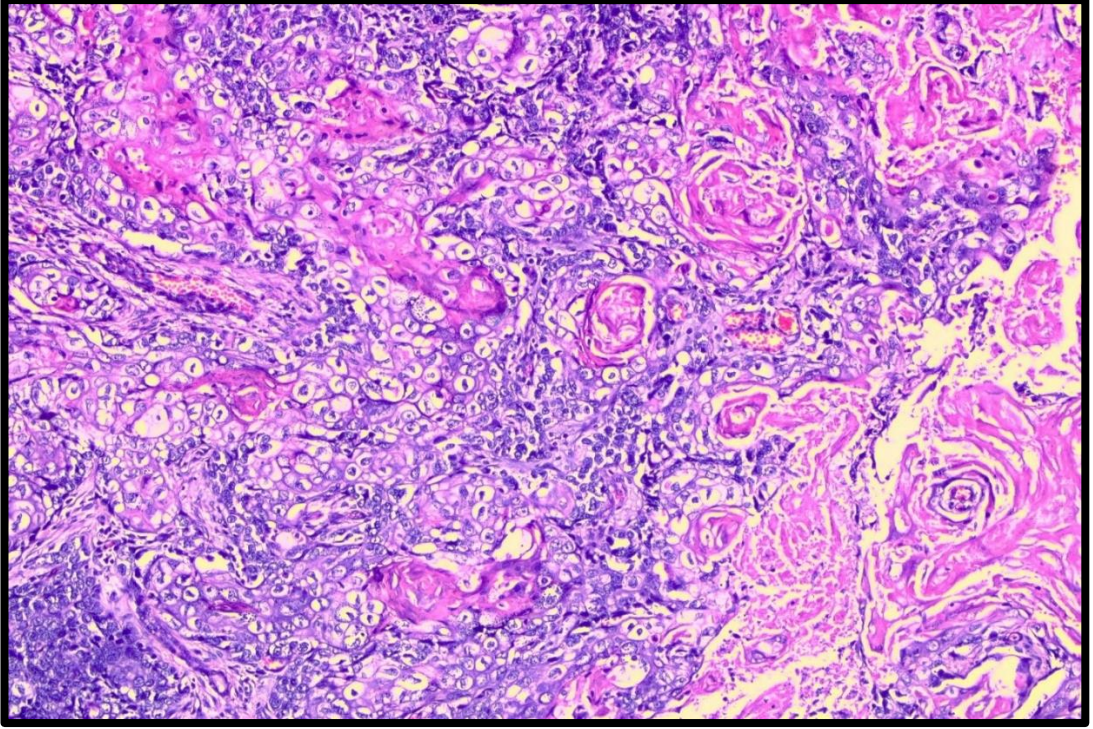


Resim 8. Kolloid Adenokarsinom (H&E, x40).

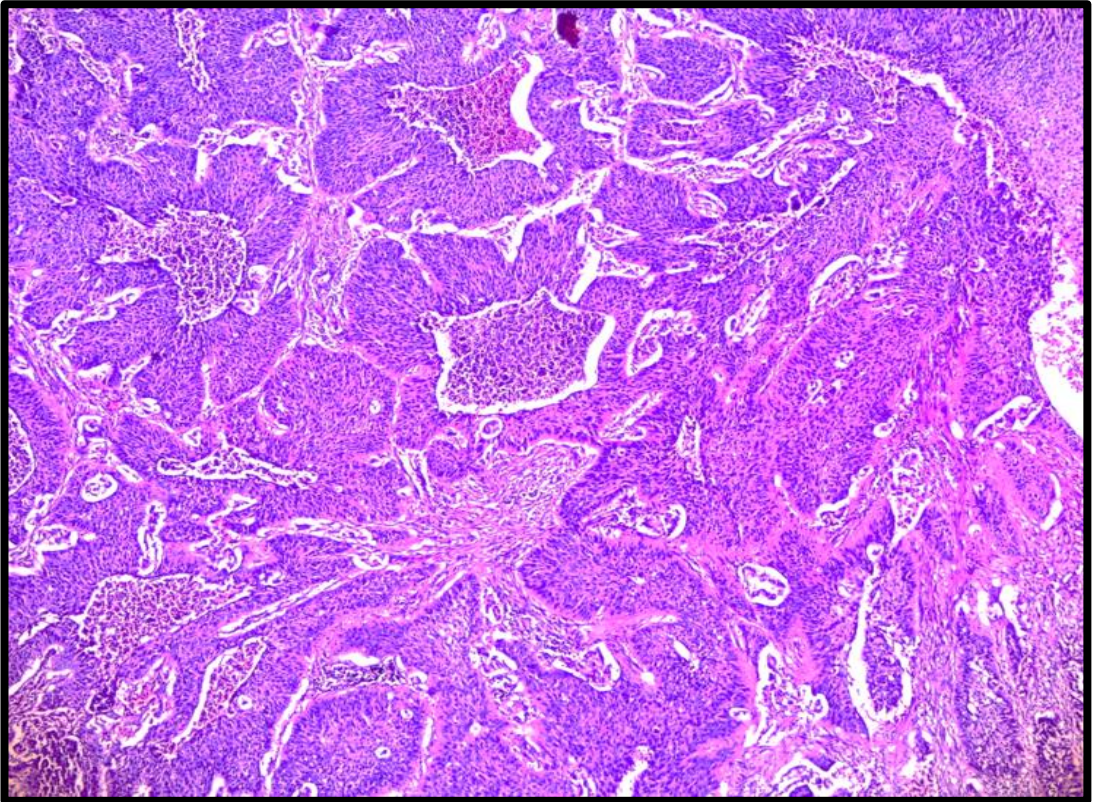
Rezeksiyon materyallerinde SCC tanısı almış 74 olgunun 60 (%81,1)'i nonkeratinize SCC, 6 (%8,1)'sı keratinize SCC, 8 (%10,8)'i bazaloid SCC'ydi. SCC alt tipleri arasında anjiolenfatik invazyon, visseral plevra invazyonu, tümör evresi, lenf nodu metastazı, uzak metastaz, evre grupları, nüks durumu ve sağkalım durumu açısından fark olup olmadığı bazı gruplarda hasta bulunmaması ve/veya az sayıda hasta bulunması nedeniyle istatistiksel olarak hesaplanamadı.



Resim 9. Nonkeratinize Tip, Skuamöz Hücreli Karsinom (H&E, x40, sol); İHK'sal olarak p40 boyanma (x40, sağ)

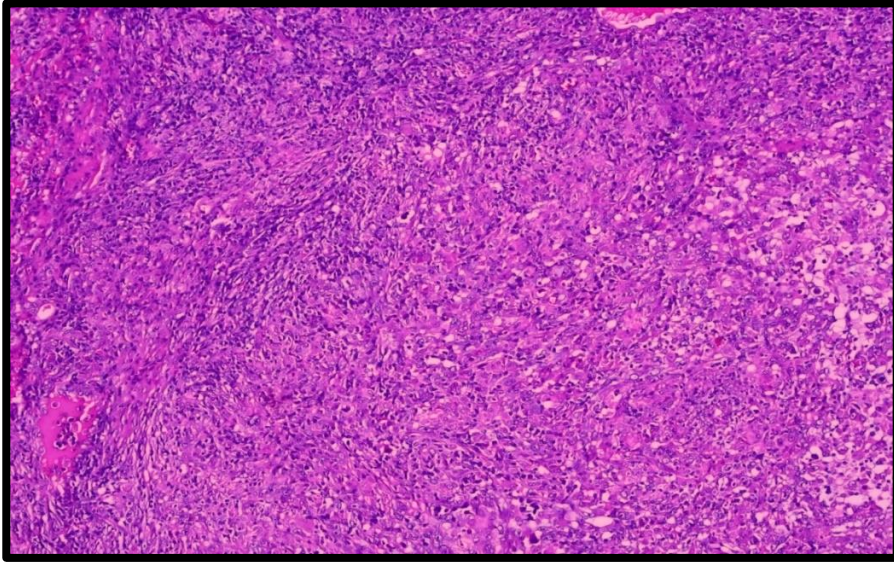


Resim 10. Keratinize Tip, Skuamöz Hücreli Karsinom (H&E, x100)

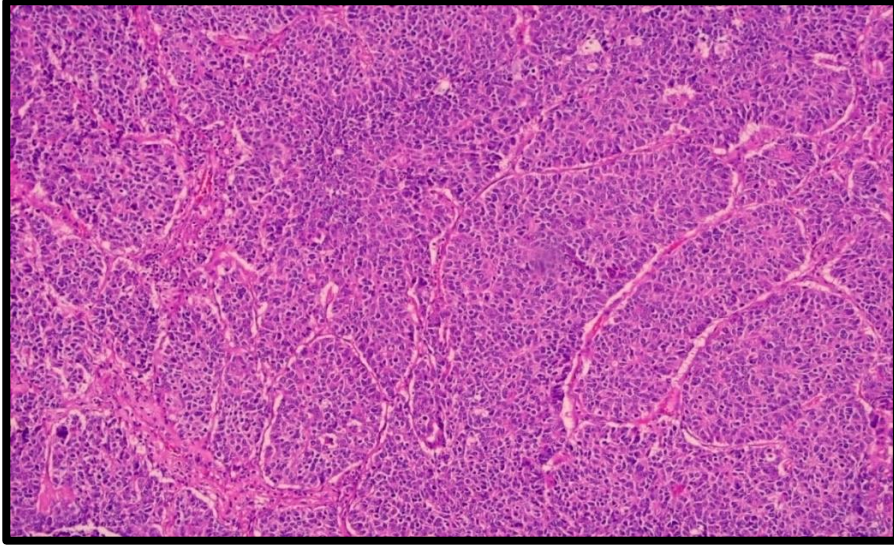


Resim 11. Bazaloid Tip, Skuamöz Hücreli Karsinom (H&E, x100)

Rezeksiyon materyallerinde sarkomatoid karsinom tanısı almış 10 olgunun 9 (%90)'u pleomorfik tip, 1 (%10)'i dev hücreli tip'ti. Sarkomatoid karsinom alt tipleri arasında anjiolenfatik invazyon, visseral plevra invazyonu, tümör evresi, lenf nodu metastazı, uzak metastaz, evre grupları, nüks durumu ve sağkalım durumu açısından fark olup olmadığı gruplardaki hasta sayısının az olması nedeniyle belirlenemedi. Rezeksiyon materyallerinde LCC tanısı almış 3 olgu da 'null-immünofenotip'ti.



Resim 12. Sarkomatoid Karsinom, İğsi Hücreli Komponent (H&E, x100).



Resim 13. Büyük Hücreli Karsinom (H&E, x100).

Rezeksiyon materyallerinde 77 (%52,4) olgunun stroması desmoplastik, 70 (%47,6) olgunun stroması lenfositikti. Tümör stromasına göre gruplar arasında tümör evresi, lenf nodu metastazı evresi, uzak metastaz, nüks durumu ve sağkalım durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Rezeksiyon materyallerinde 87 (%59,2) olguda anjiolenfatik invazyon mevcuttu. Altmış (%40,8) olguda ise anjiolenfatik invazyon saptanmadı. Anjiolenfatik invazyon durumuna göre gruplar arasında lenf nodu metastaz evresi açısından anlamlı fark tespit edildi ($p=0,02$) (Tablo 11). Anjiolenfatik invazyon durumuna göre gruplar arasında tümör evresi, uzak metastaz, nüks durumu ve sağkalım durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 11. Anjiolenfatik invazyon ve lenf nodu metastazı ilişkisi

| | | Lenf Nodu Metastazı | | | |
|-----------------------|-----|---------------------|-------|-------|------|
| | | N0 | N1 | N2 | N3 |
| Anjiolenfatik | Yok | 53 | 3 | 3 | 1 |
| İnvazyon | | %88,3 | %5,0 | %5,0 | %1,7 |
| Hasta Sayısı / | Var | 52 | 23 | 11 | 1 |
| %(yüzde) | | %59,8 | %26,4 | %12,6 | %1,2 |

Rezeksiyon materyallerinde 12 (%8,2) olguda perinöral invazyon mevcuttu. Yüz otuz beş (%91,8) olguda ise perinöral invazyon görülmedi. Perinöral invazyon durumuna göre gruplar arasında tümör evresi, lenf nodu metastazı evresi, uzak metastaz ve sağkalım durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Perinöral invazyon izlenen ve izlenmeyen olgular arasında nüks durumu arasında anlamlı fark saptandı ($p=0,05$). Perinöral invazyon izlenen olgularda daha fazla nüks görüldü (Tablo 12).

Tablo 12. Perinöral invazyon ve nüks durumu ilişkisi

| | | Nüks Durumu | |
|------------------------------------|-----|-------------|-------|
| | | Yok | Var |
| Perinöral İnvazyon | Yok | 110 | 25 |
| | | %81,5 | %18,5 |
| Hasta Sayısı / %(yüzde) | Var | 7 | 5 |
| | | %58,3 | %41,7 |

Rezeksiyon materyalleri bulunan 111 olgunun bronş veya bronşiyol cerrahi sınırında 108 (%97,3) olguda tümör görülmezken, 3 (%2,7) olguda ise cerrahi sınırda invazyon mevcuttu. Bu olguların 92 (%82,9)'si lobektomi, 3 (%2,7)'ü bilobektomi, 12 (%10,8)'si pnömonektomi, ve 4 (%3,6)'ü segmentektomiydi.

Rezeksiyon materyallerinde laboratuvarımıza ait preparatlardan, biyopsi materyallerinde ise görüntüleme bulgularından tespit edilen visseral plevra invazyonu 295 olgunun 186 (%63,1)'ında mevcut iken 88 (%29,8) olguda ise yoktu. Yirmi bir (%7,1) olgunun ise visseral plevra invazyonu bilgisine ulaşamadı. Visseral plevra invazyon durumu ile tümör grupları, lenf nodu metastazı evresi, uzak metastaz ve sağkalım durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$). Rezeksiyonu yapılmış olgularda patolojik olarak kanıtlanmış 53 (%36,1) olguda visseral plevra invazyonu izlenirken, 94 (%63,9) olguda ise visseral plevra invazyonu görülmemiştir. Visseral plevra invazyonu olan ve olmayan gruplar arasında lenf nodu metastazı, uzak metastaz, sağkalım durumu ve nüks durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Rezeksiyon materyallerinde patolojik evre, biyopsi materyallerinde ise klinik evre referans alınarak belirlenen evre grupları 16 (%5,4) olguda 1A2, 26 (%8,8) olguda 1A3, 29 (%9,8) olguda 1B, 14 (%4,7) olguda 2A, 36 (%12,2) olguda 2B, 45 (%15,3) olguda 3A, 39 (%13,2) olguda 3B, 10 (%3,4) olguda 3C, 23 (%7,8) olguda 4A, 39 (%13,2) olguda 4B olarak saptandı. On sekiz (%6,2) olgunun ise evre grubu belirlenemedi (Tablo 13).

Tablo 13. Olguların evre gruplarına göre dağılımı

| Evre Grupları | Hasta Sayısı | % (yüzde) |
|----------------------|---------------------|------------------|
| 1A2 | 16 | 5,4 |
| 1A3 | 26 | 8,8 |
| 1B | 29 | 9,8 |
| 2A | 14 | 4,7 |
| 2B | 36 | 12,2 |
| 3A | 45 | 15,3 |
| 3B | 39 | 13,2 |
| 3C | 10 | 3,4 |
| 4A | 23 | 7,8 |
| 4B | 39 | 13,2 |
| Bilinmiyor | 18 | 6,2 |

Rezeksiyon materyallerinde patolojik T evresi, biyopsi materyallerinde ise radyolojik veriler ışığında klinik T evresi esas alındı. T evresi 2 (%0,7) olguda T1A, 21 (%7,1) olguda T1B, 38 (%12,9) olguda T1C, 44 (%14,9) olguda T2A, 34 (%11,5) olguda T2B, 67 (%22,7) olguda T3, 81 (%27,5) olguda T4 olarak belirlendi. Sekiz (%2,7) olgunun ise T evresi belirlenemedi. Rezeksiyonu yapılmış olgularda patolojik T evresi grupları arasında lenf nodu metastazı, uzak metastaz, sağkalım durumu ve nüks durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Tümör evresine göre gruplar arasında sağkalım durumu açısından anlamlı fark izlendi ($p<0,001$) (Tablo 14). Tümör evresi ileri olgularda vefat eden hasta oranının daha yüksek olduğu görüldü.

Tablo 14. Tümör (T) evresi ve sağkalım durumu ilişkisi

| | | Sağkalım Durumu | |
|-----------------------|------------|-----------------|---------|
| | | Ölü | Yaşiyor |
| T Evresi | BİLİNMIYOR | 8 | 0 |
| | | %100,0 | %0,0 |
| Hasta Sayısı / | T1A | 1 | 1 |
| | | %50,0 | %50,0 |
| %(yüzde) | T1B | 14 | 7 |
| | | %66,7 | %33,3 |
| | T1C | 27 | 11 |
| | | %71,1 | %28,9 |
| | T2A | 28 | 16 |
| | | %63,6 | %36,4 |
| | T2B | 24 | 10 |
| | | %70,6 | %29,4 |
| | T3 | 57 | 10 |
| | | %85,1 | %14,9 |
| | T4 | 76 | 5 |
| | | %93,8 | %6,2 |

Rezeksiyon materyallerinde patolojik N evresi, biyopsi materyallerinde ise radyolojik veriler ışığında klinik N evresi esas alındı. N evresi 125 (%42,4) olguda N0, 31 (%10,5) olguda N1, 84 (%28,5) olguda N2, 34 (%11,5) olguda N3 olarak belirlendi. Yirmi bir (%7,1) olgunun ise N evresi belirlenemedi. Rezeksiyonu yapılmış 147 olgunun 105 (%71,4)'i N0, 26 (%17,7)'sı N1, 14 (%9,5)'ü N2, 2 (%1,4)'si ise N3'tü. Rezeksiyonu yapılmış olgularda lenf nodu metastazı olan ve olmayan gruplar arasında uzak metastaz durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (p=0,002) (Tablo 15). Lenf nodu metastazı mevcut olgularda uzak metastaz oranının daha yüksek olduğu tespit edildi.

Tablo 15. Rezeksiyonu yapılan olgularda lenf nodu metastazı ve uzak metastaz ilişkisi

| | | Uzak Metastaz | |
|-----------------------------------|-----|---------------|-------|
| | | Yok | Var |
| Lenf Nodu Metastazı | Yok | 104 | 1 |
| | | %99,0 | %1,0 |
| Hasta Sayısı/ %(yüzde) | Var | 37 | 5 |
| | | %88,1 | %11,9 |

Rezeksiyonu yapılmış olgularda lenf nodu metastazı olan ve olmayan gruplar arasında sağkalım ve nüks durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$). Lenf nodu metastazı evre grupları arasında sağkalım durumu açısından anlamlı fark saptandı ($p<0,001$) (Tablo 16). Lenf nodu metastaz evresi ileri olgularda vefat eden hasta oranının daha yüksek olduğu görüldü.

Tablo 16. Lenf nodu metastaz evresi ve sağkalım durumu ilişkisi

| | | Sağkalım Durumu | |
|------------------------------------|------------|-----------------|---------|
| | | ÖLÜ | YAŞIYOR |
| Lenf Nodu Metastazı | BİLİNMIYOR | 21 | 0 |
| | | %100,0 | %0,0 |
| Hasta Sayısı / %(yüzde) | N0 | 81 | 44 |
| | | %64,8 | %35,2 |
| | N1 | 21 | 10 |
| | | %67,7 | %32,3 |
| | N2 | 78 | 6 |
| | | %92,9 | %7,1 |
| | N3 | 34 | 0 |
| | | %100,0 | %0,0 |

Laboratuvarımıza ait preparatlardan ve/veya görüntüleme bulgularından tespit edilen M (Uzak Metastaz) evresi 215 (%72,9) olguda M0, 9 (%3,1) olguda M1A, 15 (%5,0) olguda M1B, 38 (%12,9) olguda M1C olarak belirlendi. On sekiz (%6,1) olgunun ise M evresi belirlenemedi. Uzak metastaz evre grupları ile sağkalım durumu

arasında anlamlı fark bulundu ($p<0,001$) (Tablo 17). Uzak metastaz evresi ileri olgularda vefat eden hasta oranı daha yüksekti.

Tablo 17. Uzak metastaz durumu ve sağkalım durumu ilişkisi

| | | Sağkalım Durumu | |
|----------------|------------|-----------------|---------|
| | | Ölü | Yaşıyor |
| Uzak Metastaz | BİLİNMIYOR | 18 | 0 |
| | | %100,0 | %0,0 |
| Hasta Sayısı / | M0 | 156 | 59 |
| | | %72,6 | %27,4 |
| % (yüzde) | M1A | 9 | 0 |
| | | %100,0 | %0,0 |
| | M1B | 15 | 0 |
| | | %100,0 | %0,0 |
| | M1C | 37 | 1 |
| | | %97,4 | %2,6 |

Olguların 37 (%12,5)'sinde radyolojik veya patolojik olarak nüks tespit edilirken, 258 (%87,5)'inde ise görülmedi. Bu 37 olgunun 12 (%32,4)'sinde patolojik, 25 (%67,6)'inde ise radyolojik olarak nüks tespit edildi.

Rezeksiyonu gerçekleşmiş 147 hastanın 20 (%13,6)'si neoadjuvan tedavi almış, 127 (%86,4)'si ise almamıştı. Rezeksiyonu yapılan olguların neoadjuvan tedavi durumlarına göre gruplar arasında nüks ve sağkalım durumları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

İMMÜNİSTOKİMYASAL BULGULAR

AK tanılı olgularda İHK'sal olarak TTF-1 ekspresyonu 73 (%85,9) vakada pozitif, 12 (%14,1) vakada ise negatifti. Yüz yirmi beş SCC olgusunda İHK'sal olarak p40/p63 ekspresyonu 123 (%98,4) vakada pozitif, 2 (%1,6) vakada ise negatifti. Altmış üç iyi diferansiye SCC olgusuna ise İHK'sal inceleme yapılmadı.

Tüm olgulardan hazırlanan mikroarray kesitlerine uygulanan Pan-TRK İHK'sal incelemesinde olguların 24 (%8,1)'ünde herhangi bir paternde ekspresyon izlenirken, 271 (%91,9) olguda ise herhangi bir ekspresyon görülmedi. Dört (%1,4) olguda diffüz

sitoplazmik, 10 (%3,4) olguda fokal sitoplazmik, 10 (%3,4) olguda fokal nükleer ekspresyon izlendi.

