

## Kolorektal Kansere Moleküler Yaklaşım

Serap Arslan<sup>1</sup>

### Özet

Kolorektal kanser(KRK) yüksek morbidite ve mortalite oranları ile en sık gözlenen kanserlerden biridir. Teknolojik gelişmeler ve yapılan çalışmalar sonrasında hastalığın erken tanı alma oranları oldukça artmıştır. Bununla birlikte olguların önemli bir kısmı halen ileri evrede tanı almaktadır. Bu nedenle çalışmalar özellikle hastalığın moleküler patogenezi üzerine yoğunlaşmıştır. Kolorektal kanserler heterojen ve multifaktöriyel bir hastalık grubudur. KRK'ler familyal ve sporadik olmak üzere farklı formlarda ortaya çıkabilir. KRK gelişiminde rol oynayan; Kromozomal Kararsızlık (CIN) yolağı, Mikrosatellit Kararsızlık (MSI) yolağı ve CpG Adası Metilatör Fenotipi (CIMP) yolağı olmak üzere üç farklı moleküler yolak tanımlanmıştır. Hastalık etiopatogenezinde çok sayıda genin etkili olduğu bir mekanizma söz konusudur. Hastalık ile ilişkili genler arasında özellikle *APC*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *TP53* ve *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* ve *PMS2* gibi DNA yanlış eşleşme onarım genleri bu moleküler yollarda yer almaktadır. Kolorektal karsinogenezin moleküler temelini anlaşılmaması, hastalığın tanı, prognoz ve tedavisi açısından önemlidir. Dolayısıyla günümüzde klinikte kullanılan hastalık kılavuzlarında da bu genler yerini almıştır. Kılavuzlarda bu genlerdeki genetik değişikliklerin tespit edilebileceği moleküler yöntemler ve sonuca göre izlenecek algoritmalar ayrıntılı olarak anlatılmaktadır. Bununla birlikte kolorektal kanserlerin moleküler mekanizmalarını aydınlatmaya ve kişiye özel hedefli tedavi yöntemleri üzerinde umut vaat eden çalışmalar devam etmektedir.

### Epidemiyoloji

Kolorektal kanser (KRK) en yaygın görülen kanser tiplerindedir. Kanser nedeni ölümlerin başında yer almaktadır (Aykan vd., 2015; J. Shi vd., 2015). Global Kanser (GLOBOCAN) veri tabanına göre; dünya çapında tüm kanserli yeni olgularda %10 insidans oranı ile en sık görülen 3. kanser

1 Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Abd, Karabük/Türkiye. ORCID: 0000-0002-7112-5658, serkus76@gmail.com

tipidir. Tüm kanserden ölümlerde ise %9,4 ölüm oranı ile 2. sıradadır (Globocan, 2020).

Gastrointestinal sistem içinde görülen en yaygın malign kanser türüdür (Granados-Romero vd., 2017). Erkeklerde görülme oranı kadınlardan daha fazladır. Gelişmiş ülkelerde gelişmekte olan ülkelere göre 3-4 kat daha yüksek insidans oranı göstermektedir (Abedini vd., 2019).

Hastaların yaklaşık %40'ı erken evrede, %60'ı ileri evrede tanı almaktadır (Bakanlığı S, 2014; Granados-Romero vd., 2017). İleri evrelerde tespit edilen hastaların %25'i tam sırasında, %50'si ise takip sırasında gelişen metastazlar nedeniyle kaybedilmektedir (AYDIN vd., 2015; Kemeny vd., 1989). Kolon kanseri 5 yıllık sağ kalım oranı %90, rektal kanserlerde 5 yıllık sağ kalım oranı ise %89 olarak belirtilmiştir. Yakın bölge metastazlarında sağ kalım oranı %71, uzak bölge metastazlarında ise %14-15 olarak bildirilmektedir.

### **Etiyoloji**

KRK, gelişimine çevresel ve genetik faktörlerin eşlik ettiği multifaktöriyel bir hastalıktır. Vakaların %60-65'i sporadik, %25'inde aile öyküsü, %5'inde ise genetik yatkınlık söz konusudur (Kuipers vd., 2015).

Etiyolojik faktörler arasında, yaş, cinsiyet, ırk ve etnik köken, polip öyküsü, yaşam tarzı ve kalıtsal faktörler yer alır. Sporadik KRK'de yaş önemli bir risk faktörüdür ve tanı alma yaşı 50 yaş ve üzeridir. Yaşla birlikte insidanda artış söz konusudur. İnsidans ve mortalite oranı ırk ve etnik kökene bağlı farklılık gösterir. Bu oranların Hispanik olmayan siyahlarda ve Kızılderililer/Alaska Yerlilerinde en yüksek, Asyalı Amerikalılar/Pasifik Adalılarında ise en düşük olduğu bildirilmektedir (Siegel, Jakobowski, Fedewa, Davis, & Azad, 2020). Yine tümör ve polip öyküsü KRK riskini 2-3 kat arttırmaktadır. Poliplerin çoğunluğu sağ kolon yerleşimlidir. Villöz veya tubülovillöz histolojiye sahip, yüksek dereceli displazi ve birden fazla büyük adenomatöz polip (>1-2 cm) bulduran bireylerde KRK riski artma eğilimindedir (Butterworth, Higgins, & Pharoah, 2006).