Araştırmamızdaki 25 kadın olgunun hiçbirisinde (%100) Pan-TRK ekspresyonu görülmedi. Erkeklerde ise 24 (%8,9) hastada farklı paternlerde Pan-TRK ekspresyonu izlenirken, 246 (%91,1) hastada ise ekspresyon izlenmedi.

Altmış beş yaşından küçük hastaların 11 (%8,1)'i farklı paternlerde Pan-TRK ekspresyonu gösterirken 125 (%91,9) hastada ise ekspresyon görülmedi. Altmışbeş yaşından büyüklerde ise 13 (%8,2) hastada farklı paternlerde Pan-TRK ekspresyonu izlenirken, 146 (%91,8) hastada ise ekspresyon saptanmadı.

Tek tümör odağı olan olguların 21 (%7,7)'i farklı paternlerde Pan-TRK ekspresyonu gösterirken 253 (%92,3) hastada ise ekspresyon görülmedi. Multipl tümör odağı olan olgularda 3 (%14,3) hastada farklı paternlerde Pan-TRK ekspresyonu izlenirken, 17 (%85,7) hastada ise ekspresyon izlenmedi.

Pan-TRK ekspresyonu tümör çapı 0-3 cm olan 3 (%4,3) olguda saptanırken, 66 (%95,7) olguda ise saptanmadı. Tümör çapı 3-5 cm olan 13 (%14,3) olguda Pan-TRK ekspresyonu görülürken, 78 (%85,7) olguda ise görülmedi. Tümör çapı 5-7 cm olan 1 (%1,6) olguda Pan-TRK ekspresyonu saptanırken, 63 (%98,4) olguda ise saptanmadı. Tümör çapı 7 cm'den büyük 6 (%9,7) olguda Pan-TRK ekspresyonu saptanırken, 56 (%90,3) olguda ise saptanmadı.

Pan-TRK ekspresyonu SCC tanılı 18 (%9,6) olguda görülürken, 170 (%90,4) olguda ise görülmedi. AK tanılı 3 (%3,5) olguda Pan-TRK ekspresyonu saptanırken, 82 (%96,5) olguda ise saptanmadı. KHDAK tanılı 2 (%22,2) olguda Pan-TRK ekspresyonu izlenirken, 7 (%77,8) olguda ise izlenmedi. Sarkomatoid karsinom tanılı 1 (%10,0) olguda Pan-TRK ekspresyonu tespit edilirken, 9 (%90,0) olguda ise tespit edilmedi. LCC olgularının 3 (%100)'ünde de Pan-TRK ile herhangi bir ekspresyon görülmedi.

Pan-TRK ekspresyonu nonmüsinöz AK tanılı asiner komponent baskın 1 (%3,1) olguda saptanırken, 31 (%96,9) olguda ise saptanmadı. Lepidik komponent baskın 4 (%100,0) olguda ve solid komponent baskın 10 (%100,0) olguda Pan-TRK ekspresyonu izlenmedi. Papiller komponent baskın 1 (%11,1) olguda Pan-TRK ekspresyonu saptanırken, 8 (%88,9) olguda ise görülmedi. Mikropapiller komponent baskın 2 (%100,0) olguda da Pan-TRK ekspresyonu izlenmedi.

Pan-TRK ekspresyonu SCC tanıli keratinize tip 6 (%100,0) olguda saptanmadı. Nonkeratinize tip 10 (%16,7) olguda Pan-TRK ekspresyonu izlenirken, 50 (%83,3) olguda ise görülmedi. Bazaloid tip 1 (%12,5) olguda Pan-TRK ekspresyonu saptanırken, 7 (%87,5) olguda ise tespit edilmedi.

Pan-TRK ekspresyonu anjiolenfatik invazyon saptanan 11 (%12,6) olguda görülürken, 76 (%87,4) olguda ise tespit edilmedi. Anjiolenfatik invazyon izlenmeyen 4 (%6,7) olguda Pan-TRK ekspresyonu izlenirken, 56 (%93,3) olguda ise ekspresyon görülmedi.

Pan-TRK ekspresyonu perinöral invazyon saptanan 2 (%16,7) olguda görülürken, 10 (%83,3) olguda ise tespit edilmedi. Perinöral invazyon izlenmeyen 13 (%9,6) olguda Pan-TRK ekspresyonu izlenirken, 122 (%90,4) olguda ise ekspresyon görülmedi.

Pan-TRK ekspresyonu tümör stroması desmoplastik olan 11 (%14,3) olguda görülürken, 66 (%85,7) olguda ise görülmedi. Tümör stroması lenfositik olan 4 (%5,7) olguda Pan-TRK ekspresyonu izlenirken, 66 (%94,3) olguda ise saptanmadı.

T evresi T1A olan hastaların 2 (%100)'sinde Pan-TRK ekspresyonu yoktu. T1B olan 1 (%4,8) olguda Pan-TRK ekspresyonu tespit edilirken, 20 (%95,2) olguda ise görülmedi. T1C olan 5 (%13,2) olguda Pan-TRK ekspresyonu izlenirken, 33 (%86,8) olguda saptanmadı. T2A olan 2 (%4,5) olguda ekspresyon görülürken, 42 (%95,5) olguda izlenmedi. T2B olan 4 (%11,8) Pan-TRK ekspresyonu saptanırken, 30 (%88,2) olguda ise tespit edilmedi. T3 olan 4 (%6,0) olguda Pan-TRK ekspresyonu görülürken, 63 (%94,0) olguda ise izlenmedi. T4 olan 6 (%7,4) olguda Pan-TRK ekspresyonu saptanırken, 75 (%92,6) olguda görülmedi. Evre bilgisine ulaşılabilen 2 (%25) hastada Pan-TRK ekspresyonu görülürken, 6 (%75) olguda ise ekspresyon tespit edilmedi.

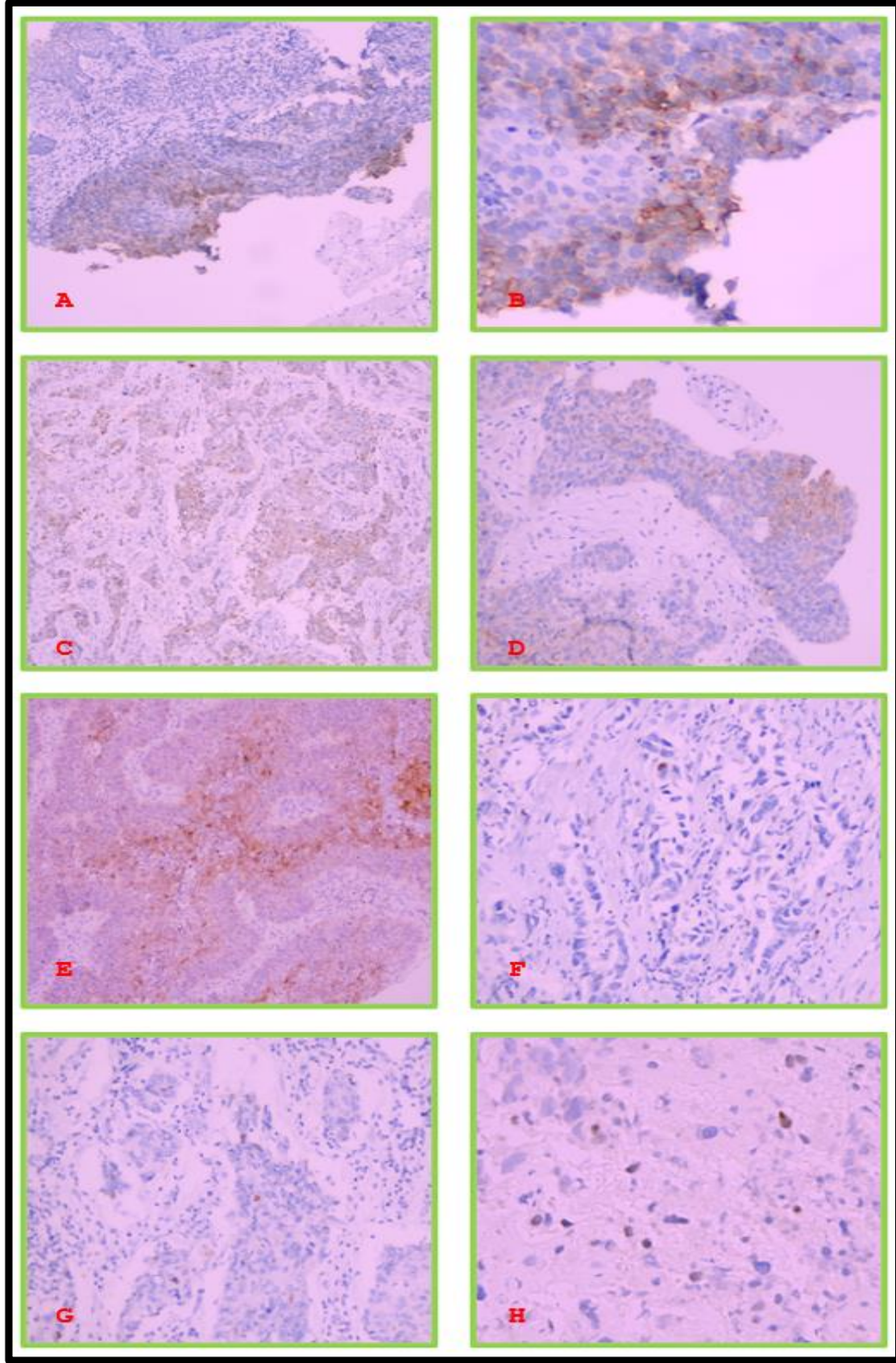
N evresi N0 olan hastaların 11 (%8,8)'inde Pan-TRK ekspresyonu varken, 114 (%91,2) olguda ise saptanmadı. N1 olan 4 (%12,9) olguda Pan-TRK ekspresyonu saptanırken, 27 (%87,1) olguda tespit edilmedi. N2 olan 5 (%6,0) olguda ekspresyon görülürken, 79 (%94,0) olguda izlenmedi. N3 olan 2 (%5,9) olguda Pan-TRK ekspresyonu saptanırken, 32 (%94,1) olguda görülmedi. Evre bilgisine ulaşılabilen 2 (%9,5) hastada Pan-TRK ekspresyonu tespit edilirken, 19 (%90,5) olguda ise saptanmadı.

Lenf nodu metastazı olmayan 11 (%8,8) olguda Pan-TRK ekspresyonu izlenirken, herhangi bir lenf nodu metastazı tespit edilmiş 149 olgunun 11 (%7,4)'inde Pan-TRK ekspresyonu tespit edildi.

İkiyüz yetmiş yedi olgunun uzak metastaz bilgisine ulaşıldı. Uzak metastaz evresi M0 olan 19 (%8,8) olguda Pan-TRK ekspresyonu tespit edilirken, 196 (%91,2) olguda ise saptanmadı. M1A olan 2 (%22,2) olguda Pan-TRK ekspresyonu izlenirken, 7 (%77,8) olguda ise görülmedi. M1B olan 15 (%100,0) olguda da ekspresyon saptanmadı. M1C olan 2 (%5,3) olguda Pan-TRK ekspresyonu tespit edilirken, 36 (%94,7) olguda ise izlenmedi. Evre bilgisine ulaşılamayan 1 (%5,6) olguda Pan-TRK ekspresyonu saptanırken, 17 (%94,4) olguda ise tespit edilmedi.

Popülasyonumuzdaki tüm hastaların 37 (%12,5)'sinde nüks tespit edildi. Nüks tespit edilen olguların 3 (%8,1)'ünde Pan-TRK İHK'sal ekspresyonu görülürken, 34 (%91,9) olguda ekspresyon izlenmedi. Nüks saptanmayan 258 olgunun 21 (%8,1)'inde İHK'sal Pan-TRK İHK'sal ekspresyonu tespit edilirken, 237 (%91,9) olguda ekspresyon görülmedi.

İHK'sal Pan-TRK ekspresyonu ile cinsiyet, yaş, tümör odak sayısı, tümör çapı, tümör tipleri, tümör alt tipleri, anjiolenfatik invazyon durumu, perinöral invazyon durumu, tümör stroması, lenf nodu metastazı, uzak metastaz, tümör evresi ve nüks durumuna göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ($p>0,05$).



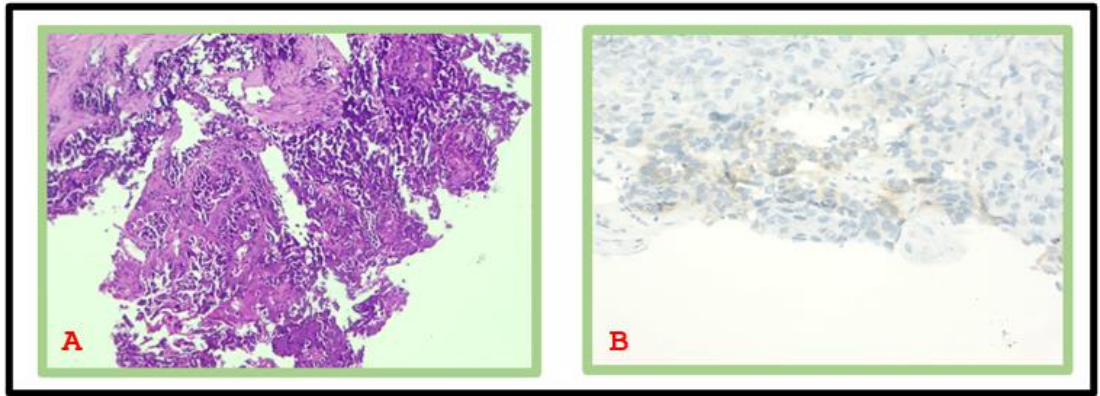
Resim 14. A,B,C,D. SCC olgularında fokal sitoplazmik Pan-TRK ekspresyonu (A,C ve D İHK, x100; B İHK x200). E. SCC olgusunda yaygın sitoplazmik Pan-TRK ekspresyonu (İHK, x100) F. AK olgusunda fokal nükleer Pan-TRK ekspresyonu (İHK x400). G. SCC olgusunda fokal nükleer Pan-TRK ekspresyonu (İHK x200). H. Sarkomatoid karsinom olgusunda tek tük nükleer Pan-TRK ekspresyonu (İHK x200).

RT-PCR BULGULARI

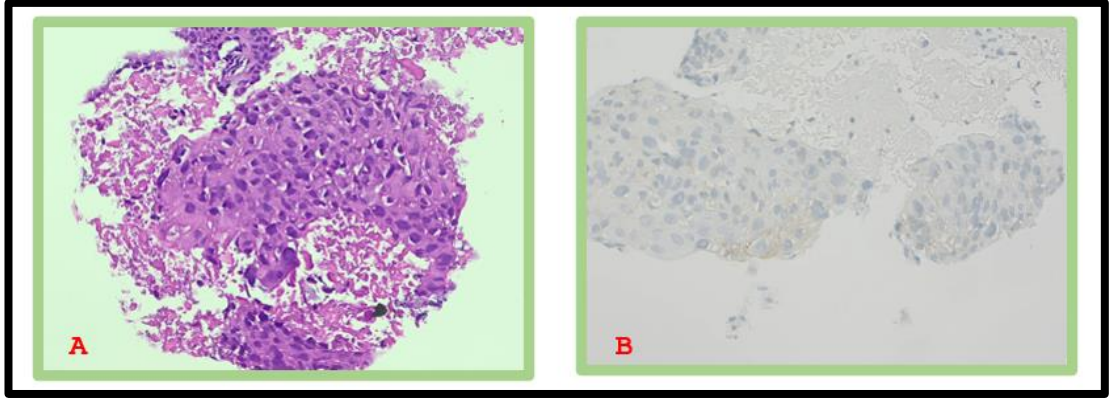
İHK'sal olarak Pan-TRK ekspresyonu gösteren 24 olguda RT-PCR yöntemi ile NTRK1 ve NTRK2 füzyon pozitif olgu görülmezken, NTRK3 füzyon pozitif 3 (%12,5) olgu tespit edildi.

Pan-TRK ekspresyonu gösteren ve RT-PCR yöntemi uygulanan 24 olgunun 18 (%75,0)'i SCC, 3 (%12,5)'ü AK, 2 (%8,3)'si KHDAK, 1 (%4,2)'i ise sarkomatoid karsinom tanılıydı. RT-PCR yöntemi ile füzyon saptanan 3 olgunun 2'si SCC, 1'i AK tanılıydı. Ayrıca SCC tanılı 2 olguda numune yetersiz bulunduğu için test yapılamadı. Gruplarda bulunan hasta sayısının az olması nedeniyle moleküler yöntemle NTRK füzyonu tespit edilen olgular ile füzyon negatif olgular arasında yaş, cinsiyet, tümör tipi, tümör alt tipi, tümör odak sayısı, tümör çapı, anjiolenfatik invazyon, perinöral invazyon, visseral plevra invazyonu, tümör evresi, lenf nodu metastazı evresi, nüks durumu ve sağkalım durumu açısından istatistiksel hesaplama yapılamadı.

NTRK3 füzyon saptanan SCC tanılı iki olgunun biri 60, diğeri 53 yaşında erkekti ve rezeksiyon materyalleri yoktu. Olgulardan birinde tümör evresi T4, lenf nodu metastazı evresi N2, uzak metastaz evresi ise M1C olarak saptanırken, diğeri olguda tümör evresi, lenf nodu metastaz evresi ve uzak metastaz evresi belirlenemedi. Her iki olguda da nüks izlenmezken, olgulardan birisi doku tanısı aldığı ay, diğeri ise doku tanısından 5 ay sonra vefat etmişti (Resim15 ve Resim 16).

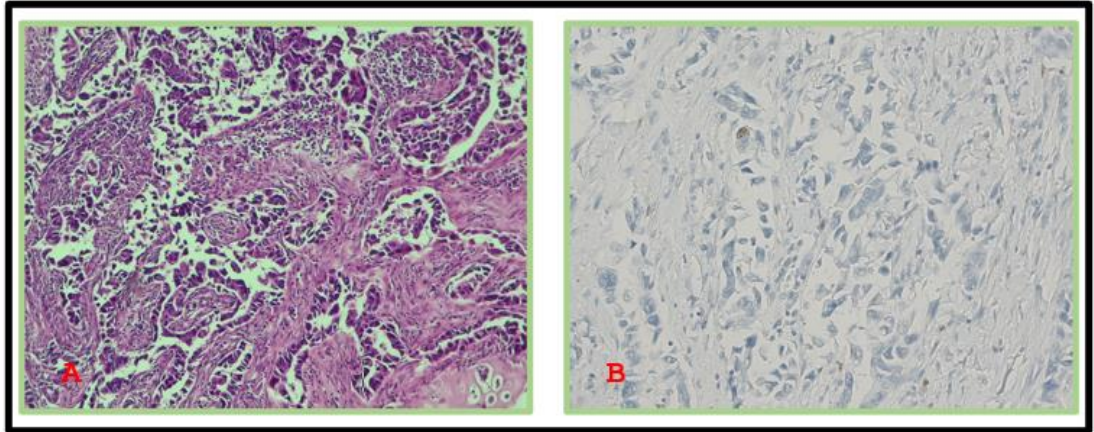


Resim 15: NTRK füzyonu tespit edilen ilk skuamöz hücreli karsinom olgusu, **A.** H&E (x200) **B.** Pan-TRK İHK (x400) ile diffüz zayıf sitoplazmik boyanma

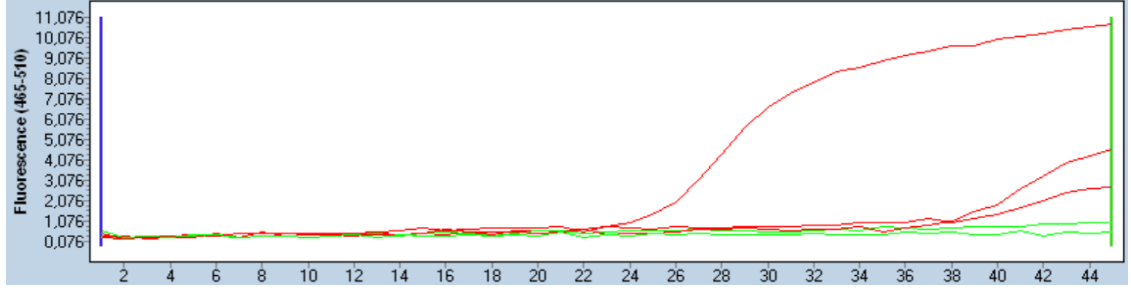


Resim 16: NTRK füzyonu tespit edilen ikinci skuamöz hücreli karsinom olgusu, **A.** H&E (x200) **B.** Pan-TRK İHK (x400) ile diffüz zayıf sitoplazmik boyanma

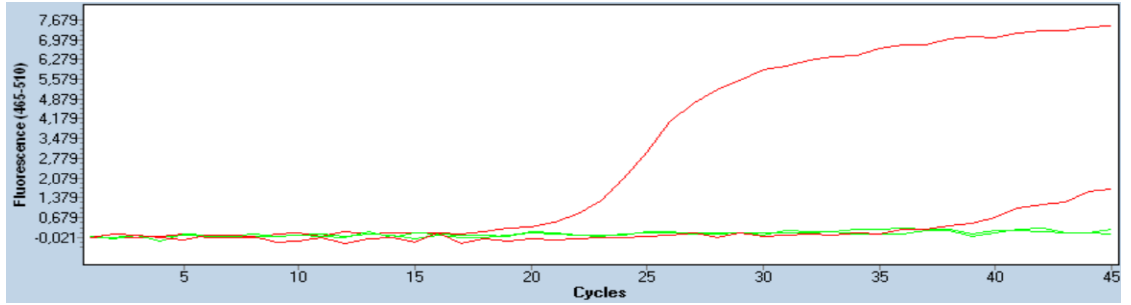
NTRK3 füzyonu saptanan AK tanılı olgunun lobektomi materyali mevcuttu. Elli sekiz yaşında erkek hastanın sol alt lobda iki ayrı AK odağı vardı. Odaklardan büyük olanın çapı 35 mm, küçük olan ise 6 mm'ydi. Tümörün histopatolojik incelemesinde baskın komponentin papiller karsinom olduğu görüldü. Olguda anjiolenfatik invazyon izlenirken; perinöral invazyon ve visseral pleura invazyon görülmedi. Tümör evresi T3, lenf nodu metastazı evresi N0, uzak metastaz evresi ise M0 olarak belirlendi. Nüks izlenmeyen olgu doku tanısından 32 ay sonra vefat etmişti.



Resim 17: NTRK füzyonu tespit edilen adenokarsinom olgusu, **A.** H&E (x200) **B.** Pan-TRK İHK (x400)



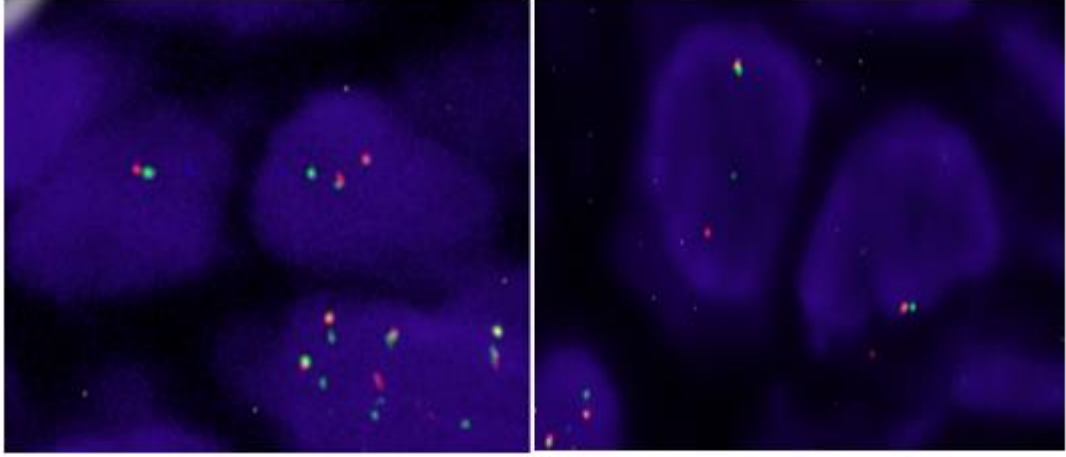
Şekil 1. Birinci plakada takip edilen 12 vakadan pozitif çıkan 2 olguya (alt taraftaki iki kırmızı eğri) ve kontrol olgusuna (üst taraftaki tek kırmızı eğri) ait eğriler



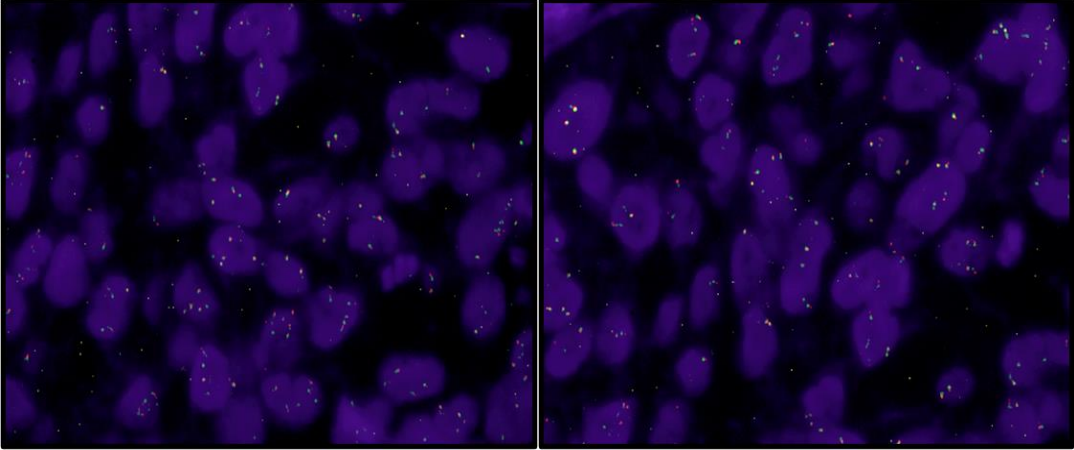
Şekil 2. İkinci plakada takip edilen 12 vakadan pozitif çıkan olguya (alt taraftaki iki kırmızı eğri) ve kontrol olgusuna (üst taraftaki tek kırmızı eğri) ait eğriler

FISH BULGULARI

RT-PCR yöntemi ile NTRK3 füzyonu tespit edilen 3 olguya NTRK3 probu kullanılarak yapılan FISH inceleme sonucunda bu 3 olguda da NTRK3 füzyonu tespit edildi (Resim 18). Ayrıca rastgele seçilen 11 SCC tanılı olguya NTRK1 probu kullanılarak yapılan incelemede herhangi bir vakada NTRK1 füzyonu saptanmadı (Resim 19).



Resim 18. FİSH incelemesinde NTRK3 füzyonu saptanan biri yan yana biri ise ayrılmış olarak izlenen yeşil ve turuncu sinyal çifti



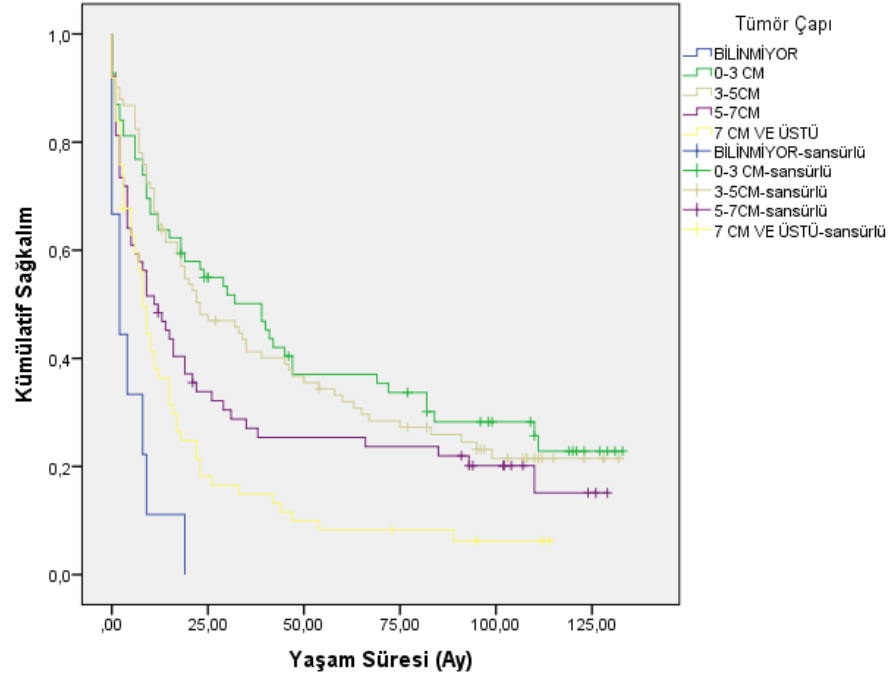
Resim 19. FİSH incelemesinde NTRK1 füzyonu tespit edilmeyen her ikisi de yan yana izlenen yeşil ve turuncu sinyal çiftleri

SAĞKALIM ANALİZİ

Çalışmamıza alınan ve 1-133 arasında değişen sürelerde izlenen 295 olgudan 235'inin (%79,7) 0-111 ay arasında değişen sürelerde vefat ettiği saptandı. Popülasyonumuzdaki olguların yaşam süresi minimum 0 ay, maksimum 133 aydı. Ortalama yaşam süresi 34,1 (\pm 40,2) aydı.

"Kaplan-Meier sağkalım analizi" ile tümörün boyutu ve total sağkalım arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, ortalama yaşam süresi 0-3cm arası çapa sahip

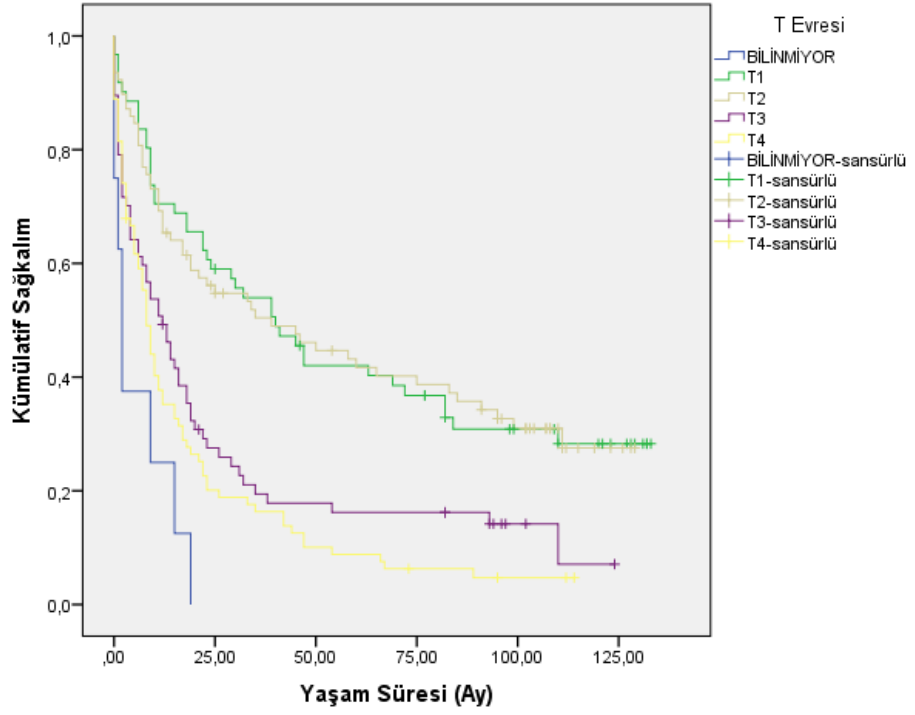
tümörlerde 53,7 ($\pm 6,4$) ay, 3-5 cm aralığında çapa sahip tümörlerde 48,9 ($\pm 5,3$) ay, 5-7 cm aralığında çapa sahip tümörlerde 36,4 ($\pm 6,1$) ay, 7 cm'den büyük çapa sahip tümörlerde ise 19,3 ($\pm 3,8$) ay olarak belirlendi. Tümör çapı ile total sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı ($p < 0.001$). Tümör çapı arttıkça ortalama yaşam süresinin azaldığı görüldü (Şekil 3).



Şekil 3. Tümör çapının total sağkalım ile ilişkisi

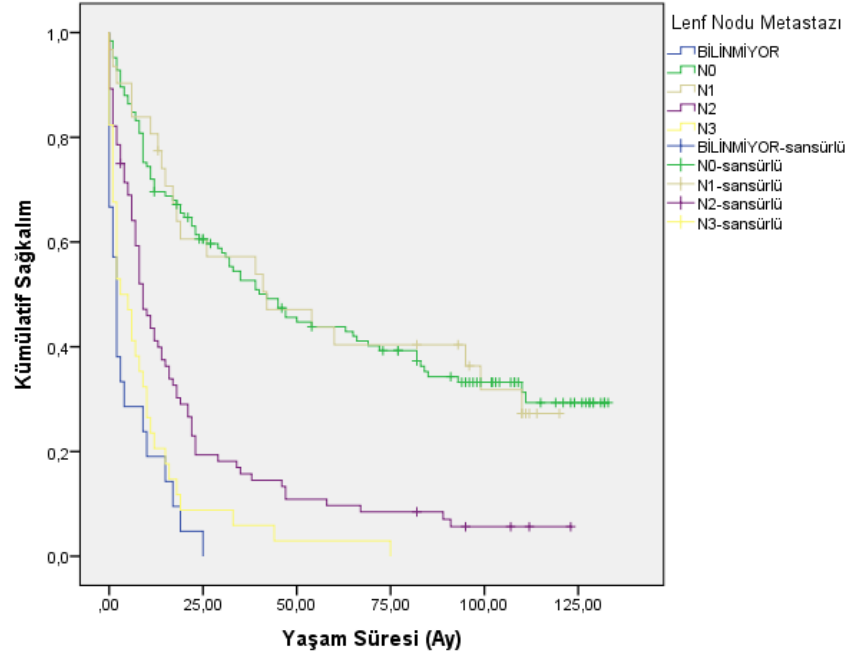
Tümör tipleri, tümör alt tipleri, anjiolenfatik invazyon, perinöral invazyon, tümör stroması ve visseral plevra invazyonu ile total sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p > 0,05$).

Tümör evresi (T) ve total sağkalım arasındaki ilişkiye bakıldığında; ortalama yaşam süresi T1'de 59,4 ($\pm 6,8$) ay, T2'de 58,3 ($\pm 6,1$) ay, T3'te 28,0 ($\pm 4,0$) ay ve T4'te ise 19,0 ($\pm 3,1$) ay olarak hesaplandı. Bulgular istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.001$). Tümör evresi arttıkça ortalama yaşam süresinin azaldığı tespit edildi (Şekil 4).



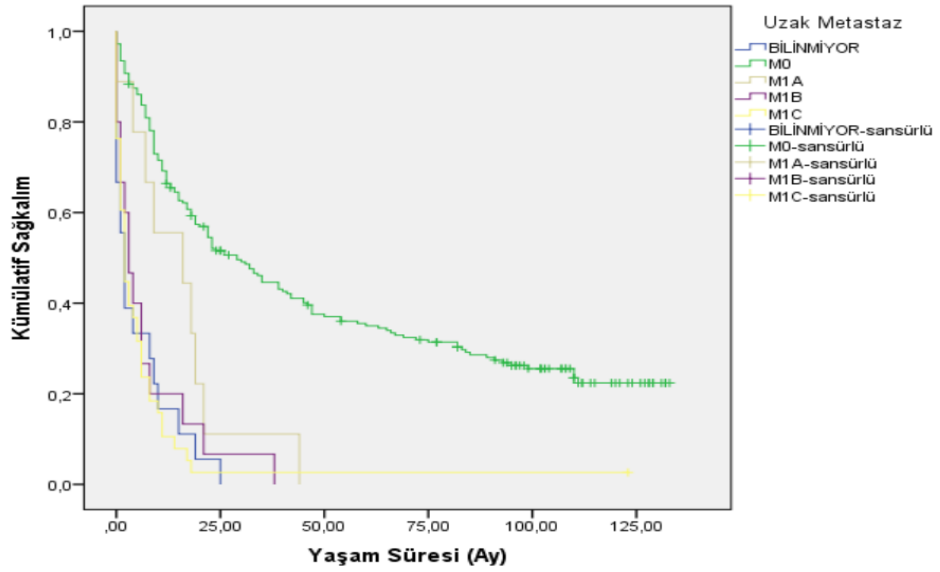
Şekil 4. Tümör (T) evresinin total sağkalım ile ilişkisi

Lenf nodu metastaz evresi (N) ve total sağkalım arasındaki ilişkiye bakıldığında; ortalama yaşam süresi N0'da 61,6 ($\pm 4,9$) ay, N1'de 58,9 ($\pm 8,7$) ay, N2'de 21,2 ($\pm 3,4$) ay, ve N3'te ise 9,5 ($\pm 2,6$) ay olarak görüldü. Bulgular istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.001$). Lenf nodu metastazı evresi arttıkça ortalama yaşam süresinin azaldığı saptandı (Şekil 5).



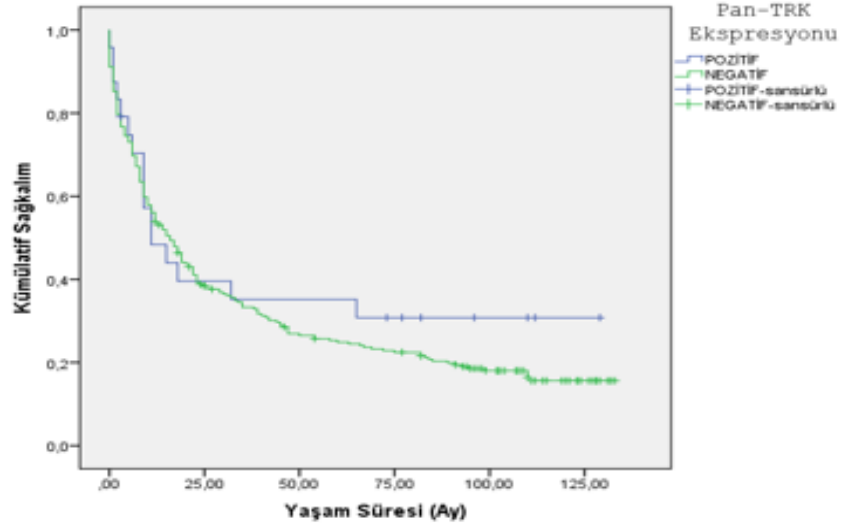
Şekil 5. Lenf nodu metastaz evresinin total sağkalım ile ilişkisi

Uzak metastaz evresi (M) ve total sağkalım arasındaki ilişkiye bakıldığında; ortalama yaşam süresi M0'da 52,3 ($\pm 3,5$) ay, M1A'da 15,3 ($\pm 4,3$) ay, M1B'de 7,3 ($\pm 2,7$) ay ve M1c'de ise 7,3 ($\pm 3,1$) ay olarak saptandı. Bulgular istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.001$). Uzak metastaz evresi arttıkça ortalama yaşam süresinin azaldığı görüldü (Şekil 6).



Şekil 6. Uzak metastaz evresinin total sağkalım ile ilişkisi

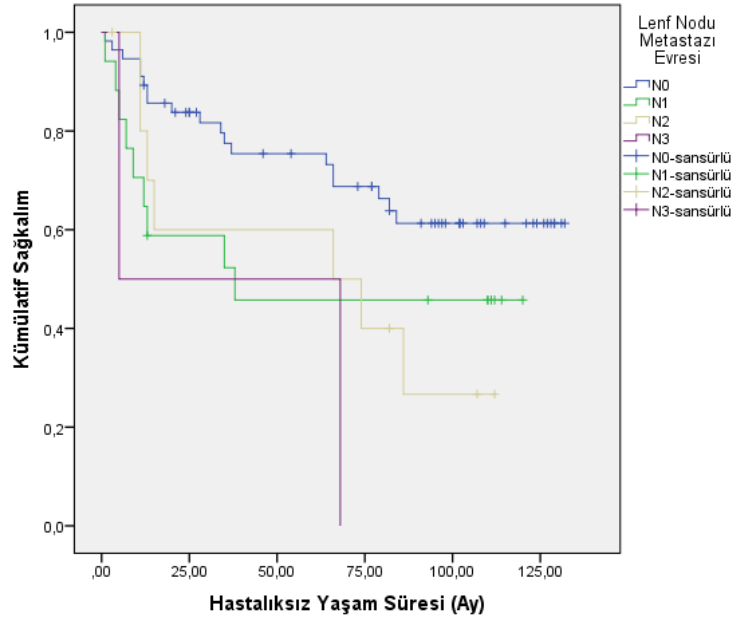
Pan-TRK ekspresyonu ve total sağkalım arasındaki ilişkiye bakıldığında; ortalama yaşam süresi Pan-TRK ekspresyonu gösteren olgularda 48,3 ($\pm 11,6$) ay, göstermeyenlerde ise 39,5 ($\pm 2,9$) ay olarak görüldü. Bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,4$) (Şekil 7).



Şekil 7. Pan-TRK ekspresyonunun total sağkalım ile ilişkisi

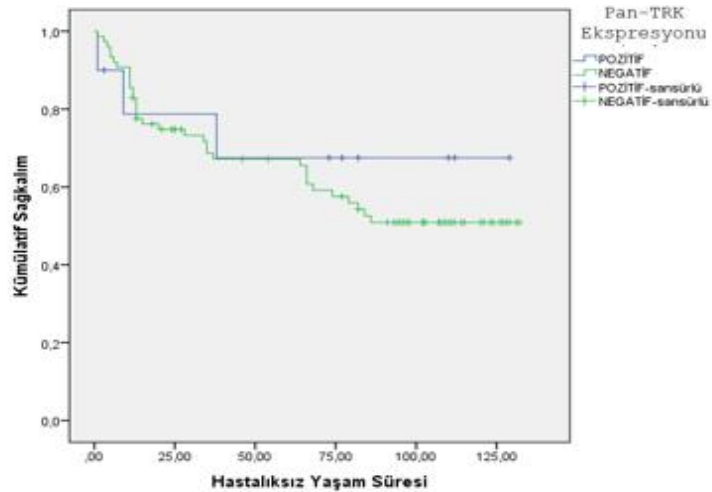
Olguların 37'sinde nüks tespit edildi. Hastalısız yaşam süresi minimum 1 ay, maksimum 86 ay, ortalama hastalısız yaşam süresi 30,7 ($\pm 28,4$) aydı. Tümör çapı ve uzak metastaz evresi ile hastalısız yaşam süresi arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

Lenf nodu metastaz evresi (N) ve hastalısız yaşam süresi arasındaki ilişkiye bakıldığında; ortalama hastalısız yaşam süresi N0'da 95,8 ($\pm 6,9$) ay, N1'de 62,7 ($\pm 13,3$) ay, N2'de 60,3 ($\pm 13,3$) ay ve N3'te ise 36,5 ($\pm 31,5$) ay olarak tespit edildi. Bulgular istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0,001$). Lenf nodu metastazı evresi arttıkça hastalısız yaşam süresi azaldı (Şekil 8).



Şekil 8. Lenf nodu metastaz evresinin hastaliksız yaşam süresi ile ilişkisi

Pan-TRK ekspresyonu ve hastaliksız yaşam süresi arasındaki ilişkiye bakıldığında; ortalama hastaliksız yaşam süresi Pan-TRK ekspresyonu gösteren olgularda 92,5 ($\pm 17,6$) ay, göstermeyenlerde ise 84,2 ($\pm 6,3$) ay olarak saptandı. Bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,57$) (Şekil 9).



Şekil 9. Pan-TRK ekspresyonunun hastaliksız yaşam süresi ile ilişkisi

Multivaryasyon analizinde yaş, tümörün boyutu, tümör evresi, lenf nodu metastazı evresi, uzak metastaz evresi, anjiyolenfatik invazyon, visseral plevra invazyonu, perinöral invazyon, tümör stroması, nüks varlığı, tümörün lokalizasyonu ve Pan-TRK ekspresyonunun total sağkalım oranı üzerine etkileri araştırıldığında, prognozu belirlemede sadece yaşın bağımsız prognostik faktör olduğu saptandı ($p=0,015$). Cox multivaryasyon analizinde Pan-TRK ekspresyonu ile total sağkalım arasında anlamlı ilişki bulunamadı ($p=0,93$).