Familiyal adenomatöz polipozis (FAP) ve herediter nonpolipozis kolorektal kanser (HNPCK) gibi kalıtsal polipozis sendromu taşıyan bireylerde KRK riski çok yüksektir. Bu kalıtsal hastalıklar erken yaşta ve daha şiddetli ortaya çıkmalarıyla karakterizedirler.

### **Histopatoloji**

Histopatolojik olarak KRK olgularının %90'ı adenokarsinomlar, %10'u müsinöz karsinom ve %1,1'i taşlı yüzük hücreli karsinomlardır.

Adenokarsinomlar kolorektal mukozanın epitel hücrelerinden köken alır. Dünya sağlık örgütünün güncel sınıflandırmasında KRK'ların histolojik varyantları, müsinöz, taşlı yüzük hücreli, medüller, mikropapiller, tırtıklı kriproform komedo tip, adenoskuamöz, içsi hücreli ve farklılaşmamış olarak alt gruplara ayrılır. Bu tipler arasında müsinöz karsinom en yaygın görülen tipidir. Müsinöz karsinom genellikle sağ kolon yerleşimli ve Mikrosatellit instabilite (MSI) ve *BRAF*, *KRAS* ve *PIK3CA* genlerindeki varyantlar yüksek oranda gözlenir. Taşlı yüzük hücreli karsinom nadir bir histolojik alt tiptir, genellikle daha genç hastalarda ve sağ kolonda sık gözlenir. Kolorektal adenokarsinomların histopatolojik değerlendirilmesinde, %70'i orta diferansiye (Grade II), %10'u iyi diferansiye (Grade I) ve %20'si de kötü diferansiye (Grade III) olarak tanı alır (Fleming vd., 2012).

### **Tümör Lokalizasyonu**

KRK'lerde tümör, yaklaşık %45-60'ı rektosigmoidal kolonda, %15-30'u çıkan kolon ve çekumda, %5-10'u transvers kolonda ve %10-15'i inen kolonda lokalizedir. Tüm kolon karsinomlarının %33-64'ünü sağ kolon tümörleri oluşturur. Sağ kolon tümörleri (proksimal) çoğunlukla ileri evre ve yüksek histopatolojik dereceli bir fenotipe sahiptir. Tümör metastazı sağ ve sol kolonda farklılık gösterebilir. Sağ kolon tümörleri peritona, sol kolon(distal) tümörleri ise karaciğer ve akciğere metastaz yapmaktadır. Olguların %3-6'sında birden fazla odaklı karsinomlar görülebilir (Stintzing, Tejpar, Gibbs, Thiebach ve Lenz, 2017).

### **KRK Tanı ve Evreleme**

KRK klinik belirtileri lezyonun konumuna bağlıdır. Hastaların yaklaşık %30'u tıkanma veya perforasyon semptomları ile akut aşamada tanı alır. Kolon kanserli hastaların %25'i ve rektal kanserli hastaların %18'i ilk tanı anında metastatiktir. Kolorektal teşhisi konan hastaların yaklaşık %50-60'ında metastaz gelişir. Karaciğer, KRK hastalarında en yaygın metastaz lokalizasyonudur. Akciğer metastazı ise sıklıkla rektal kanserli hastalarda ortaya çıkar.

Kolorektal kanserlerin tanı ve evreleme değerlendirmesinde TNM ve Dukes evreleme sistemi kullanılır. Ayrıca Uluslararası Kolorektal Kanser Alt Tip Belirleme Konsorsiyumu (CRCSC), gen ekspresyon temelinde KRK moleküler alt tiplerini dört gruba ayırmaktadır. Kolorektal kanser moleküler alt tipleri (CMS); CMS1, CMS2, CMS3 ve CMS4 olarak sınıflandırılır. Olguların %14'ü CMS1, %37'si CMS2, %13'ü CMS3, %23'ü CMS4 ve %13'ü Miks evresinde tanı alır. CMS1 evresindeki KRK'ler proksimal yerleşimli, sıklıkla *BRAF* varyantları görülen, MSI-yüksek fenotipi ve iyi

prognostiktir. CMS2 evresindeki KRK'ler sol kolon yerleşimli, *APC*, *TP53*, *RAS* ve *EGFR* varyantları, *WNT* ve *MYC* sinyal aktivasyonu, mikrosatellit stabil fenotipli tümör ve iyi prognozudur. CMS3 evresinde metabolik düzensizlik ve *KRAS* varyantları yaygın gözlenir. CMS4 evresinde TGF- $\beta$  sinyal yolağı aktivasyonu, invazyon, anjiyogenez ve kemoterapiye direnç söz konusudur ve kötü prognozudur (Guinney vd., 2015).