TARTIŞMA

KHDAK'larında nadir rastlanan genetik değişikliklerden biri olan NTRK füzyonuna yönelik yaptığımız çalışmada İHK'sal olarak Pan-TRK ile popülasyonumuzun %8,1'inde herhangi bir paternde ekspresyon saptandı. Pan-TRK ekspresyonu yalnızca hastalarımızın %91,5'ini oluşturan erkek cinsiyette görülürken, hiçbir kadın hastada ekspresyon izlenmedi. Pan-TRK SCC olgularının %9,6'sında, AK olgularının %3,5'unda, KHDAK tanılı endoskopik/tru-cut biyopsinin %22,2'sinde, sarkomatoid karsinom olgularının %10'unda saptandı. LCC olgularının hiçbirinde ekspresyon izlenmedi. Pan-TRK ekspresyonu gösteren olguların %12,5'unda RT-PCR ile NTRK3 füzyonu saptandı. FİSH ile de bu olguların tümünde NTRK3 füzyonu görüldü. Füzyon saptanan üç vakadan ikisi SCC, biri ise AK'du. NTRK3 füzyonu saptanan AK vakasının baskın paterninin papiller olduğu görüldü.

Akciğer kanseri özellikle son yıllarda artan koruyucu kampanyalara ve tedaviye yönelik yeni gelişmelere rağmen kanser ölümlerinin başta gelen nedenlerinden biri olmayı sürdürmektedir. İnsidans açısından kadınlarda meme, erkeklerde ise prostat kanserinden sonra ikinci sırada gelse de, akciğer kanserinde diğer kanser türlerinden daha fazla mortalite oranı mevcuttur [222]. Bizim popülasyonumuzda en fazla 133 ay, ortalama 34,1 ay süre ile takip edilen hastalarımızın çoğu akciğer kanseri ve buna bağlı sebeplerden vefat etmişti.

GLOBOCAN verilerine göre, akciğer kanseri 2020 yılında dünyada 2,2 milyon yeni olgu ile tüm kanserlerin %10'unu oluşturmaktadır. Yine 2020 yılında 1,8 milyon ölüm ile tüm kanser ölümlerinin %20'sinin sebebi akciğer kanseridir [24]. Erkeklerde akciğer kanseri insidansı ve ölüm oranı kadınlara göre dünya genelinde kabaca iki kat fazla olsa da bazı bölgelerde bu oran çok daha yüksektir. Türkiye erkek cinsiyetin kadınlara göre akciğer kanseri insidansı ve ölüm oranı en yüksek olan ülkelerin başında gelmektedir [24]. ABD'de 2000 yılına kadar erkeklerde akciğer kanseri insidansı azalırken, kadınlarda ise insidansın arttığı görülmüştür. Sonraki yıllarda ise nispeten dengeli bir seyir izlenmiştir. Bu değişimin baş sorumlusu sigara içme eğilimindeki sosyolojik farklılaşmadır [223]. Bizim grubumuzda da akciğer kanseri olgularının %91,5'u erkekti.

Pik yaptığı yaş grubu 65-84 olan akciğer kanserinde insidans özellikle 40 yaşından küçüklerde çok düşüktür. ABD'de akciğer kanseri tanısı konulan hastalarda

medyan yaş 71 iken, akciğer kanserine bağlı ölümlerin % 90 kadarı 55 yaş üstündeki hastalarda görülmektedir [223]. Bizim popülasyonumuzda yaşı en küçük hasta 35, en büyük hastanın yaşı 92, ortalama görülme yaşı 65'ti. Kırk yaşından küçük 3 olgu tespit edildi. On bir hastanın 50 yaşından küçük, 125 hastanın 50-65 yaşları arasında, 159 hastanın ise 65 yaşından büyük olduğu görüldü. Çalışma grubumuza ait yaş verileri literatür ile tutarlılık göstermekteydi.

Akciğer kanserinde beş yıllık sağkalım oranı yaklaşık %19, KHK'da ise %23'tür. Ancak bu sağkalım oranı farklı evre tümörler arasında belirgin farklılık göstermektedir. Lokalize tümörlerde beş yıllık sağkalım oranı %56,3, bölgesel lenf nodu metastazı yapmış tümörlerde %29,7, uzak metastaz gösteren tümörlerde ise yalnızca %4,7'dir [224]. Çalışma grubumuzda beş yıllık sağkalım oranları tümör evresi T1 olan olgularda %42, T2'de %41,7, T3'de %16,2 ve T4'de ise %8,8 olarak tespit edildi. Uzak metastaz durumuna göre beş yıllık sağkalım uzak metastaz görülmeyenlerde %35, görülenlerde ise %1,6 bulundu. Bizim popülasyonumuzda literatür ile uyumlu şekilde tümör çapının büyümesi, lenf nodu metastazı ve uzak metastaz varlığı ve sonuç olarak ileri evre prognozu olumsuz yönde etkilemekteydi.

Akciğer karsinomları temel olarak küçük hücreli akciğer karsinomu ve KHK olarak iki tipe ayrılır. KHK akciğer karsinomlarının yaklaşık %85'ini oluşturur. Tüm dünyada AK'lar %40, SCC'ler %25-30 ve LCC'ler ise %10-15 dolayında görülmektedir. Daha az sıklıkta sarkomatoid karsinom, ASK, büyük hücreli nöroendokrin karsinom ve karsinoid tümör izlenmektedir [224]. Bizim çalışma grubumuzu %63,7 oranında SCC, %28,8 oranında AK ve %7,5 oranında ise diğer tümörler oluşturmaktaydı. Son yıllarda tüm dünyada AK insidansının SCC'nin önüne geçtiği bildirilse de, özellikle gelişmekte olan ülkelerde sigara içme durumunun sosyolojik dağılımı nedeniyle SCC insidansının dünya ortalamasının üzerinde olduğu bilinmektedir.

Lewis ve ark. yaptığı 1977-2010 yılları arasında tanı almış 452.714 akciğer kanseri vakasının analiz edildiği çalışmada SCC erkeklerde başlangıçta baskın bir şekilde daha fazla görülürken son yıllarda kadınlarda SCC tanısı konma oranı artmıştır. Ancak SCC erkeklerde kadınlara göre daha yüksek oranda görülmeye devam etmektedir. AK ise başlangıçta yine erkek popülasyonunda kadınlardan fazla görülmektedir. Ancak bu erkek baskınlığı SCC'deki kadar fazla değildir. Özellikle son

yıllarda kadın ve erkeklerde AK görülme sıklığı birbirine çok yaklaştığı, erkeklerde toplam akciğer kanseri oranının düştüğü, kadınlarda ise son yıllarda sabit bir seyir izlediği belirtilmiştir. Akciğer karsinomunun erkekler arasında daha sık görülmeye devam ettiği ancak farkın giderek azaldığı ifade edilmiştir [225]. Bizim çalışmamızda cinsiyet ile tümör tipi arasında anlamlı fark mevcuttur. Her iki cinsiyette de SCC baskın tümör tipi olsa da erkek cinsiyette SCC görülme oranının AK'lara göre çok daha yüksek olduğu saptandı.

Slin ve ark. yaptığı olguların tamamı rezeksiyon materyallerinden oluşan ve tamamı akciğer kanseri tanısı almış 67 olguluk bir çalışmada hastaların %62,7'si AK, %31,3'ü SCC, %3'ü LCC'dir. Olguların %3'ünün ise tipi belirtilmemiştir. Rezeksiyon sonrası hastaların tümör evreleri belirlenmiş; %14,9 olgu T1A, %6 olgu T1B, %9 olgu T2A, %26,9 olgu T2B, %37,3 olguda T3A, %1,5 olgu T3B, %4,5 olgu ise T4 olarak bildirilmiştir. Hastaların %40,3'ünde nüks tespit edilmiştir. AK olgularının %43'ünde, SCC olgularının ise %29'unda nüks saptanmıştır. Evre T1A olan hastaların %10'unda, T2A olanların %50'sinde, T2B olanların %39'unda, T3A olanların %52'sinde, T3B olgularının %100'ünde ve T4 olanların %67'sinde nüks tespit edilirken, T1B olgularının hiçbirinde nüks görülmemiştir. Çalışmada AK tipinin ve ileri tümör evresinin nüks açısından yüksek risk faktörlerinden olduğu ifade edilmiştir [226]. Bizim çalışma grubumuzda bu çalışmaya benzer şekilde tümör tipi ve nüks durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. Popülasyonumuzdaki AK olgularında %20, SCC olgularında %10,1 ve diğer tümörlerde %4,5 oranında nüks saptandı. AK tanılı olgularda daha yüksek nüks oranı görüldü. Ayrıca popülasyonumuzda perinöral invazyon ve nüks durumu arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. Perinöral invazyon görülen olgularda, invazyon izlenmeyen olgulara göre daha yüksek bir oranda nüks görüldüğü saptandı.

Shimada ve ark. yaptığı bir çalışmada tam rezeksiyonu yapılmış 1000 KHDAK tanılı vaka incelenmiştir. Olguların %42,8'inde intratümöral, %3,2'sinde ekstrapatümöral vasküler invazyon görülmüştür. Tüm olguların ise %25,2'sinde lenf nodu metastazı saptanmıştır. İntratümöral vasküler invazyon izlenen olguların %42,5'inde, ekstrapatümöral vasküler invazyon saptanan olguların %68,7'sinde lenf nodu metastazı tespit edilmiştir. Vasküler invazyon görülmeyen 540 olgunun %8,9'unda lenf nodu metastazı görülmüştür [227]. Popülasyonumuzda da

anjiolenfatik invazyon durumu ile lenf nodu metastazı arasında anlamlı fark saptandı. Anjiolenfatik invazyon görülen olgularda lenf nodu metastazı saptanma oranının invazyon görülmeyen olgulara göre daha fazla olduğu tespit edildi.

Lenf nodu metastazı KHDAK'larında prognozu ve tedaviyi değerlendirmede çok önemli bir noktada yer almaktadır. Pani ve ark. yaptığı akciğer kanseri tanısı konmuş ve tümünde tümör çapı 2 cm'den küçük olan 555 hastadan oluşan retrospektif bir çalışmada tümör boyutu 1 cm'den küçük olanlarda %6,8 oranında lenf nodu metastazı görülürken, 1,1 ile 2 cm arasında olan tümörlerde ise %13,3 oranında lenf nodu metastazı saptamıştır. Çalışmada istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış, ancak tümör çapı büyük olan tümörlerde lenf nodu metastazının oranının daha yüksek olduğuna dikkat çekilmiştir [228]. Çalışma grubumuzda ise tümör çapı arttıkça lenf nodu ve uzak metastaz eğiliminin arttığı; sağkalımın azaldığı görüldü. Tümör çapı 3 cm'den küçük olan olguların %34,7'sinde lenf nodu metastazı görülürken, 3 cm'den büyük olanlarda ise %57,1 oranında lenf nodu metastazı tespit edildi.

KHDAK genellikle ileri evrede teşhis edilir. Tedavisi evreye göre belirlenen KHDAK'da Evre 1 ve 2 tümörlerde kontrendikasyon bulunmadığı takdirde rezeksiyon önerilir. İleri evre tümörlerde ise radyoterapi ve kemoterapi yanısıra özellikle son yıllarda kullanılmaya başlayan kemoimmünoterapi ile hedefe yönelik tedavilerin umut verici sonuçlar ortaya çıkardığı görülmüştür [223].

İleri evre KHDAK'da hedefe yönelik tedavi uygulaması sonucunda klinik sonuçlardaki düzelme dikkati çekmektedir. Bu nedenle karsinogenezdeki moleküler değişikliğin tanımlanması son yıllarda giderek önem kazanmaktadır. KHDAK'da EGFR, ALK, ROS1, MET, BRAF, RET ve NTRK genlerinde görülen sürücü mutasyonları hedefleyen tirozin kinaz inhibitörleri tedavide kullanılmak üzere onay almıştır. KHDAK'ların yaklaşık %10-20'sinde EGFR mutasyonu, %5'inde ALK rearanjmanı, %1-2'sinde ROS1 rearanjmanı, %1-2'sinde RET gen aranjmanları, %1-3'ünde ise BRAF V600E mutasyonları tanımlanmıştır [229].

NTRK gen grubu Trk-A, Trk-B ve Trk-C proteinlerini kodlayan NTRK1, NTRK2 ve NTRK3 genlerinden oluşmaktadır [202]. Özellikle nöronal gelişimde rol alan bu proteinleri kodlayan NTRK genlerinde bazı tümör gruplarında füzyonlar, mutasyonlar ve amplifikasyonlar tanımlanmıştır [203, 205]. İnfantil fibrosarkomların %90'ından fazlasında görülen ETV6-NTRK3 füzyonu ilk tespit edilen NTRK

füzyonudur [207]. Memenin sekretuar karsinomu, tükürük bezinin meme analogu sekretuar karsinomu, infantil fibrosarkom ve konjenital mezoblastik nefroma gibi nadir tümörlerde NTRK gen füzyonlarına sık rastlanırken; KHDAK'ları, kolorektal karsinomlar, malign melanomlar, papiller tiroid karsinomları, gliomlar, gastrointestinal stromal tümörler ve pankreatik AK gibi sık görülen tümörlerde ise nadiren saptanmıştır [7, 208, 209].

KHDAK'da tespit edilen NTRK füzyonuna yönelik kullanılan hedefe yönelik tedaviler bu hastaların çoğunda belirgin bir yanıtı sebep olmaktadır. Bu sebeple NTRK füzyonu saptanması hastalık seyri açısından önem taşımaktadır [7, 211]. NTRK gen füzyonları saptanması halinde bu genetik değişikliğin, füzyon saptanan tümörlerde tümörögenizde primer sürücü olduğu düşünülmektedir. NTRK füzyonları sonucu oluşan ve tirozin kinaz aktivitesi gösteren proteinler; bazıları onay almış, bir kısmı ise henüz onaylanmamış ajanlar ile hedeflenebilmektedir. Larotreklinib ve entreklinib her üç Trk proteininin fosforilasyonunu ve aşağı akış sinyal moleküllerini baskılayan onay almış hedefe yönelik ajanlardır [213]. Ayrıca henüz onay almamış repotreklinib ve selirektrinib gibi yeni nesil ajanlar ile ilgili çalışmalar sürmektedir [213].

NTRK füzyonlarının tespitinde kullanılacak yöntem açısından ortak bir görüş belirlenmemiştir. Pan-TRK İHK'sal çalışması yanı sıra moleküler olarak FISH, RT-PCR ile RNA veya DNA tabanlı NGS NTRK füzyon tespitinde kullanılan yöntemlerdir. Bu yöntemlerin avantajlı ve dezavantajlı olduğu yönler vardır. Pan-TRK'nın, tüm Trk proteinlerinin benzer lokalizasyondaki bir epitopuna bağlanarak immünreaktivite göstermesi bu testi füzyonların tespitinde faydalı bir tarama yöntemi haline getirmiştir. Ayrıca füzyon tipine göre boyanma paterninde farklılık görüldüğü iddia edilmektedir. NTRK1 füzyonu bulunan olgularda daha çok sitoplazmik, NTRK2 füzyonlu olgularda perinükleer sitoplazmik veya membranöz, NTRK3 füzyonu barındıran olgularda ise sitoplazmik ve nükleer boyanma görüldüğü ifade edilmektedir. Ancak özellikle NTRK3-ETV6 füzyonlu olgularda İHK'sal yöntemle pozitiflik saptanmayabileceği bildirilmiştir [230]. Biz ise çalışmamızda üç aşamalı bir model belirledik. Tüm vakalara NTRK ile ilgili literatüre uygun olacak şekilde öncelikle İHK'sal yöntemle Pan-TRK uyguladık. Pan-TRK ile pozitif tespit edilen vakaları seçerek bunlarda RT-PCR yöntemi ile gen analizi yaptık. Son aşamada ise RT-PCR yöntemi sonucunda NTRK gen füzyonu bulunan olgulara FISH inceleme ile

doğrulama yaparak çalışmanın güvenilirliğini arttırmayı amaçladık. Ancak İHK'sal boyanma paterni ile füzyon tipi arasında spesifik bir bulgu görmedik. Bunun nedeni çok az sayıda olguda füzyon tespit etmemiz olabilir. Literatürdeki çalışmalara benzer şekilde NTRK3 füzyonu saptadığımız olgularda nükleer ve sitoplazmik boyanma gördük.

Bourhis ve ark. melanom tanılı 300 olguluk bir çalışmada NTRK füzyonu araştırmıştır. Bu çalışmada mikroarray yöntemi ile yeni bloklar oluşturularak tüm hastalara İHK'sal inceleme ve FISH incelemesi yapılmıştır. İHK'sal çalışma ayrı ayrı hem Pan-TRK EPR17341 klonu hem de Pan-TRK A7H6R klonu kullanılarak ayrı ayrı yapılmıştır. Tüm melanom tanılı hastalarda Pan-TRK EPR17341 klonu ile hiçbir boyanma izlenmezken, Pan-TRK A7H6R klonu ile 4 olguda immünreaktivite izlenmiştir. Pan-TRK A7H6R klonu ile ekspresyon izlenen 4 olguda akabinde uygulanan FISH yöntemi ile NTRK rejanmanı saptanmamıştır [231].

Guibourg ve ark yaptığı Pan-TRK EPR17341 klonu ve Pan-TRK A7H6R klonu'nu karşılaştırma amaçlı diğer bir çalışmada farklı tiplerde 71 tükürük bezi tümör vakası çalışmaya alınmıştır. Pan-TRK EPR17341 klonu ile pozitif kabul edilen olgu sayısı %32,4 iken, Pan-TRK A7H6R klonu ile %28,2 olguda pozitiflik bulunmuştur. Serideki NTRK3 füzyonu barındıran tek olgu tükürük bezinin sekretuar karsinomu tanısı almış ve bu olgu her iki antikor ile pozitif boyanma göstermiştir [232].

Heberecker ve ark. Pan-TRK klonlarını karşılaştırmaya yönelik farklı tümör tiplerine ait 22 NTRK füzyon pozitif; 61 NTRK füzyon negatif olmak üzere toplam 83 olguyu çalışmaya dahil etmiştir. Pan-TRK antikorunun EPR17341, A7H6R ve EP1058Y klonları kullanılmıştır. Moleküler olarak NTRK reanjmanı izlenen 22 olgunun patojenik olan 20'si EPR17341 ile %100 boyanma göstermiştir. A7H6R klonu ile NTRK 3 füzyonu mevcut bir vakada boyanma olmamış ve %95 olguda boyanma izlenmiştir. EP1058Y klonu ile NTRK1 füzyonu barındıran bir olgu doku yetersizliği sebebiyle çalışmadan çıkartılmıştır. İki NTRK1, 1 NTRK2 ve 3 NTRK3 füzyonu saptanan olguda boyanma izlenmiştir. EP1058Y klonu ile %68,4 olguda boyanma görülmüştür. NTRK füzyon negatif 59 olgu ve patojenik olmayan füzyon barındıran 2 olguda ise EPR17341 klonu ile %73,8'inde, A7H6R klonu ile %80,3'ünde, EP1058Y klonu ile %32,8'inde boyanma izlenmemiştir [233]. Bu

çalışma EPR17341 klonunun özellikle seçicilik açısından daha güvenilir olduğunu göstermiştir.

Solomon ve ark. yaptığı bir çalışmada NTRK füzyon pozitifliği olan 66 olgu; ile NTRK füzyonu negatif 317 vakaya Pan-TRK EPR17341 klonu uygulanmıştır. Çeşitli tümörlerden oluşan toplam 383 olguluk çalışmada 8'i NTRK füzyonu pozitif, 24'ü ise füzyon negatif toplam 32 akciğer AK olgusu mevcuttur. Pan-TRK pozitifliği için eşik değer tümör alanında %1 ve üzerindeki boyanmalar olarak kabul edilmiştir. NTRK füzyon pozitif olan 8 vakanın 7'sinde Pan-TRK ile immünreaktivite görülürken 1 olguda ise görülmemiştir. NTRK füzyon negatif 24 vakanın hiçbirisinde Pan-TRK ile ekspresyon izlenmemiştir. Bu kohortta akciğer AK olgularında Pan-TRK EPR17341 klonu antikorumun duyarlılığı %87,5, özgüllüğü ise %100 tespit edilmiştir [209]. Pan-TRK klonlarının güvenilirliğinin değerlendirildiği tüm çalışmalarda EPR17341 klonunun diğer klonlardan özellikle seçicilik noktasında bir adım önde olduğu görülmüştür. Yaptığımız literatür taramasında ekseriyetle Pan-TRK antikorumun EPR17341 klonunun daha güvenilir olduğu ve ileri moleküler yöntemler ile konfirmasyonu aşamasında oldukça doğru bir tarama testi olarak kullanabileceği ifade edilmektedir. Hem güvenilir olması hem de literatürdeki çalışmalar ile tutarlılığın sağlanması amacıyla çalışmamızda Pan-TRK antikorumun EPR17341 klonunun kullanılması uygun bulduk. Ancak Pan-TRK ile herhangi bir şekilde pozitif boyanan olgularımızın sadece %12,5'inde moleküler olarak füzyon tespit ettik.

Hechtman ve ark. yaptığı bir çalışmada DNA tabanlı NGS testi ile herhangi bir NTRK füzyonu tespit edilmiş çeşitli kanser tiplerinden oluşan 22 vakalık bir seriye Pan-TRK EPR17341 klonu uygulamış, tümör hücrelerindeki %5 ve üzeri boyanmayı pozitif kabul etmiştir. Bu 22 vakanın 21'inde Pan-TRK pozitif tespit edilirken, 1 vakada ise herhangi bir boyanma görülmemiştir. Bu tek vaka mismatch tamir genlerinde defekt saptanmış NTRK3-ETV6 füzyonu saptanan kolorektal karsinomdu. Ayrıca pozitif vakalarda görülen sitoplazmik immünreaktiviteye ek olarak, olgularda saptanan füzyon partnerlerine işaret eden seçici boyanma dikkat çekmiştir. Örneğin NTRK1-LMNA füzyonu barındıran 5 vakada da sitoplazmik boyanmaya ek olarak perinükleer boyanma saptanmıştır. ETV6-NTRK3 füzyonu saptanan 6 olgunun 3'ünde ve EML4-NTRK3 füzyonu görülen tek olguda nükleer boyanma dikkati çekmiştir. Bu da İHK'sal boyanma paterninin füzyon partneri tahmininde bulunma noktasında ipucu

sağlayabileceği fikrini desteklemektedir. Aynı çalışmada negatif kontrol olarak kullanılmak üzere NTRK füzyonu barındırmayan, 11'i akciğer AK olmak üzere 20 olguya Pan-TRK EPR17341 klonu uygulanmış ve olguların tümünde hiçbir boyanma görülmemiştir. Çalışmada bu bulgular ışığında Pan-TRK EPR17341 klonu antikoronun NTRK1-3 füzyonlarının belirlenmesinde veya doğrulanmasında ekonomik, güvenilir ve hızlı bir yöntem olduğu ve nükleik asit testlerine ek veya alternatif olarak hizmet edebileceği vurgulanmıştır [234]. Bizim çalışmamızda Pan-TRK ile, NTRK3 füzyonu tespit edilen 3 vakanın 2'sinde sitoplazmik, 1'inde ise nükleer boyanma görüldü. Hechtman ve ark. değindiği nükleer boyanma görülmesinin NTRK3 füzyonuna bir işaretçi olabileceği teorisini olgularımızdan biri desteklemekteydi. Ancak Hechtman ve ark. yaptığı çalışmada ve bizim popülasyonumuzda NTRK3 füzyonu olan olgularda nükleer boyanma olmaksızın sitoplazmik boyanma görüldüğü için, boyanma paterni füzyon tipinin belirlenmesinde bir kanıt oluşturmaktan ziyade şimdilik sadece bir ipucu gibi durmaktadır. Boyanma paterni ve füzyon tipi arasında ilişki kurulabilmesi için çok sayıda ve daha geniş örneklemlerli çalışmaya ihtiyaç vardır.

NTRK füzyon araştırması ile ilgili ilk çalışmalardan birinde Vasihnavi ve ark. herhangi bir sürücü mutasyonu tespit edilmemiş olan 91 akciğer kanserli olguda FISH ve NGS yöntemi ile NTRK1 füzyon sıklığına bakmıştır. Bu 91 hastaya ait 3 (%3,3) olguda NTRK1 füzyonu tespit etmişlerdir. Nispeten yüksek bulunan bu oran heyecan uyandırır da 91 olgunun EGFR, KRAS, ALK, ROS1, MET gibi diğer sürücü mutasyonlar açısından test edilmiş ve hiçbirisinin bahsedilen sürücü mutasyonları içermediği görülmüştür [235]. Bizim popülasyonumuzda herhangi bir sürücü mutasyonun bulunması bir dışlama kriteri olarak kabul edilmedi. Bu seçicilikten yoksun çalışmamızda Vasihnari ve ark. çalışmasında bulduğu NTRK füzyonu oranından daha düşük bir oran tespit ettik. Kohortumuzdaki tüm olguların %1,01'inde İHK'sal tarama sonrası moleküler yöntemle füzyon saptandı. Vasihnari ve ark. literatürden daha yüksek bir oranda NTRK füzyonu tespit etmesi diğer sürücü mutasyonlarının bulunmadığı vakalardan oluşan bir kohortta çalışmalarından ve bizim olgularımız arasında İHK'nın kısıtlı belirleyiciliğinden kaçan füzyon pozitif olguların olmasından kaynaklanabilir.

Gonzalez ve ark. yaptığı bir çalışmada 23'ü akciğer karsinomu olmak üzere 127 olguda NTRK füzyonu araştırılmıştır. Bu 23 akciğer karsinomu olgusunun 10'u AK, 3'ü SCC, kalan vakalar ise diğer tümörlere ait olgular olarak belirtilmiştir. Dört olguya ait spesifik tip bildirilmemiştir. Pan-TRK EPR17341 klonu tüm olgulara uygulanmış, akciğer tümörlerine ait 23 olgunun %17,3'ü pozitif veya fokal pozitif kabul edilmiş, %8,7'sinde ise belirsiz boyanma görüldüğü ifade edilmiştir. Tüm olgulara uygulanan RNA tabanlı NGS testi sonucunda 4 (%3,1) olguda NTRK füzyonu saptanmıştır. Akciğer karsinomları arasında yalnızca 1 (%4,3) olguda ADAM19-NTRK3 füzyonu tespit edilmiştir. Bu tek füzyon tespit edilen olgunun histopatolojik tipi belirtilmeyen olgulardan biri olduğu belirtilmiştir. NTRK füzyonu tespit edilen 4 olgunun akciğer dışı tümörler olan 3'ünde Pan-TRK ile değişen oranlarda da olsa immünreaktivite izlenirken; akciğer karsinomu olgusunda Pan-TRK ile boyanma saptanmamıştır. Çalışma az sayıda vaka ile sınırlı olmasına karşın yazarlar tarafından, NTRK3 füzyonları için Pan-TRK İHK'sal incelemesinin düşük duyarlılığa sahip olduğu şeklinde yorumlanmıştır [236]. Çalışmamızda biz de NTRK3 füzyonları için Pan-TRK duyarlılığının düşük olduğunu düşünmekle birlikte, tüm olgulara moleküler test uygulamadığımız için verilerimizin kısıtlı olduğunu düşünmekteyiz.

Bang ve ark. yaptığı 510'u KHDAK olmak üzere 1113 olgunun dahil edildiği retrospektif bir çalışmada tüm olgulara Pan-TRK EPR17341 klonu uygulanmıştır. Tümör hücrelerinde %1 ve üzerinde herhangi bir paternde boyanmanın pozitif kabul edildiği çalışmada 510 KHDAK olgusunun %0,6'sında farklı yoğunlukta sitoplazmik ve membranöz boyanma gösterilmiştir. Bu 3 olguya sonrasında RNA bazlı NGS uygulanmış, olguların birinde NTRK1-CD74, birinde ise NTRK3-SQSTM1 füzyon tespit edilmiştir. Bir olguda ise füzyon saptanmamıştır. Her iki olgu da AK tipindedir ve biri asiner baskın diğeri ise papiller baskın patern olarak bildirilmiştir [237]. Bang ve ark. yaptığı çalışmada aynı klonu kullandığımız ve eşik değer olarak aynı yüzdeyi kabul ettiğimiz İHK'sal incelemede çalışmamızdaki Pan-TRK pozitiflik oranı daha yüksek saptandı. Kohortumuzdaki olguların %8,1'inde Pan-TRK ile herhangi bir paternde pozitiflik tespit edildi. Bu durumun İHK boyalı lamaların değerlendirilmesindeki subjektiflikten ya da çalışmalara dahil edilen popülasyonların farklı toplumlara ait olmasından kaynaklandığı düşünüldü.

Overbeck ve ark yaptığı 1068 KHDAK olgusu ile yapılan prospektif çalışmada NTRK füzyon tespiti amacıyla olguların 973'üne İHK'sal çalışma, akabinde ise RNA bazlı NGS uygulanmıştır. Olguların 95'inde ise doğrudan FİSH yöntemi çalışılmıştır. Birinci senaryoda Pan-TRK (EPR17341 klonu) uygulanan olguların 898'i başarıyla değerlendirilebilmiş ve eşik değer belirlenmeksizin herhangi bir boyanma pozitif kabul edilmiştir. Bu 898 olgunun 133 (%14,8)'ü pozitif olarak değerlendirilmiştir. Tümör tiplerine göre pozitiflik oranları AK'larda %11,55, SCC'lerde %16,76, nöroendokrin tümörlerde %15,79, sarkomatoid karsinomlarda %62,5, diğer tümörlerde ise %13,11 olarak bildirilmiştir. Doğrudan FİSH uygulanan 95 olgudan 84'ü değerlendirilmiş, hiçbirinde NTRK füzyonu saptanmamıştır. Çapraz test amacıyla İHK'sal olarak negatif bulunan olgulara FİSH uygulanmış ve herhangi bir NTRK füzyonuna rastlanmamıştır. Pan-TRK ile ekspresyon gösteren vakalardan 13'ü materyal yetersizliğinden çalışmadan çıkarılırken, 120 olguya RNA tabanlı NGS uygulanmış ve 2 olguda NTRK füzyonu tespit edilmiştir. Olguların birinde EPS15-NTRK1 füzyonu, diğerinde ise SQSTM1-NTRK1 füzyon saptanmıştır. Pan-TRK ekspresyonu gösteren 133 vaka arasında moleküler yöntemle yalnızca 2 olguda NTRK füzyonu tespit edilmesi, Pan-TRK antikorumun pozitif öngörüsünün düşük olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Ancak Pan-TRK antikoru ile wild tipte Trk proteinleri ile füzyon proteinleri arasında ayırım yapılamamasının bu duruma sebebiyet verdiği düşünülmüştür. NTRK füzyonu barındıran iki olgu da asiner komponenti baskın orta derece diferansiye AK olarak bildirilmiştir. NTRK füzyonu tespit edilen iki hastanın ortalama yaşı 48 olduğu ifade edilmiş ve akciğer kanseri tanısı konulan ortalama yaşa göre daha genç olduğuna dikkat çekilmiştir. Her iki hasta NTRK füzyon tespiti sonrası hedefe yönelik tedavi aldığı ve kısmi yanıt gösterdiği bildirilmiştir [238]. Bizim popülasyonumuzda Pan-TRK ile pozitiflik Overbeck ve ark. yaptığı çalışmaya benzer şekilde SCC tanılı olgularda AK tanılı olgulara göre daha yüksek oranda bulundu. Popülasyonumuzda biyopsi materyalinde KHDAK tanısı almış ve rezeksiyon materyalinde sarkomatoid karsinom tanılı olgularda nispeten yüksek çıkan Pan-TRK pozitif vaka oranının, bahsedilen tümör tiplerindeki vaka sayılarının az olması nedeniyle gerçeği yansıtmada kusurlu olabileceği düşünüldü. Çalışmamızda, Overbeck ve ark.'nın çalışmasına kıyasla Pan-TRK pozitif vakalar arasında moleküler yöntemle saptanan NTRK pozitif vaka oranı her iki çalışmada da bu oran %10'un

altında kalmaktadır. Bu durum Pan-TRK İHK'sal ekspresyonun duyarlılığının düşük olduğunu, NTRK füzyon tespitinde mutlak bir moleküler doğrulama yöntemi gerektirdiğini düşündürdü.

Farago ve ark yaptığı çalışmada farklı merkezlerden 4872 akciğer karsinomlu olgunun NGS taraması sonucunda NTRK füzyonu saptanan 11 olgunun medyan tanı yaşı 48 olarak belirtilmiştir. Hastaların %45'i kadın, %55'i ise erkek cinsiyetinde olduğu bildirilmiştir. Olguların %18'i Evre 2, %9'u Evre 3, %73'ü ise Evre 4 iken bu kohortta Evre 1 olan NTRK füzyon pozitif hasta saptanmamıştır. Takibi yapılan 10 hastanın 7'si Trk tirozin kinaz inhibitör tedavisi almış, bu 10 hastanın ortalama total sağkalımı 40,8 ay olarak bildirilmiştir [239]. Bizim çalışmamızda NTRK füzyonu tespit ettiğimiz hastaların 3'ü de erkekti. SCC tanılı iki olgu evre 4, AK tanılı olgu ise evre 2'ydi. Bu 3 hastanın ortalama sağkalımı 12,3 aydı.

Silvertown ve ark. yaptığı 296'sı akciğer/plevra kanseri olmak üzere 1687 olguluk retrospektif çalışmada vakaların 1516'sına Pan-TRK (EPR17341 klonu) uygulanmıştır. Tümördeki en az %10'luk boyanma pozitif olarak kabul edilmiş, olguların 121'inde Pan-TRK pozitif saptanmıştır. Pan-TRK pozitif olguların 81'ine uygulanabilen NGS yöntemi ile 6 olguda NTRK füzyonu saptanmıştır. Bu da İHK'sal olarak pozitif kabul edilen olguların az bir kısmında füzyon tespit edildiği anlamına gelmektedir. Pan-TRK ile ekspresyon gösterdiği halde moleküler yöntemle füzyon tespit edilmeyen vakaların en fazla akciğer/plevra tümörleri ile tükürük bezi tümörleri olduğu bildirilmiştir. Tüm popülasyonda toplam %0,71 olguda NTRK füzyonu saptanmıştır. NTRK füzyonu saptanan olgularda yaş grubu dağılımı 19-39 yaş için %2,5, 40-65 yaş için %0,8, 65 yaşından büyükler için ise %0,4 olarak ifade edilmiş ve NTRK füzyon pozitif tümörlerin yaşlı hastalara kıyasla genç hastalardaki yüksek oranına dikkat çekilmiştir [240]. Çalışmamızda olguların ortalama yaşı 65, NTRK3 füzyonu tespit edilen olguların yaşları 60, 58 ve 53'tü.

Zhou ve ark. EGFR, ALK, ROS1 gibi sürücü mutasyonları barındırmayan 60 pan-negatif akciğer SCC tanılı hastaya İHK'sal olarak Pan-TRK EPR17341 klonu uygulamıştır. Pan-TRK ile tümör hücrelerinde %80'in üzerinde reaktivite yaygın boyanma olarak kabul edilmiştir. Olguların %6,7'sinde yaygın orta şiddette sitoplazmik boyanma, %5'inde ise yaygın zayıf sitoplazmik boyanma tespit edilmiştir. İmmünreaktivite saptanan 7 olguya RNA tabanlı NGS uygulanmıştır. Bu 7 olgunun

hiçbirinde NTRK füzyonu tespit edilmemiştir. Tüm bu sonuçlar neticesinde akciğer SCC'ların NTRK füzyonu açısından negatif olma eğiliminde olduğu ve İHK'sal olarak Pan-TRK ekspresyonu saptanan olgulara daha temkinli yaklaşılması sonucuna varılmıştır [241]. Bizim çalışmamızda hem İHK'sal yöntemle hem de moleküler yöntemle en fazla füzyon tespit edilen olgular SCC tipinde tümörlerdi. Literatürde SCC olgularında kısıtlı sayıda NTRK füzyonu incelenen çalışma olduğu düşünüldüğünde, SCC NTRK füzyonu ilişkisi açısından daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Elfving ve ark. yaptığı bir çalışmada 617 KHDAK olgusunda NTRK füzyonu araştırmıştır. Olguların %57,9'u AK, %33,2'si SCC, %5,8'i LCC, %1,3'ü büyük hücreli nöroendokrin karsinom, %1,7'si diğer karsinomlardan oluşmaktadır. Doku mikroarray yöntemi kullanılarak oluşturulan bloklardan hazırlanan kesitlerde tüm vakalara uygulanan Pan-TRK (EPR17341 klonu) İHK'sal incelemesinde %4,5 olguda immünreaktivite izlenmiştir. İmmünreaktivite gösteren olguların çoğunda tümör alanının %80'den az bir oranda boyandığı görülmüştür. Boyanma gösteren %4,5 olgunun %2,8'inde zayıf, %1,1'inde orta, %0,6'sında ise güçlü bir ekspresyon izlenmiştir. Pozitif olarak değerlendirilen olguların yalnızca biri LCC iken diğerlerinin tamamının SCC olgusu olmasına yazarlar dikkat çekmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında Pan-TRK ile orta ve güçlü ekspresyon gösteren 11 vaka RNA tabanlı NGS yöntemi ile test edilmiştir. Ancak 11 vakanın hiçbirinde herhangi bir NTRK füzyonu tespit edilmemiştir. Yazarlar KHDAK'larda NTRK füzyonu nadir olsa da nispeten büyük sayılabilecek kohortlarında birkaç vakada füzyon tespit edebilecekleri beklentisinde olduklarını ifade etmişlerdir. Bu durumu KHDAK'larında NTRK füzyonlarının gerçekten nadir görülen genetik değişiklikler olmasında, olgu seçimlerinin tamamıyla rezeksiyonu yapılmış ve operasyona uygun hastalardan oluşmasına ve tüm olgulara RNA/DNA bazlı moleküler testler uygulamamalarına bağlamışlardır [242]. Bizim çalışmamızda Elfving ve ark. bulduğu Pan-TRK pozitif olgu oranından daha yüksek bir oranda (%8,1) immünreaktivite gösteren olgu bulundu. Yine Elfving ve ark. bizim popülasyonumuza göre daha kalabalık bir kohort ile çalışmalarına rağmen NTRK füzyon pozitif vaka tespit edemezken, nispeten daha küçük olan popülasyonumuzda 3 olguda NTRK3 füzyonu saptandı. Bu farklılıkların İHK'nın değerlendirilmesinde farklı eşik değerlerinin kullanılmasından, NTRK

füzyonunun KHDAK'larda nadir görülmesinden kaynaklandığı ve beklenmedik farklılıklar olmadığı düşünüldü.

Strohmeier ve ark yaptığı 176'sı AK, 161'i SCC, 31'i büyük hücreli nöroendokrin karsinom ve 19'u küçük hücreli akciğer karsinomu olmak üzere 387 olgudan oluşan seriye İHK'sal olarak Pan-TRK EPR17341 klonu uygulanmıştır. Tümör hücrelerinde %1'in üzerindeki bir immünreaktivite pozitif olarak kabul edilmiştir. Tüm olguların %3,1'inde farklı paternlerde Pan-TRK pozitifliği izlenmiştir. Bu 12 olgunun 10'u SCC, 2'si ise büyük hücreli nöroendokrin karsinom olgusudur. Pan-TRK ile pozitif boyanan 10 SCC olgusunun %20'si güçlü membranöz boyanma, %80'i ise zayıf sitoplazmik boyanma göstermiştir. Pan-TRK pozitif SCC olgularının yalnızca %10'unda %70 oranında güçlü membranöz boyanma izlenirken, %90 olguda ise %10'un altında bir boyanma görülmüştür. Büyük hücreli nöroendokrin karsinom olgularının %50'sinde %60 oranında sitoplazmik boyanma, %50'sinde ise %25 oranında güçlü sitoplazmik ve fokal nükleer boyanma izlenmiştir. AK ve küçük hücreli akciğer karsinomu olgularının hiçbirinde Pan-TRK ile immünreaktivite görülmemiştir. Pan-TRK ile pozitiflik saptanan 12 olguya RNA tabanlı NGS yöntemi uygulanmıştır. Olguların %41,7'sinde yetersiz RNA miktarı nedeniyle değerlendirme yapılamazken, %58,3 olguda ise herhangi bir NTRK füzyonu saptanmamıştır [243]. Bizim çalışmamızda Strohmeier ve ark. yaptığı çalışma ile uyumlu olarak SCC olgularının %9,6'sında İHK'sal olarak Pan-TRK pozitifliği saptandı. Literatür taramalarında AK olgularında SCC olgularına kıyasla NTRK füzyonuna daha sık rastlandığına dair genel bir görüşün hakim olduğunu gördük. Nitekim Strohmeier ve ark.'da Pan-TRK ile ekspresyon gösteren SCC olguları tespit etmiş olsalar da hiçbir SCC olgusunda moleküler yöntemle füzyon tespit edememişlerdi. Ancak bizim popülasyonumuzda tespit ettiğimiz NTRK füzyonu barındıran 3 olgunun 2'si SCC tanıydı. Bu nedenle tedavi imkânı AK'a göre daha kısıtlı olan SCC olgularında NTRK füzyon tespiti konusunda daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Zhao ve ark. yaptığı Çin popülasyonundaki akciğer AK'larında NTRK füzyonlarının araştırıldığı bir çalışmaya 4619 AK tanılı olgu dahil edilmiştir. Bu olguların 2651'i cerrahi rezeksiyon materyali, 1968'i ise küçük biyopsi ve hücre bloğudur. Cerrahi rezeksiyon materyali mevcut olguların 1992'si İnvaziv AK, 412'si MİA, 247'si ise AİS tanılı olduğu belirtilmiştir. Öncelikle bütün olgulara DNA tabanlı

NGS uygulanmıştır. Tüm olguların %90,5'inde EGFR, ALK, ROS1 gibi daha sık rastlanan sürücü mutasyonları saptanırken %0,15 olguda NTRK1 rearanjmanı tespit edilmiştir. Olguların %9,3'ünde ise herhangi bir mutasyon tespit edilmemiş ve pan-negatif grupta kabul edilmiştir. Akabinde pan-negatif gruptan 350 olgu ile 7 NTRK1 rearanjmanı tespit edilen olguya RNA tabanlı NGS ve İHK'sal yöntemle Pan-TRK (EPR17341 klonu) uygulanmıştır. Pan-negatif 82 olgu ise tümör dokusu yetersiz olduğu için çalışmanın ikinci aşamasına dahil edilmemiştir. RNA tabanlı NGS yöntemi ile 2 olguda NTRK1, 2 olguda ise NTRK2 füzyonu tespit edilmiştir. Pan-TRK ile ise 13 vakada zayıf, orta ve güçlü olmak üzere değişen oranlarda boyanma tespit edilmiştir. Ayrıca bu 13 vakanın 2'sinde orta derecede membranöz immünreaktivite bildirilmiştir. Tüm bu bahsedilen boyanmalarda tümör alanının %80-100'ünde immünreaktivite olduğu ifade edilmiştir. NTRK2 füzyonu barındırdığı bilinen iki olgu yalnızca sitoplazmik boyanma gösterirken, NTRK1 füzyonu pozitif iki olguda da sitoplazmik boyanmaya ek olarak membranöz boyanma görülmüştür. Her ikisinde de TPM3 füzyon partneri saptanan NTRK1 füzyon pozitif olguların biri AİS, diğeri ise papiller baskın invaziv AK olarak bildirilmiştir. Papiller baskın AK olgusunda Pan-TRK ile güçlü sitoplazmik boyanma izlenmiştir. NTRK2 füzyon pozitifliği tespit edilen iki olgunun füzyon partnerlerinin SQSTM1 ve KIF5B olduğu raporlanmıştır. NTRK2 füzyon pozitif olguların birisi MİA, diğeri asiner baskın AK olarak bildirilmiştir. Araştırmacı DNA tabanlı NGS'in DNA düzeyinde kromozom içi ve kromozomlar arası farklı moleküler değişikliklerin sonucu etkileyebileceğini, bu sebeple DNA bazlı NGS yöntemi ile tespit edilen 7 olgunun yalnızca 2'sinin RNA bazlı NGS ile doğrulanabildiğini belirtmiş, ayrıca RNA bazlı NGS ile tespit edilen 2 NTRK2 füzyon pozitif olgunun DNA bazlı NGS ile tespit edilememesini tüm intronların yerleştirilmesinde zorluktan kaynaklandığını belirtmiştir [241]. Bizim popülasyonumuzda AK'lar arasında NTRK füzyonu tespit ettiğimiz tek vaka papiller baskın AK'du. Zhao ve ark.'nın çalışmasında oldukça geniş sayılabilecek kohortlarında az sayıda tespit edilen NTRK füzyonlu olgulardan biri yine papiller baskın AK olarak belirtilmiştir. Kısıtlı sayılabilecek papiller baskın AK olgusu arasında her iki çalışmada da NTRK füzyonu tespit edilmesi, histopatolojik alt tipler arasında NTRK füzyon yönelimi olabileceğini akla getirdi. Ancak literatürde AK alt tiplerine yönelik NTRK füzyon saptama oranı ayırımı yapılabilecek çalışma sayısı

kısıtlı olduğundan AK alt tipler NTRK füzyon ilişkisini saptamak için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Nispeten ucuz bir yöntem olan RT-PCR NTRK gen füzyonlarına bağlı oluşan RNA transkriptlerini saptayarak sonuç veren ve güvenilirliğinde en önemli nokta RNA örneklerinin kalitesi olan moleküler bir yöntemdir. Testin en önemli dezavantajları primerleri belirlerken füzyon ortaklarının ve ekzon sınır değerlerinin bilinmesi gerekliliğidir. Füzyonlar ve ilgili kesme noktaları ile ekzonlarında ciddi farklılık gösteren NTRK'da ayrıca 80 füzyon partnerinin tanımlanmış olması, NTRK füzyon tespitinde RT-PCR yönteminin dezavantajıdır [220].

Yamamoto ve ark. yaptığı tükürük bezinin sekretuar karsinomu tanısı almış 33 olgunun dahil edildiği çalışmada İHK, FISH ve RT-PCR yöntemleri ile moleküler değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Olguların %90,9'unda Pan-TRK (EPR17341 klonu) ile nükleer ve sitoplazmik immünreaktivite izlenmiştir. FISH ve RT-PCR yöntemi ile bu 30 vakada farklı ekzon ve kırılma noktalarına sahip NTRK füzyonları doğrulanmıştır [244]. Yamamoto ve ark. yaptığı ve büyük bir kısmında NTRK füzyonu barındıran tükürük bezinin sekretuar karsinomlarında RT-PCR testi, İHK'sal olarak da boyanan 30 füzyon pozitif kanseri yakalamıştır. Bu durum bize RT-PCR yönteminin NTRK füzyonlarını seçmede başarılı bir yöntem olduğu düşündürdü.

Brzezińska ve ark. yaptığı 33 papiller tiroid karsinomlu ve 7 medüller tiroid karsinomlu hastanın bulunduğu bir çalışmada tiroid karsinomlarında RT-PCR yöntemi ile RET ve NTRK1 gen değişiklikleri araştırılmıştır. Hastaların tamamına RET ve NTRK1 için gen analizi testi uygulanmış, %21 olguda RET rearanjmanı, %12 olguda ise NTRK1 rearanjmanı tespit edilmiştir. RET değişiklikleri gösteren olguların hiçbirinde NTRK1 değişikliği; NTRK1 rearanjmanı olan olguların hiçbirinde de RET rearanjmanı görülmemiştir. NTRK1 füzyonu tespit edilen 4 olgunun 2'sinde spesifik hibrit tipi belirlenebilmiş, bu tipler T1 ve TPM3 olarak bildirilmiştir. Bu iki spesifik hibrit tipinin belirlenebildiği iki olgu da papiller tiroid karsinomunun foliküler varyantı olduğu ifade edilmiştir [245]. Brzezińska ve ark. yaptığı bu çalışma RT-PCR yönteminin NTRK füzyonlarını yakalama noktasında başarılı bir test olduğuna başka bir kanıt olarak değerlendirildi.

Farago ve ark. yaptığı bir çalışmada farklı merkezlerden 4872 akciğer karsinomlu olgunun NGS taraması sonucunda 11 olguda NTRK füzyonu saptamıştır.

Bu olgulardan 6'sında NTRK1, 1'inde NTRK2 ve 4'ünde ise NTRK3 füzyonu tespit edilmiştir. Bu 11 hastanın 9'u AK, 1'i SCC ve 1 olgu ise nöroendokrin karsinom olduğu belirtilmiştir. AK olgularının nöroendokrin diferansiasyon gösteren, solid tip ve taşlı yüzük hücreli gibi farklı histolojik tipler içeren bir spektruma sahip olduğu ifade edilmiştir. SCC tanılı olguda NTRK3-ERV6, nöroendokrin karsinom tanılı olguda ise NTRK3-SQSTM1 füzyonu tespit edilmiştir [239]. Literatürde çok sayıda çalışma ile Farago ve ark.'nın çalışmasında KHDAK'larında NTRK füzyonları arasında özellikle NTRK1 ve NTRK3 baskınlığı görülmektedir. Çalışmamızda NTRK moleküler değişikliği saptanan 3 olguda da NTRK3 füzyonu tespit edildi.

TrkA, TrkB ve TrkC'ye karşı aktivite gösteren, değişen derecelerde etkili olan, bazıları Trk proteinleri için daha seçici olan çok sayıda tirozin kinaz inhibitörü mevcuttur. Bu ajanlar arasında larotrekatinib ve entrektinib oral olarak kullanılabilen, klinik kullanımda ileri aşamalarda olan, FDA tarafından onay almış seçici Trk inhibitörleridir. Entrektinib ayrıca ALK ve ROS1'e karşı da etkinlik göstermektedir. Trk inhibitörlerine direnç mekanizmaları nedeniyle 1. Nesil Trk inhibitörlerine ek olarak yeni nesil Trk inhibitörleri ile ilgili çalışmalar sürmektedir. Bu direnç mekanizmalarını aşmak için LOXO-195, TPX-0005 ve ONO5390556 gibi ajanların etkinlikleri in vitro ortamda gösterilmiştir [202].

Entrektinib sistemik ve intrakraniyal aktivite gösteren ALK, ROS1, TrkA, TrkB ve TrkC karşı tasarlanmış güçlü bir ajandır. Doebele ve ark. yaptığı bir çalışmada NTRK gen füzyonu pozitif olan 18 yaşından büyük 54 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Bu hastaların %19'unun KHDAK tanılı olduğu bildirilmiştir. Kohortta daha çok NTRK1 ve NTRK3 füzyonlu olgular mevcuttur. En sık saptanan füzyon ETV6-NTRK3 füzyonu olarak ifade edilmiştir. Bu hastaların en az bir kez 600 mg entrektinib kullanmış hastalar olduğu tespit edilmiştir. Hasta grubunda 10,4 aylık medyan yanıt süresinde 31 (%57) olguda tedaviye yanıt elde edilmiştir. Tedaviye tam yanıt gösteren %7 olgu, kısmi yanıt gösteren ise %50 olgu saptanmıştır. KHDAK olgularının %70'i tedaviye yanıt göstermiştir. Merkezi sinir sistemi metastazı bulunan 11 olgunun bulunduğu kohortta 1 hastada intrakraniyal yanıt bildirilmiştir. İlaç kullanımına bağlı yan etkiler görülse de bunların hepsinin derece 1 ve 2 düzeyinde olduğu ifade edilmiştir [246].

Larotektinib her üç Trk proteinin kinazı da ATP bağlanma bölgesine Trk proteinlerinin bağlanmasını engelleyerek seçici olarak baskılayabilen oral bir tirozin kinaz inhibitörüdür. 26 Kasım 2018 yılında FDA tarafından erişkin ve çocuk hastalarda NTRK füzyonu içeren solid tümörlerde kullanılabileceğine dair onay almıştır. İn vitro çalışmalarda ETV6-NTRK 3 füzyonu saptanmış olan bir akut myeloid lösemi hücre hattında ve TPM3-NTRK1 füzyonu tespit edilmiş olan bir kolorektal karsinom olgusuna ait bir hücre hattında doza bağlı olarak proliferasyonu baskıladığı görülmüştür. En sık görülen yan etkileri alanin aminotransferaz ve aspartat aminotransferaz yüksekliği, lökopeni, nötropeni ve kusma olarak bildirilmiş ancak hiçbir yan etkinin derece 4 ve 5 düzeyine ulaşmadığı ifade edilmiştir. Agnostik etkinliği bulunan larotrektinibin pediatrik, ergen ve yetişkin hastalarda NTRK füzyon tipi, füzyon partneri ve tümör tipi farketmeksizin yaşam kalitesinde düzelme ve nispeten hızlı klinik yanıtı yanı sıra bu güvenli profili ve yan etki durumu göz önünde bulundurulduğunda NTRK füzyon pozitif solid tümörü olan hastalarda uzun süreli kullanımı oldukça etkili bir hedefe yönelik tedavi yöntemi olarak dikkat çekmektedir [247]

Drilon ve ark. yaptığı aralarında akciğer kanseri olgularının da bulunduğu lokal ileri veya metastatik 17 farklı NTRK füzyonu pozitif kanser tipinde 55 hastada larotrektinib tedavisi ve sonuçları değerlendirilmiştir. Olguların %45'i NTRK1, %2'si NTRK2, %53'ü ise NTRK3 füzyonu saptandığı bildirilmiştir. Olguların 50'sinde NTRK füzyonu NGS yöntemi ile, 5'inde ise FISH yöntemi ile prospektif olarak tespit edilmiştir. Yaşları 4 ay ve 76 yaş arasında değişen hem pediatrik hem erişkin hastaların dahil edildiği bu çalışmada ergen ve yetişkinler için günde iki kez 100 mg oral larotrektinib, vücut alanı 1 metrekareden az olan çocuklar için ise günde iki kez 1 metrekare başına 100 mg olacak şekilde günde iki kez oral larotrektinib dozu seçilmiştir. Tümör tipine bakılmaksızın değerlendirilen tedaviye yanıtın ortalama 1,8 ayda (0,9 ay-6,4 ay) ortaya çıktığı bildirilmiştir. Olguların genel yanıtı %95 güven aralığında araştırmacı değerlendirmesine göre %80, merkezi değerlendirmeye göre ise %75 olarak tespit edilmiştir. Veri kesme tarihi itibarıyla araştırmacı değerlendirmesiyle hastaların %16'sında tam yanıt izlenirken %64'ünde kısmi yanıt saptanmıştır. Olguların %9'unda stabil hastalık, %11'inde ise progresyon bildirilmiştir. NTRK füzyonu barındıran tümörlerde larotrektinibe tümör tipi ve hasta

yaşından bağımsız olarak kalıcı yanıtlar verdiği bildirilmiştir. Larotrektrinibin yan etki profilinin ise hastalarda uzun süreli kullanımına engel oluşturacak düzeyde olmadığı ifade edilmiştir. Larotrektrinibden fayda görebilecek hastaların tespitinde NTRK füzyon tarama stratejilerine ihtiyaç duyulacağı dile getirilmiştir [211]. Çalışmamızda NTRK3 füzyonu tespit edilen hastaların 3'ü de hayatta değildi. Bu 3 hastanın hiçbirisi NTRK füzyonuna yönelik tirozin kinaz inhibitör tedavisi almadı. Bu sebeple çalışmamızda NTRK füzyonu için hedefe yönelik tedavinin etkinliği açısından değerlendirme yapılamadı.

NTRK füzyonları solid kanserlerde nadiren tespit edilen, ancak saptandığı takdirde onkogenenin primer moleküler değişikliği olarak kabul edilen genetik değişikliklerdir. Son yıllarda FDA onaylı NTRK gen bölgesini hedefleyen tirozin kinaz inhibitörlerinin de bulunması ile NTRK gen biyolojisi bilim dünyasında önemli bir odak nokta haline gelmiştir. Bununla birlikte NTRK füzyonları yanı sıra diğer mutasyon tipleri de tanımlanmış ve hem onkojenik mekanizmalarda hem de tedaviye direnç mekanizmalarında rol aldığı belirtilmiştir. Ayrıca bu mutasyonlar tespit edilen tümörlerin çoğunda, tıpkı NTRK füzyonu tespit edilen tümörlerde olduğu gibi histolojik özelliklerinden bağımsız olarak tedavide tirozin kinaz inhibitörü kullanılabilir. NTRK gen ailesinde görülen nokta mutasyonların birçoğu fonksiyon kaybıyla sonuçlanmakta veya etki göstermemektedir. Ancak bir kısmı ise füzyondan bağımsız olarak fonksiyonel olabilmektedir [248]. Prickett ve ark. 79 melanom olgusunu dahil ettiği çalışmada protein tirozin kinaz gen ailesine yönelik mutasyon analizi yapılmıştır. Bu çalışmada iki farklı tümörde biri kinaz alanı dışında (M379I), biri ise kinaz alanında (R577G) olmak üzere Trk-A mutasyonu tespit edilmiştir [249]. Daha sonra Miranda ve ark. bu iki genin işlevselliğini araştırdıkları çalışmada M379I ve R577G somatik mutasyonlarının wild tip NTRK1 proteinlerinden fonksiyonel olarak farklı olmadığı, aşağı akış sinyal yolunu ve proliferasyon oranını etkilemediği sonucuna varmıştır [250]. Tomasson ve ark. 188 akut myeloid lösemi tanımlı hastada somatik mutasyon analizi yaptıkları bir çalışmada bilinen somatik mutasyonlara ek olarak TrkA S677N'nin de aralarında bulunduğu 4 yeni somatik mutasyon tespit edilmiştir. İn vitro çalışmalarda S677N mutasyonunun TrkA'nin kinaz fonksiyonunda hataya sebep olduğu görülmüştür [251]. Serizawa ve ark. yaptığı başka bir çalışmada ise 220 kanser hastasına Sanger Dizileme yöntemi ile genetik analiz

yapılmış, bir akciğer AK'ında TrkA V710A ve kanser tipi belirsiz bir hastada ise TrkB V752A mutasyonu tespit edilmiştir. TrkA V710A mutasyonuna yönelik yapılan in vitro çalışmada kinaz aktivitesinde azalma ve aşağı akış sinyal yolunun aktivasyonunda yavaşlama saptanmıştır [252]. Trk inhibitör tedavisi alan NTRK füzyonu saptanmış olan tükürük bezinin meme analogu sekretuar karsinomu tanılı bir hastada entrektinib ile güçlü bir yanıt elde edilmesine rağmen 7 aylık tedavi sonunda olguda progresyon görülmüştür. Akabinde yapılan NGS analizinde TrkC'nin kinaz alanında G623R mutasyonu saptanmıştır [248].

Sonuç olarak NTRK füzyonlarının tespiti özellikle hedefe yönelik tedaviler sonrasında oldukça önemli bir noktaya gelmiştir. Füzyon tespitinde İHK'sal çalışmalar moleküler imkanı bulunmayan ortamlarda tarama testi olarak kullanışlı olarak görünmektedir. Bizim çalışmamızda İHK'sal değerlendirme aşamasında titizlikle analiz ettiğimiz Pan-TRK boyalı lamlarda çok zayıf boyanmalar tespit ettiğimiz iki olguda moleküler yöntemle NTRK3 füzyonu saptandı. Bu yüzden İHK değerlendirme aşamasında oldukça dikkatli olunması olası füzyon pozitif vakaların atlanmaması açısından önem arz etmektedir. Ancak İHK'sal çalışmanın her zaman füzyonu göstermediği de akılda tutulmalıdır. Çalışmamızdaki kısıtlılık moleküler yöntemlerin olguların tümüne değil, yalnızca Pan-TRK pozitif vakalara uygulanmasıdır. Bu durum Pan-TRK ile pozitiflik saptanmayan olgularda NTRK füzyon sıklığını araştırmamıza engel teşkil etmektedir. Tüm olgulara moleküler doğrulama testlerinin uygulanamamış olması bizim çalışmamızın eksik yönüdür. NTRK'nın özellikle son yıllarda artan biyolojik rolü, çalışmalar arasında özellikle bazı KHDAK tipleri arasında farklı oranlarda NTRK füzyonu tespit edilmesi ve yeni terapötik gelişmeler göz önünde bulundurulduğunda NTRK füzyon sıklığı, tümör tiplerine göre dağılımı ve hedefe yönelik ajanların etkinliği ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

SONUÇLAR

Bu çalışmada amaç KHDAK'da NTRK füzyon sıklığını tespit etmek ve NTRK füzyon pozitifliği gösteren olguların klinikopatolojik ve prognostik özelliklerini incelemektir. Literatürde çalışmaların çoğunda NTRK füzyon tespitinde tarama testi olarak İHK, akabinde doğrulama testi olarak moleküler tespit yöntemlerinden birini kullanma konusunda genel bir görüş birliği hakimdir.

Bizim çalışmamızda İHK'sal inceleme sonucunda literatür ile kabaca uyumlu olarak değerlendirebileceğimiz %8,1 oranında pozitif vaka tespit edildi. Tümör tipleri arasında pozitif olgu sayısı en çok SCC tanılı olgularda görüldü. Ayrıca AK, KHDAK ve sarkomatoid karsinom olgularında İHK'sal immünreaktivite izlendi. İHK'sal olarak pozitif ve negatif olgular arasında klinikopatolojik parametreler ve prognoz açısından anlamlı fark görülmedi.

Doğrulama testi olarak RT-PCR ve FISH moleküler yöntemlerini uyguladığımız çalışmamızda, RT-PCR yöntemi ile 3 (%1,01) olguda NTRK3 füzyonu tespit edildi. Bu 3 olguda FISH yöntemi ile NTRK3 füzyon pozitifliği doğrulandı. Olgulardan 2'si SCC, 1'i ise AK tanılıydı. Literatürde AK olguları arasında NTRK füzyon pozitifliği sıklığı ile çalışmamızdaki sıklık tutarlıydı. SCC olgularında ise bizim popülasyonumuzda literatüre göre daha yüksek bir oranda NTRK füzyonu saptandı. Literatüre göre daha yüksek oranda tespit ettiğimiz NTRK füzyon pozitif SCC olgusu olması, popülasyonumuzda SCC sıklığının fazlalığından kaynaklanabilir. Ancak kısıtlı tedavi seçeneği olan akciğer SCC'de NTRK füzyon sıklığı açısından daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğu da açıktır.

NTRK füzyonları sık görülen tümörlerde nadiren tespit edilen genetik değişikliklerdir. Ancak NTRK füzyonunu hedef alan ajanların etkinlikleri göz önünde bulundurulduğunda, füzyonun tespiti önem kazanmaktadır. Kliniklerin NTRK füzyon tespiti için uygun bir algoritma oluşturması ve algoritmanın rutin uygulamalar içine entegre edilmesi, füzyon pozitif hastalara hedefe yönelik tedavi verilebilmesi açısından gereklilik haline geldiği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Bray, F., et al., Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2018. **68**(6): p. 394-424.
2. Travis, W.D., et al., The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. *J Thorac Oncol*, 2015. **10**(9): p. 1243-1260.
3. Govindan, R., et al., Genomic landscape of non-small cell lung cancer in smokers and never-smokers. *Cell*, 2012. **150**(6): p. 1121-34.
4. Pikor, L.A., et al., Genetic alterations defining NSCLC subtypes and their therapeutic implications. *Lung Cancer*, 2013. **82**(2): p. 179-89.
5. Kris, M.G., et al., Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs. *Jama*, 2014. **311**(19): p. 1998-2006.
6. Tan, A.C. and D.S.W. Tan, Targeted Therapies for Lung Cancer Patients With Oncogenic Driver Molecular Alterations. *J Clin Oncol*, 2022. **40**(6): p. 611-625.
7. Amatu, A., A. Sartore-Bianchi, and S. Siena, NTRK gene fusions as novel targets of cancer therapy across multiple tumour types. *ESMO Open*, 2016. **1**(2): p. e000023.
8. Al-Salama, Z.T. and S.J. Keam, Entrectinib: First Global Approval. *Drugs*, 2019. **79**(13): p. 1477-1483.
9. Burri, P.H., Fetal and postnatal development of the lung. *Annu Rev Physiol*, 1984. **46**: p. 617-28.
10. Kitaoka, H., P.H. Burri, and E.R. Weibel, Development of the human fetal airway tree: analysis of the numerical density of airway endtips. *Anat Rec*, 1996. **244**(2): p. 207-13.
11. Merkus, P.J., A.A. ten Have-Opbroek, and P.H. Quanjer, Human lung growth: a review. *Pediatr Pulmonol*, 1996. **21**(6): p. 383-97.
12. Otto-Verberne, C.J., et al., Detection of the type II cell or its precursor before week 20 of human gestation, using antibodies against surfactant-associated proteins. *Anat Embryol (Berl)*, 1988. **178**(1): p. 29-39.
13. Liggins, G.C., The role of cortisol in preparing the fetus for birth. *Reprod Fertil Dev*, 1994. **6**(2): p. 141-50.
14. Sanders, R.L., R.J. Hassett, and A.E. Vatter, Isolation of lung lamellar bodies and their conversion to tubular myelin figures in vitro. *Anat Rec*, 1980. **198**(3): p. 485-501.

15. Ganesan, S., A.T. Comstock, and U.S. Sajjan, Barrier function of airway tract epithelium. *Tissue Barriers*, 2013. **1**(4): p. e24997.
16. Murray, J.F., The structure and function of the lung. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2010. **14**(4): p. 391-6.
17. Evans, M.J., et al., Cellular and molecular characteristics of basal cells in airway epithelium. *Exp Lung Res*, 2001. **27**(5): p. 401-15.
18. Reid, L., et al., The mysterious pulmonary brush cell: a cell in search of a function. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005. **172**(1): p. 136-9.
19. Brody, A.R., The brush cell. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005. **172**(10): p. 1349.
20. Drozdov, I., et al., From Leningrad to London: the saga of Kulchitsky and the legacy of the enterochromaffin cell. *Neuroendocrinology*, 2009. **89**(1): p. 1-12.
21. Khan, Y.S. and D.T. Lynch, Histology, Lung, in *StatPearls*. 2022, StatPearls Publishing

Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL).

22. Desplechain, C., et al., [The pores of Kohn in pulmonary alveoli]. *Bull Eur Physiopathol Respir*, 1983. **19**(1): p. 59-68.
23. Light, R.W., Pleural diseases. *Dis Mon*, 1992. **38**(5): p. 266-331.
24. Siegel, R.L., K.D. Miller, and A. Jemal, Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin*, 2020. **70**(1): p. 7-30.
25. Thandra, K.C., et al., Epidemiology of lung cancer. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2021. **25**(1): p. 45-52.
26. Barta, J.A., C.A. Powell, and J.P. Wisnivesky, Global Epidemiology of Lung Cancer. *Ann Glob Health*, 2019. **85**(1).
27. Torre, L.A., R.L. Siegel, and A. Jemal, Lung Cancer Statistics. *Adv Exp Med Biol*, 2016. **893**: p. 1-19.
28. Hackshaw, A.K., Lung cancer and passive smoking. *Stat Methods Med Res*, 1998. **7**(2): p. 119-36.
29. Berthiller, J., et al., Cannabis smoking and risk of lung cancer in men: a pooled analysis of three studies in Maghreb. *J Thorac Oncol*, 2008. **3**(12): p. 1398-403.
30. Devesa, S.S., et al., International lung cancer trends by histologic type: male:female differences diminishing and adenocarcinoma rates rising. *Int J Cancer*, 2005. **117**(2): p. 294-9.

31. Singh, N., et al., Inflammation and cancer. *Ann Afr Med*, 2019. **18**(3): p. 121-126.
32. Markowitz, S.B., et al., Asbestos, asbestosis, smoking, and lung cancer. New findings from the North American insulator cohort. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013. **188**(1): p. 90-6.
33. Roscoe, R.J., et al., Mortality among Navajo uranium miners. *Am J Public Health*, 1995. **85**(4): p. 535-40.
34. Krewski, D., et al., A combined analysis of North American case-control studies of residential radon and lung cancer. *J Toxicol Environ Health A*, 2006. **69**(7): p. 533-97.
35. Bade, B.C. and C.S. Dela Cruz, Lung Cancer 2020: Epidemiology, Etiology, and Prevention. *Clin Chest Med*, 2020. **41**(1): p. 1-24.
36. Alberg, A.J., et al., Epidemiology 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): p. e1S-e29S.
37. Liu, P., et al., Exposure to mercury causes formation of male-specific structural deficits by inducing oxidative damage in nematodes. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2012. **79**: p. 90-100.
38. Zhou, Q. and S. Xi, A review on arsenic carcinogenesis: Epidemiology, metabolism, genotoxicity and epigenetic changes. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2018. **99**: p. 78-88.
39. Marshall, G., et al., Fifty-year study of lung and bladder cancer mortality in Chile related to arsenic in drinking water. *J Natl Cancer Inst*, 2007. **99**(12): p. 920-8.
40. Brenner, D.R., J.R. McLaughlin, and R.J. Hung, Previous lung diseases and lung cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 2011. **6**(3): p. e17479.
41. Sigel, K., et al., HIV as an independent risk factor for incident lung cancer. *Aids*, 2012. **26**(8): p. 1017-25.
42. Caramori, G., et al., Unbalanced oxidant-induced DNA damage and repair in COPD: a link towards lung cancer. *Thorax*, 2011. **66**(6): p. 521-7.
43. Wasswa-Kintu, S., et al., Relationship between reduced forced expiratory volume in one second and the risk of lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Thorax*, 2005. **60**(7): p. 570-5.
44. Lissowska, J., et al., Family history and lung cancer risk: international multicentre case-control study in Eastern and Central Europe and meta-analyses. *Cancer Causes Control*, 2010. **21**(7): p. 1091-104.

45. Kanwal, M., X.J. Ding, and Y. Cao, Familial risk for lung cancer. *Oncol Lett*, 2017. **13**(2): p. 535-542.
46. Landi, M.T., et al., A genome-wide association study of lung cancer identifies a region of chromosome 5p15 associated with risk for adenocarcinoma. *Am J Hum Genet*, 2009. **85**(5): p. 679-91.
47. Yokota, J., K. Shiraishi, and T. Kohno, Genetic basis for susceptibility to lung cancer: Recent progress and future directions. *Adv Cancer Res*, 2010. **109**: p. 51-72.
48. Thorgeirsson, T.E., et al., A variant associated with nicotine dependence, lung cancer and peripheral arterial disease. *Nature*, 2008. **452**(7187): p. 638-642.
49. Benusiglio, P.R., et al., Lung cancer is also a hereditary disease. *Eur Respir Rev*, 2021. **30**(162).
50. Fortes, H.R., et al., Recurrent respiratory papillomatosis: A state-of-the-art review. *Respir Med*, 2017. **126**: p. 116-121.
51. Flieder, D.B. and A. Agaimy. International Agency for Research on Cancer. Thoracic Tumours (5th ed.) // Tumours of the lung // Epithelial tumours // Papillomas // Bronchial papillomas 2021; 5th ed.: [Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/35>].
52. Popper, H.H., et al., Prognostic importance of human papilloma virus typing in squamous cell papilloma of the bronchus: comparison of in situ hybridization and the polymerase chain reaction. *Hum Pathol*, 1994. **25**(11): p. 1191-7.
53. Georgescu, S.R., et al., New Insights in the Pathogenesis of HPV Infection and the Associated Carcinogenic Processes: The Role of Chronic Inflammation and Oxidative Stress. *J Immunol Res*, 2018. **2018**: p. 5315816.
54. Flieder, D.B., et al., Solitary pulmonary papillomas in adults: a clinicopathologic and in situ hybridization study of 14 cases combined with 27 cases in the literature. *Am J Surg Pathol*, 1998. **22**(11): p. 1328-42.
55. Inamura, K., et al., Mixed squamous cell and glandular papilloma of the lung: a case study and literature review. *Pathol Int*, 2011. **61**(4): p. 252-8.
56. Devouassoux-Shisheboran, M., et al., Endobronchial variant of sclerosing hemangioma of the lung: histological and cytological features on endobronchial material. *Mod Pathol*, 2004. **17**(2): p. 252-7.
57. Shin, S.Y., et al., Pulmonary sclerosing pneumocytoma of the lung: CT characteristics in a large series of a tertiary referral center. *Medicine (Baltimore)*, 2015. **94**(4): p. e498.
58. Wang, E.H., et al., Gene expression and clonality analysis of the androgen receptor and phosphoglycerate kinase genes in polygonal cells and cuboidal cells

- in so-called pulmonary sclerosing hemangioma. *Mod Pathol*, 2007. **20**(11): p. 1208-15.
59. Chen, B., et al., Pulmonary sclerosing hemangioma: a unique epithelial neoplasm of the lung (report of 26 cases). *World J Surg Oncol*, 2013. **11**: p. 85.
 60. Devouassoux-Shisheboran, M., et al., A clinicopathologic study of 100 cases of pulmonary sclerosing hemangioma with immunohistochemical studies: TTF-1 is expressed in both round and surface cells, suggesting an origin from primitive respiratory epithelium. *Am J Surg Pathol*, 2000. **24**(7): p. 906-16.
 61. Miyagawa-Hayashino, A., et al., Pulmonary sclerosing hemangioma with lymph node metastases: report of 4 cases. *Arch Pathol Lab Med*, 2003. **127**(3): p. 321-5.
 62. Yousem, S.A. and L. Hochholzer, Alveolar adenoma. *Hum Pathol*, 1986. **17**(10): p. 1066-71.
 63. Fujimoto, K., et al., Alveolar adenoma of the lung: computed tomography and magnetic resonance imaging findings. *J Thorac Imaging*, 2002. **17**(2): p. 163-6.
 64. Cavazza, A., et al., Alveolar adenoma of the lung: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular study of an unusual case. *Int J Surg Pathol*, 2004. **12**(2): p. 155-9.
 65. Burke, L.M., et al., Alveolar adenoma: a histochemical, immunohistochemical, and ultrastructural analysis of 17 cases. *Hum Pathol*, 1999. **30**(2): p. 158-67.
 66. Spencer, H., D.H. Dail, and J. Arneaud, Non-invasive bronchial epithelial papillary tumors. *Cancer*, 1980. **45**(6): p. 1486-97.
 67. Fantone, J.C., K.R. Geisinger, and H.D. Appelman, Papillary adenoma of the lung with lamellar and electron dense granules. An ultrastructural study. *Cancer*, 1982. **50**(12): p. 2839-44.
 68. Cornejo, K.M., et al., Pulmonary papillary adenoma: a case report and review of the literature. *J Bronchology Interv Pulmonol*, 2013. **20**(1): p. 52-7.
 69. Kamata, T., et al., Ciliated muconodular papillary tumors of the lung: a clinicopathologic analysis of 10 cases. *Am J Surg Pathol*, 2015. **39**(6): p. 753-60.
 70. Taguchi, R., et al., A case of anaplastic lymphoma kinase (ALK)-positive ciliated muconodular papillary tumor (CMPT) of the lung. *Pathol Int*, 2017. **67**(2): p. 99-104.
 71. Shirsat, H., et al., Bronchiolar Adenoma/Pulmonary Ciliated Muconodular Papillary Tumor. *Am J Clin Pathol*, 2021. **155**(6): p. 832-844.

72. Miller, R.R., Bronchioloalveolar cell adenomas. *Am J Surg Pathol*, 1990. **14**(10): p. 904-12.
73. Chang, J.C., et al., Bronchiolar Adenoma: Expansion of the Concept of Ciliated Muconodular Papillary Tumors With Proposal for Revised Terminology Based on Morphologic, Immunophenotypic, and Genomic Analysis of 25 Cases. *Am J Surg Pathol*, 2018. **42**(8): p. 1010-1026.
74. Kragel, P.J., et al., Mucinous cystadenoma of the lung. A report of two cases with immunohistochemical and ultrastructural analysis. *Arch Pathol Lab Med*, 1990. **114**(10): p. 1053-6.
75. England, D.M. and L. Hochholzer, Truly benign "bronchial adenoma". Report of 10 cases of mucous gland adenoma with immunohistochemical and ultrastructural findings. *Am J Surg Pathol*, 1995. **19**(8): p. 887-99.
76. Heard, B.E., B. Corrin, and A. Dewar, Pathology of seven mucous cell adenomas of the bronchial glands with particular reference to ultrastructure. *Histopathology*, 1985. **9**(7): p. 687-701.
77. Oliveira, R.C., et al., Bronchial mucous gland adenoma: A rare tumor. *Rev Port Pneumol* (2006), 2017. **23**(4): p. 241-242.
78. Nakanishi, K., Alveolar epithelial hyperplasia and adenocarcinoma of the lung. *Arch Pathol Lab Med*, 1990. **114**(4): p. 363-8.
79. Sterner, D.J., et al., Prevalence of pulmonary atypical alveolar cell hyperplasia in an autopsy population: a study of 100 cases. *Mod Pathol*, 1997. **10**(5): p. 469-73.
80. Kitamura, H., et al., Atypical adenomatous hyperplasia of the lung. Implications for the pathogenesis of peripheral lung adenocarcinoma. *Am J Clin Pathol*, 1999. **111**(5): p. 610-22.
81. Kitamura, H., et al., Cytodifferentiation of atypical adenomatous hyperplasia and bronchioloalveolar lung carcinoma: immunohistochemical and ultrastructural studies. *Virchows Arch*, 1997. **431**(6): p. 415-24.
82. Inamura, K., Clinicopathological Characteristics and Mutations Driving Development of Early Lung Adenocarcinoma: Tumor Initiation and Progression. *Int J Mol Sci*, 2018. **19**(4).
83. Izumchenko, E., et al., Targeted sequencing reveals clonal genetic changes in the progression of early lung neoplasms and paired circulating DNA. *Nat Commun*, 2015. **6**: p. 8258.
84. Park, E., et al., Targeted Sequencing Analysis of Pulmonary Adenocarcinoma with Multiple Synchronous Ground-Glass/Lepidic Nodules. *J Thorac Oncol*, 2018. **13**(11): p. 1776-1783.

85. Noguchi, M., et al., Small adenocarcinoma of the lung. Histologic characteristics and prognosis. *Cancer*, 1995. **75**(12): p. 2844-52.
86. Austin, J.H., et al., Radiologic implications of the 2011 classification of adenocarcinoma of the lung. *Radiology*, 2013. **266**(1): p. 62-71.
87. Tsuta, K., et al., The utility of the proposed IASLC/ATS/ERS lung adenocarcinoma subtypes for disease prognosis and correlation of driver gene alterations. *Lung Cancer*, 2013. **81**(3): p. 371-376.
88. Travis, W.D., 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): p. 244-85.
89. Thunnissen, E., et al., Reproducibility of histopathological subtypes and invasion in pulmonary adenocarcinoma. An international interobserver study. *Mod Pathol*, 2012. **25**(12): p. 1574-83.
90. Auger, M., R.L. Katz, and D.A. Johnston, Differentiating cytological features of bronchioloalveolar carcinoma from adenocarcinoma of the lung in fine-needle aspirations: a statistical analysis of 27 cases. *Diagn Cytopathol*, 1997. **16**(3): p. 253-7.
91. MacMahon, H., et al., Guidelines for Management of Incidental Pulmonary Nodules Detected on CT Images: From the Fleischner Society 2017. *Radiology*, 2017. **284**(1): p. 228-243.
92. Zhan, Y., et al., Attenuation and Morphologic Characteristics Distinguishing a Ground-Glass Nodule Measuring 5-10 mm in Diameter as Invasive Lung Adenocarcinoma on Thin-Slice CT. *AJR Am J Roentgenol*, 2019. **213**(4): p. W162-w170.
93. Kadota, K., et al., Prognostic significance of adenocarcinoma in situ, minimally invasive adenocarcinoma, and nonmucinous lepidic predominant invasive adenocarcinoma of the lung in patients with stage I disease. *Am J Surg Pathol*, 2014. **38**(4): p. 448-60.
94. Sholl, L.M., et al., Lung adenocarcinoma with EGFR amplification has distinct clinicopathologic and molecular features in never-smokers. *Cancer Res*, 2009. **69**(21): p. 8341-8.
95. Borczuk, A.C., et al., Invasive size is an independent predictor of survival in pulmonary adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol*, 2009. **33**(3): p. 462-9.
96. Matsubara, D., et al., Inactivating mutations and hypermethylation of the NKX2-1/TTF-1 gene in non-terminal respiratory unit-type lung adenocarcinomas. *Cancer Sci*, 2017. **108**(9): p. 1888-1896.

97. Henschke, C.I., et al., CT Screening for Lung Cancer: Part-Solid Nodules in Baseline and Annual Repeat Rounds. *AJR Am J Roentgenol*, 2016. **207**(6): p. 1176-1184.
98. Travis, W.D., et al., International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society: international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma: executive summary. *Proc Am Thorac Soc*, 2011. **8**(5): p. 381-5.
99. Boffetta, P., et al., Cigar and pipe smoking and lung cancer risk: a multicenter study from Europe. *J Natl Cancer Inst*, 1999. **91**(8): p. 697-701.
100. Kadara, H., et al., Early Events in the Molecular Pathogenesis of Lung Cancer. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2016. **9**(7): p. 518-27.
101. Brambilla, E. and A. Gazdar, Pathogenesis of lung cancer signalling pathways: roadmap for therapies. *Eur Respir J*, 2009. **33**(6): p. 1485-97.
102. Mehta, A., et al., Predictive biomarkers in nonsmall cell carcinoma and their clinico-pathological association. *South Asian J Cancer*, 2019. **8**(4): p. 250-254.
103. Travis, W.D., et al., Diagnosis of lung adenocarcinoma in resected specimens: implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification. *Arch Pathol Lab Med*, 2013. **137**(5): p. 685-705.
104. Kadota, K., 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): p. 690-700.
105. Thunnissen, E., et al., In compressed lung tissue microscopic sections of adenocarcinoma in situ may mimic papillary adenocarcinoma. *Arch Pathol Lab Med*, 2013. **137**(12): p. 1792-7.
106. Warth, A., et al., Clinical Relevance of Different Papillary Growth Patterns of Pulmonary Adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol*, 2016. **40**(6): p. 818-26.
107. Emoto, K., et al., Expansion of the Concept of Micropapillary Adenocarcinoma to Include a Newly Recognized Filigree Pattern as Well as the Classical Pattern Based on 1468 Stage I Lung Adenocarcinomas. *J Thorac Oncol*, 2019. **14**(11): p. 1948-1961.
108. Kadota, K., et al., Tumor Spread through Air Spaces is an Important Pattern of Invasion and Impacts the Frequency and Location of Recurrences after Limited Resection for Small Stage I Lung Adenocarcinomas. *J Thorac Oncol*, 2015. **10**(5): p. 806-814.

109. Warth, A., et al., Large-scale comparative analyses of immunomarkers for diagnostic subtyping of non-small-cell lung cancer biopsies. *Histopathology*, 2012. **61**(6): p. 1017-25.
110. Yatabe, Y., et al., Best Practices Recommendations for Diagnostic Immunohistochemistry in Lung Cancer. *J Thorac Oncol*, 2019. **14**(3): p. 377-407.
111. Girard, N., et al., Comprehensive histologic assessment helps to differentiate multiple lung primary nonsmall cell carcinomas from metastases. *Am J Surg Pathol*, 2009. **33**(12): p. 1752-64.
112. Layfield, L.J., et al., Standardized terminology and nomenclature for respiratory cytology: The Papanicolaou Society of Cytopathology guidelines. *Diagn Cytopathol*, 2016. **44**(5): p. 399-409.
113. Russell, P.A., et al., Does lung adenocarcinoma subtype predict patient survival?: A clinicopathologic study based on the new International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary lung adenocarcinoma classification. *J Thorac Oncol*, 2011. **6**(9): p. 1496-504.
114. Pao, W. and N. Girard, New driver mutations in non-small-cell lung cancer. *Lancet Oncol*, 2011. **12**(2): p. 175-80.
115. Garfield, D.H. and J. Cadranel, The importance of distinguishing mucinous and nonmucinous bronchioloalveolar carcinomas. *Lung*, 2009. **187**(3): p. 207-8.
116. Lee, H.Y., et al., Mucinous versus nonmucinous solitary pulmonary nodular bronchioloalveolar carcinoma: CT and FDG PET findings and pathologic comparisons. *Lung Cancer*, 2009. **65**(2): p. 170-5.
117. Shim, H.S., et al., Unique Genetic and Survival Characteristics of Invasive Mucinous Adenocarcinoma of the Lung. *J Thorac Oncol*, 2015. **10**(8): p. 1156-62.
118. Nakaoku, T., et al., Druggable oncogene fusions in invasive mucinous lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*, 2014. **20**(12): p. 3087-93.
119. Geles, A., et al., Pulmonary mucinous adenocarcinomas: architectural patterns in correlation with genetic changes, prognosis and survival. *Virchows Arch*, 2015. **467**(6): p. 675-686.
120. Lau, S.K., M.J. Desrochers, and D.J. Luthringer, Expression of thyroid transcription factor-1, cytokeratin 7, and cytokeratin 20 in bronchioloalveolar carcinomas: an immunohistochemical evaluation of 67 cases. *Mod Pathol*, 2002. **15**(5): p. 538-42.

121. Kriegsmann, M., et al., Role of conventional immunomarkers, HNF4- α and SATB2, in the differential diagnosis of pulmonary and colorectal adenocarcinomas. *Histopathology*, 2018. **72**(6): p. 997-1006.
122. Wendroth, S.M., M.J. Mentrikoski, and M.R. Wick, GATA3 expression in morphologic subtypes of breast carcinoma: a comparison with gross cystic disease fluid protein 15 and mammaglobin. *Ann Diagn Pathol*, 2015. **19**(1): p. 6-9.
123. Rossi, G., et al., Primary mucinous (so-called colloid) carcinomas of the lung: a clinicopathologic and immunohistochemical study with special reference to CDX-2 homeobox gene and MUC2 expression. *Am J Surg Pathol*, 2004. **28**(4): p. 442-52.
124. Masai, K., et al., Clinicopathological features of colloid adenocarcinoma of the lung: A report of six cases. *J Surg Oncol*, 2016. **114**(2): p. 211-5.
125. Moran, C.A., et al., Mucinous (so-called colloid) carcinomas of lung. *Mod Pathol*, 1992. **5**(6): p. 634-8.
126. Sonzogni, A., et al., Pulmonary adenocarcinoma with mucin production modulates phenotype according to common genetic traits: a reappraisal of mucinous adenocarcinoma and colloid adenocarcinoma. *J Pathol Clin Res*, 2017. **3**(2): p. 139-152.
127. Rossi, G., et al., Napsin-A, TTF-1, EGFR, and ALK Status Determination in Lung Primary and Metastatic Mucin-Producing Adenocarcinomas. *Int J Surg Pathol*, 2014. **22**(5): p. 401-7.
128. Ricaurte, L.M., et al., Comprehensive review of fetal adenocarcinoma of the lung. *Lung Cancer (Auckl)*, 2018. **9**: p. 57-63.
129. Zhang, T.M., et al., Well-differentiated fetal adenocarcinoma of the lung: clinicopathologic features of 45 cases in China. *Int J Clin Exp Pathol*, 2018. **11**(3): p. 1587-1598.
130. Nakatani, Y., G.R. Dickersin, and E.J. Mark, Pulmonary endodermal tumor resembling fetal lung: a clinicopathologic study of five cases with immunohistochemical and ultrastructural characterization. *Hum Pathol*, 1990. **21**(11): p. 1097-107.
131. Suzuki, M., et al., Pulmonary adenocarcinoma with high-grade fetal adenocarcinoma component has a poor prognosis, comparable to that of micropapillary adenocarcinoma. *Mod Pathol*, 2018. **31**(9): p. 1404-1417.
132. Nakatani, Y., et al., Aberrant nuclear localization and gene mutation of beta-catenin in low-grade adenocarcinoma of fetal lung type: up-regulation of the Wnt signaling pathway may be a common denominator for the development of tumors that form morules. *Mod Pathol*, 2002. **15**(6): p. 617-24.

133. Morita, S., et al., High-grade lung adenocarcinoma with fetal lung-like morphology: clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular analyses of 17 cases. *Am J Surg Pathol*, 2013. **37**(6): p. 924-32.
134. Fu, Y., et al., Novel gene mutations in well-differentiated fetal adenocarcinoma of the lung in the next generation sequencing era. *Lung Cancer*, 2018. **124**: p. 1-5.
135. Nakatani, Y., et al., Pulmonary adenocarcinomas of the fetal lung type: a clinicopathologic study indicating differences in histology, epidemiology, and natural history of low-grade and high-grade forms. *Am J Surg Pathol*, 1998. **22**(4): p. 399-411.
136. Matsushima, J., et al., Clinicopathological, immunohistochemical, and mutational analyses of pulmonary enteric adenocarcinoma: usefulness of SATB2 and β -catenin immunostaining for differentiation from metastatic colorectal carcinoma. *Hum Pathol*, 2017. **64**: p. 179-185.
137. Inamura, K., et al., Pulmonary adenocarcinomas with enteric differentiation: histologic and immunohistochemical characteristics compared with metastatic colorectal cancers and usual pulmonary adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol*, 2005. **29**(5): p. 660-5.
138. Chen, M., et al., Distinctive features of immunostaining and mutational load in primary pulmonary enteric adenocarcinoma: implications for differential diagnosis and immunotherapy. *J Transl Med*, 2018. **16**(1): p. 81.
139. Jurmeister, P., et al., Next generation sequencing of lung adenocarcinoma subtypes with intestinal differentiation reveals distinct molecular signatures associated with histomorphology and therapeutic options. *Lung Cancer*, 2019. **138**: p. 43-51.
140. Zhao, L., et al., Clinicopathological, radiographic, and oncogenic features of primary pulmonary enteric adenocarcinoma in comparison with invasive adenocarcinoma in resection specimens. *Medicine (Baltimore)*, 2017. **96**(39): p. e8153.
141. Franklin, W.A., et al., Widely dispersed p53 mutation in respiratory epithelium. A novel mechanism for field carcinogenesis. *J Clin Invest*, 1997. **100**(8): p. 2133-7.
142. Mao, L., et al., Clonal genetic alterations in the lungs of current and former smokers. *J Natl Cancer Inst*, 1997. **89**(12): p. 857-62.
143. Usuda, K., et al., Relation between bronchoscopic findings and tumor size of roentgenographically occult bronchogenic squamous cell carcinoma. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1993. **106**(6): p. 1098-103.
144. Keith, R.L., et al., Angiogenic squamous dysplasia in bronchi of individuals at high risk for lung cancer. *Clin Cancer Res*, 2000. **6**(5): p. 1616-25.

145. Shibuya, K., et al., High magnification bronchovideoscopy combined with narrow band imaging could detect capillary loops of angiogenic squamous dysplasia in heavy smokers at high risk for lung cancer. *Thorax*, 2003. **58**(11): p. 989-95.
146. Sousa, V., et al., EGFR/erB-1, HER2/erB-2, CK7, LP34, Ki67 and P53 expression in preneoplastic lesions of bronchial epithelium: an immunohistochemical and genetic study. *Virchows Arch*, 2011. **458**(5): p. 571-81.
147. Teixeira, V.H., et al., Deciphering the genomic, epigenomic, and transcriptomic landscapes of pre-invasive lung cancer lesions. *Nat Med*, 2019. **25**(3): p. 517-525.
148. Krinsky, W., et al., The changing anatomic position of squamous cell carcinoma of the lung - a new conundrum. *J Community Hosp Intern Med Perspect*, 2016. **6**(6): p. 33299.
149. Molina, J.R., et al., Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship. *Mayo Clin Proc*, 2008. **83**(5): p. 584-94.
150. Hirsch, F.R. and P.A. Bunn, Jr., Progress in research on screening and genetics in lung cancer. *Lancet Respir Med*, 2014. **2**(1): p. 19-21.
151. Kim, Y., et al., Integrative and comparative genomic analysis of lung squamous cell carcinomas in East Asian patients. *J Clin Oncol*, 2014. **32**(2): p. 121-8.
152. Sands, J.M., et al., Next-generation sequencing informs diagnosis and identifies unexpected therapeutic targets in lung squamous cell carcinomas. *Lung Cancer*, 2020. **140**: p. 35-41.
153. Rossi, G., et al., Subtyping non-small cell lung cancer: relevant issues and operative recommendations for the best pathology practice. *Int J Surg Pathol*, 2013. **21**(4): p. 326-36.
154. Chang, Y.L., et al., New aspects in clinicopathologic and oncogene studies of 23 pulmonary lymphoepithelioma-like carcinomas. *Am J Surg Pathol*, 2002. **26**(6): p. 715-23.
155. Yeh, Y.C., et al., Epstein-Barr Virus-Associated Pulmonary Carcinoma: Proposing an Alternative Term and Expanding the Histologic Spectrum of Lymphoepithelioma-like Carcinoma of the Lung. *Am J Surg Pathol*, 2019. **43**(2): p. 211-219.
156. Hsieh, M.S., C.T. Wu, and Y.L. Chang, Unusual presentation of lymphoepithelioma-like carcinoma of lung as a thin-walled cavity. *Ann Thorac Surg*, 2013. **96**(5): p. 1857-9.
157. Liang, Y., et al., Primary pulmonary lymphoepithelioma-like carcinoma: fifty-two patients with long-term follow-up. *Cancer*, 2012. **118**(19): p. 4748-58.

158. Passiglia, F., et al., Lung Cancer in Italy. *J Thorac Oncol*, 2019. **14**(12): p. 2046-2052.
159. Rekhtman, N. and W.D. Travis, Large No More: The Journey of Pulmonary Large Cell Carcinoma from Common to Rare Entity. *J Thorac Oncol*, 2019. **14**(7): p. 1125-1127.
160. Naidoo, J., et al., Large Cell Neuroendocrine Carcinoma of the Lung: Clinico-Pathologic Features, Treatment, and Outcomes. *Clin Lung Cancer*, 2016. **17**(5): p. e121-e129.
161. Pelosi, G., et al., Dissecting Pulmonary Large-Cell Carcinoma by Targeted Next Generation Sequencing of Several Cancer Genes Pushes Genotypic-Phenotypic Correlations to Emerge. *J Thorac Oncol*, 2015. **10**(11): p. 1560-9.
162. Weissferdt, A., Large cell carcinoma of lung: On the verge of extinction? *Semin Diagn Pathol*, 2014. **31**(4): p. 278-88.
163. Rossi, G., et al., Large cell carcinoma of the lung: clinically oriented classification integrating immunohistochemistry and molecular biology. *Virchows Arch*, 2014. **464**(1): p. 61-8.
164. Shimazaki, H., et al., Lung carcinoma with rhabdoid cells: a clinicopathological study and survival analysis of 14 cases. *Histopathology*, 2001. **38**(5): p. 425-34.
165. Rekhtman, N., et al., Distinct profile of driver mutations and clinical features in immunomarker-defined subsets of pulmonary large-cell carcinoma. *Mod Pathol*, 2013. **26**(4): p. 511-22.
166. Wang, J., et al., Clinicopathological characteristics and survival outcomes in adenosquamous carcinoma of the lung: a population-based study from the SEER database. *Oncotarget*, 2018. **9**(8): p. 8133-8146.
167. Vassella, E., et al., Molecular profiling of lung adenosquamous carcinoma: hybrid or genuine type? *Oncotarget*, 2015. **6**(27): p. 23905-16.
168. Yousem, S.A. and L. Hochholzer, Mucoepidermoid tumors of the lung. *Cancer*, 1987. **60**(6): p. 1346-52.
169. Wang, R., et al., Analysis of major known driver mutations and prognosis in resected adenosquamous lung carcinomas. *J Thorac Oncol*, 2014. **9**(6): p. 760-8.
170. Cooke, D.T., et al., Survival comparison of adenosquamous, squamous cell, and adenocarcinoma of the lung after lobectomy. *Ann Thorac Surg*, 2010. **90**(3): p. 943-8.
171. Fishback, N.F., et al., Pleomorphic (spindle/giant cell) carcinoma of the lung. A clinicopathologic correlation of 78 cases. *Cancer*, 1994. **73**(12): p. 2936-45.

172. Smadhi, H., et al., Pulmonary Sarcomatoid carcinoma: a surgical diagnosis and prognostic factors. *Tunis Med*, 2019. **97**(1): p. 128-132.
173. Pelosi, G., et al., Review article: pulmonary sarcomatoid carcinomas: a practical overview. *Int J Surg Pathol*, 2010. **18**(2): p. 103-20.
174. Yokoyama, S., et al., Tumor Spread Through Air Spaces Identifies a Distinct Subgroup With Poor Prognosis in Surgically Resected Lung Pleomorphic Carcinoma. *Chest*, 2018. **154**(4): p. 838-847.
175. Rossi, G., et al., Pulmonary carcinomas with pleomorphic, sarcomatoid, or sarcomatous elements: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 75 cases. *Am J Surg Pathol*, 2003. **27**(3): p. 311-24.
176. Baldovini, C., G. Rossi, and A. Ciarrocchi, Approaches to Tumor Classification in Pulmonary Sarcomatoid Carcinoma. *Lung Cancer (Auckl)*, 2019. **10**: p. 131-149.
177. Hendriksen, B.S., et al., Perioperative chemotherapy is not associated with improved survival in stage I pleomorphic lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2019. **158**(2): p. 581-591.e11.
178. Macher-Goeppinger, S., et al., Expression and mutation analysis of EGFR, c-KIT, and β -catenin in pulmonary blastoma. *J Clin Pathol*, 2011. **64**(4): p. 349-53.
179. de Kock, L., et al., Somatic DICER1 mutations in adult-onset pulmonary blastoma. *Eur Respir J*, 2016. **47**(6): p. 1879-82.
180. Koss, M.N., L. Hochholzer, and T. O'Leary, Pulmonary blastomas. *Cancer*, 1991. **67**(9): p. 2368-81.
181. Yousem, S.A., et al., Pulmonary blastoma. An immunohistochemical analysis with comparison with fetal lung in its pseudoglandular stage. *Am J Clin Pathol*, 1990. **93**(2): p. 167-75.
182. Kawachi, K., et al., Blastomatoid carcinosarcoma of the lung. *Pathol Int*, 2013. **63**(7): p. 377-9.
183. Davis, M.P., et al., Carcinosarcoma of the lung: Mayo Clinic experience and response to chemotherapy. *Mayo Clin Proc*, 1984. **59**(9): p. 598-603.
184. Koba, H., et al., Next-generation sequencing analysis identifies genomic alterations in pathological morphologies: A case of pulmonary carcinosarcoma harboring EGFR mutations. *Lung Cancer*, 2018. **122**: p. 146-150.
185. Koss, M.N., L. Hochholzer, and R.A. Frommelt, Carcinosarcomas of the lung: a clinicopathologic study of 66 patients. *Am J Surg Pathol*, 1999. **23**(12): p. 1514-26.

186. Kitazawa, R., et al., Lung carcinosarcoma with liposarcoma element: autopsy case. *Pathol Int*, 2006. **56**(8): p. 449-52.
187. Bull, J.C., Jr. and O.F. Grimes, Pulmonary carcinosarcoma. *Chest*, 1974. **65**(1): p. 9-12.
188. Weissferdt, A. and C.A. Moran, Malignant biphasic tumors of the lungs. *Adv Anat Pathol*, 2011. **18**(3): p. 179-89.
189. Harrison, P.T., S. Vyse, and P.H. Huang, Rare epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations in non-small cell lung cancer. *Semin Cancer Biol*, 2020. **61**: p. 167-179.
190. Brazel, D., G. Kroening, and M. Nagasaka, Non-small Cell Lung Cancer with EGFR or HER2 Exon 20 Insertion Mutations: Diagnosis and Treatment Options. *BioDrugs*, 2022. **36**(6): p. 717-729.
191. Villalobos, P. and Wistuba, II, Lung Cancer Biomarkers. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2017. **31**(1): p. 13-29.
192. Hallberg, B. and R.H. Palmer, The role of the ALK receptor in cancer biology. *Ann Oncol*, 2016. **27 Suppl 3**: p. iii4-iii15.
193. Hofman, P., ALK in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Pathobiology, Epidemiology, Detection from Tumor Tissue and Algorithm Diagnosis in a Daily Practice. *Cancers (Basel)*, 2017. **9**(8).
194. Seegobin, K., et al., Immunotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer With Actionable Mutations Other Than EGFR. *Front Oncol*, 2021. **11**: p. 750657.
195. Shaw, A.T., et al., Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer who harbor EML4-ALK. *J Clin Oncol*, 2009. **27**(26): p. 4247-53.
196. Dong, J., et al., Advances in Targeted Therapy and Immunotherapy for Non-small Cell Lung Cancer Based on Accurate Molecular Typing. *Front Pharmacol*, 2019. **10**: p. 230.
197. Yu, H.A., 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): p. 2240-7.
198. Li, A.Y., et al., RET fusions in solid tumors. *Cancer Treat Rev*, 2019. **81**: p. 101911.
199. Kohno, T., et al., KIF5B-RET fusions in lung adenocarcinoma. *Nat Med*, 2012. **18**(3): p. 375-7.
200. Drilon, A., et al., Efficacy of Selpercatinib in RET Fusion-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*, 2020. **383**(9): p. 813-824.

201. Gainor, J.F., et al., Pralsetinib for RET fusion-positive non-small-cell lung cancer (ARROW): a multi-cohort, open-label, phase 1/2 study. *Lancet Oncol*, 2021. **22**(7): p. 959-969.
202. Cocco, E., M. Scaltriti, and A. Drilon, NTRK fusion-positive cancers and TRK inhibitor therapy. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018. **15**(12): p. 731-747.
203. Cunningham, M.E. and L.A. Greene, A function-structure model for NGF-activated TRK. *Embo j*, 1998. **17**(24): p. 7282-93.
204. Greco, A., et al., The Gly571Arg mutation, associated with the autonomic and sensory disorder congenital insensitivity to pain with anhidrosis, causes the inactivation of the NTRK1/nerve growth factor receptor. *J Cell Physiol*, 2000. **182**(1): p. 127-33.
205. Okamura, R., et al., Analysis of NTRK Alterations in Pan-Cancer Adult and Pediatric Malignancies: Implications for NTRK-Targeted Therapeutics. *JCO Precis Oncol*, 2018. **2018**.
206. Kummar, S. and U.N. Lassen, TRK Inhibition: A New Tumor-Agnostic Treatment Strategy. *Target Oncol*, 2018. **13**(5): p. 545-556.
207. Knezevich, S.R., et al., A novel ETV6-NTRK3 gene fusion in congenital fibrosarcoma. *Nat Genet*, 1998. **18**(2): p. 184-7.
208. Brčić, I., et al., Broadening the spectrum of NTRK rearranged mesenchymal tumors and usefulness of pan-TRK immunohistochemistry for identification of NTRK fusions. *Mod Pathol*, 2021. **34**(2): p. 396-407.
209. Solomon, J.P., et al., NTRK fusion detection across multiple assays and 33,997 cases: diagnostic implications and pitfalls. *Mod Pathol*, 2020. **33**(1): p. 38-46.
210. Farago, A.F., et al., Durable Clinical Response to Entrectinib in NTRK1-Rearranged Non-Small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol*, 2015. **10**(12): p. 1670-4.
211. Drilon, A., et al., Efficacy of Larotrectinib in TRK Fusion-Positive Cancers in Adults and Children. *N Engl J Med*, 2018. **378**(8): p. 731-739.
212. Vaishnavi, A., A.T. Le, and R.C. Doebele, TRKking down an old oncogene in a new era of targeted therapy. *Cancer Discov*, 2015. **5**(1): p. 25-34.
213. Haratake, N. and T. Seto, NTRK Fusion-positive Non-small-cell Lung Cancer: The Diagnosis and Targeted Therapy. *Clin Lung Cancer*, 2021. **22**(1): p. 1-5.
214. Gatalica, Z., et al., Molecular characterization of cancers with NTRK gene fusions. *Mod Pathol*, 2019. **32**(1): p. 147-153.
215. Solomon, J.P., et al., Identifying patients with NTRK fusion cancer. *Ann Oncol*, 2019. **30**(Suppl_8): p. viii16-viii22.

216. Penault-Llorca, F., E.R. Rudzinski, and A.R. Sepulveda, Testing algorithm for identification of patients with TRK fusion cancer. *J Clin Pathol*, 2019. **72**(7): p. 460-467.
217. Chiang, S., et al., NTRK Fusions Define a Novel Uterine Sarcoma Subtype With Features of Fibrosarcoma. *Am J Surg Pathol*, 2018. **42**(6): p. 791-798.
218. Doebele, R.C., et al., An Oncogenic NTRK Fusion in a Patient with Soft-Tissue Sarcoma with Response to the Tropomyosin-Related Kinase Inhibitor LOXO-101. *Cancer Discov*, 2015. **5**(10): p. 1049-57.
219. Davis, J.L., et al., Expanding the Spectrum of Pediatric NTRK-rearranged Mesenchymal Tumors. *Am J Surg Pathol*, 2019. **43**(4): p. 435-445.
220. Hechtman, J.F., NTRK insights: best practices for pathologists. *Mod Pathol*, 2022. **35**(3): p. 298-305.
221. Demetri, G.D., et al., Diagnosis and management of tropomyosin receptor kinase (TRK) fusion sarcomas: expert recommendations from the World Sarcoma Network. *Ann Oncol*, 2020. **31**(11): p. 1506-1517.
222. Oliver, A.L., Lung Cancer: Epidemiology and Screening. *Surg Clin North Am*, 2022. **102**(3): p. 335-344.
223. Duma, N., R. Santana-Davila, and J.R. Molina, Non-Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Screening, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clin Proc*, 2019. **94**(8): p. 1623-1640.
224. Schabath, M.B. and M.L. Cote, Cancer Progress and Priorities: Lung Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2019. **28**(10): p. 1563-1579.
225. Lewis, D.R., et al., US lung cancer trends by histologic type. *Cancer*, 2014. **120**(18): p. 2883-92.
226. Slim, A., et al., Postoperative recurrence of primary lung cancer: anatomoclinical and therapeutic study. *Tunis Med*, 2021. **99**(5): p. 560-568.
227. Shimada, Y., et al., Extratumoral vascular invasion is a significant prognostic indicator and a predicting factor of distant metastasis in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*, 2010. **5**(7): p. 970-5.
228. Pani, E., et al., Factors associated with nodal metastasis in 2-centimeter or less non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2020. **159**(3): p. 1088-1096.e1.
229. Alexander, M., S.Y. Kim, and H. Cheng, Update 2020: Management of Non-Small Cell Lung Cancer. *Lung*, 2020. **198**(6): p. 897-907.
230. Paver, E., et al., Updates in the molecular pathology of non-small cell lung cancer. *Semin Diagn Pathol*, 2021. **38**(5): p. 54-61.

231. Bourhis, A., et al., Screening for NTRK-rearranged Tumors Using Immunohistochemistry: Comparison of 2 Different pan-TRK Clones in Melanoma Samples. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2020. **28**(3): p. 194-196.
232. Guibourg, B., et al., EPR17341 and A7H6R pan-TRK Immunohistochemistry Result in Highly Different Staining Patterns in a Series of Salivary Gland Tumors. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 2020. **28**(9).
233. Haberecker, M., et al., A systematic comparison of pan-Trk immunohistochemistry assays among multiple cancer types. *Histopathology*, 2023. **82**(7): p. 1003-1012.
234. Hechtman, J.F., et al., Pan-Trk Immunohistochemistry Is an Efficient and Reliable Screen for the Detection of NTRK Fusions. *Am J Surg Pathol*, 2017. **41**(11): p. 1547-1551.
235. Vaishnavi, A., et al., Oncogenic and drug-sensitive NTRK1 rearrangements in lung cancer. *Nat Med*, 2013. **19**(11): p. 1469-1472.
236. Koehne de González, A., et al., Pan-tumor screening for NTRK gene fusions using pan-TRK immunohistochemistry and RNA NGS fusion panel testing. *Cancer Genet*, 2022. **262-263**: p. 47-52.
237. Bang, H., et al., NTRK Fusions in 1113 Solid Tumors in a Single Institution. *Diagnostics (Basel)*, 2022. **12**(6).
238. Overbeck, T.R., et al., NTRK Gene Fusions in Non-Small-Cell Lung Cancer: Real-World Screening Data of 1068 Unselected Patients. *Cancers (Basel)*, 2023. **15**(11).
239. Farago, A.F., et al., Clinicopathologic Features of Non-Small-Cell Lung Cancer Harboring an NTRK Gene Fusion. *JCO Precis Oncol*, 2018. **2018**.
240. Silvertown, J.D., et al., Prevalence of NTRK Fusions in Canadian Solid Tumour Cancer Patients. *Mol Diagn Ther*, 2023. **27**(1): p. 87-103.
241. Zhao, R., et al., Identification of NTRK gene fusions in lung adenocarcinomas in the Chinese population. *J Pathol Clin Res*, 2021. **7**(4): p. 375-384.
242. Elfving, H., et al., Evaluation of NTRK immunohistochemistry as a screening method for NTRK gene fusion detection in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 2021. **151**: p. 53-59.
243. Strohmeier, S., et al., Applicability of pan-TRK immunohistochemistry for identification of NTRK fusions in lung carcinoma. *Sci Rep*, 2021. **11**(1): p. 9785.

244. Yamamoto, H., et al., Pan-tropomyosin receptor kinase immunoreactivity, ETV6-NTRK3 fusion subtypes, and RET rearrangement in salivary secretory carcinoma. *Hum Pathol*, 2021. **109**: p. 37-44.
245. Brzezińska, E., et al., Molecular analysis of the RET and NTRK1 gene rearrangements in papillary thyroid carcinoma in the Polish population. *Mutat Res*, 2006. **599**(1-2): p. 26-35.
246. Doebele, R.C., et al., Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1-2 trials. *Lancet Oncol*, 2020. **21**(2): p. 271-282.
247. Federman, N. and R. McDermott, Larotrectinib, a highly selective tropomyosin receptor kinase (TRK) inhibitor for the treatment of TRK fusion cancer. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2019. **12**(10): p. 931-939.
248. Rogers, C., J.J.D. Morrisette, and R.T. Sussman, NTRK point mutations and their functional consequences. *Cancer Genet*, 2022. **262-263**: p. 5-15.
249. Prickett, T.D., et al., Analysis of the tyrosine kinome in melanoma reveals recurrent mutations in ERBB4. *Nat Genet*, 2009. **41**(10): p. 1127-32.
250. Miranda, C., et al., Functional characterization of NTRK1 mutations identified in melanoma. *Genes Chromosomes Cancer*, 2014. **53**(10): p. 875-80.
251. Tomasson, M.H., et al., Somatic mutations and germline sequence variants in the expressed tyrosine kinase genes of patients with de novo acute myeloid leukemia. *Blood*, 2008. **111**(9): p. 4797-808.
252. Serizawa, M., et al., Novel Tumor-specific Mutations in Receptor Tyrosine Kinase Subdomain IX Significantly Reduce Extracellular Signal-regulated Kinase Activity. *Anticancer Res*, 2016. **36**(6): p. 2733-44.