### **Kolorektal Kanserlerde Moleküler Patogenez**

Kolorektal kanser, farklı moleküler mekanizmalara sahip heterojen bir hastalıktır. Kolorektal karsinomalarındaki genetik ve epigenetik değişiklikler, hücrel metabolizma, proliferasyon, farklılaşma, sağ kalım ve apoptozla ilgili hücrel sinyal yollarına etki eder. Kolorektal karsinogenezin moleküler temelini anlaşılmaması, KRK'nin hem prognozu hem de tedavisi açısından önemlidir.

Kolorektal kanser, normal mukozanın adenoma ve ardından karsinomaya dönüşmesine yol açan "Adenom-Karsinom Sekansı" olarak tanımlanan aşamalı bir dizi olayla gelişir. Bu dönüşüm süreci sonucu genomik kararsızlık ortaya çıkmaktadır. Bu aşamalı süreç, normal epitel dokudan displastik epitel dokuya sonrasında da çoklu klonal adenomatöz poliplerin karsinomaya dönüşümünü ifade eder. Bu süreçte bazı genlerdeki belirli genetik değişikliklerin sırasıyla birikimi söz konusudur.

Kolorektal kanserleri familial ve sporadik olmak üzere iki gruba ayırabiliriz. Familial kökenli olgular KRK'lerin %5'ini oluşturur (Burt R, Neklason D W., 2005). Kalıtsal polipozis sendromu taşıyan bireylerde KRK riski çok yüksektir. 40 yaş altındaki olguların tanısında ailesel kanser sendromları göz önünde bulundurulmalı ve familial köken açısından değerlendirilmeye alınmalıdır.

### **Familial Kolorektal Kanser Moleküler Patogenez**

#### ***Familial Adenomatöz Polipozis (FAP)***

FAP, tipik olarak yüzlerce kolorektal polip gelişimi ile ilişkili, nadir görülen, otozomal dominant bir hastalıktır. Görülme sıklığı 1/12,000 ve tüm KRK'lerin yaklaşık %0.5-1'ini oluşturur. Hastalık iki farklı formda gözlenir; klasik ve attenüe (AFAP). Klasik form, daha erken yaşlarda ortaya çıkması, yüzün üzerinde polip görünümü, KRK gelişme riski %100 olması ve genellikle sol kolon yerleşimli olmasıyla karakterizedir. Attenüe formda ise polip sayısı yüzden azdır, yaşam boyu kanser riski daha düşüktür. 40 yaştan itibaren risk artar ve 80 yaş için risk %70 olarak bildirilmiştir. Olguların %25'inde *de novo* germline mutasyonlar gözlenir. Bu da bazı

olguların karakteristik otozomal dominant kalıtım modeli sergilemediğini göstermektedir.

FAP ve FAP varyantlarında, 5q21-q222de lokalize adenomatöz polipozis koli (APC) tümör baskılayıcı genindeki germline mutasyonlar hastalık patogenezinin temelini oluşturur. APC'nin 169 ve 1600. kodonlarındaki mutasyonlar klasik FAP fenotipine yol açar. Mutasyonlar erken stop kodonu oluşturarak işlevsiz bir protein ürünü oluşumuna neden olur. FAP vakalarının yaklaşık %80'inde ailede hastalık öyküsü vardır. Klasik ve attenüe form FAP olgularında genetik test seçimi ailede bilinen bir mutasyon olup olmadığına göre farklılık gösterir. Bilinen bir mutasyon varsa olgu ve risk altındaki tüm aile bireyleri bu mutasyon testine tabi tutulur. Eğer bilinen bir mutasyon yoksa APC geni için tüm gen analizi önerilir.

### ***Kalıtısal Polipsiz Kolorektal Kanser (HNPCK)***

Familiyal KRK'lerin diğer önemli bir grubunu Hereditör nonpolipozis kolorektal kanserler oluşturur. Bütün KRK'lerin yaklaşık %4-6'sını oluşturan HNPCK, Lynch sendromu olarak da bilinir ve hastalık daha erken yaşta ortaya çıkar, özellikle sağ kolon yerleşimli (%60-70) ve müsinöz ve kötü differansiye kanser ile karakterizedir (Hampel H, vd, 2005). HNPCK'nın en belirgin özelliği yüzden fazla polip varlığı ve bu poliplerin genellikle proksimal kolonda yerleşik olmasıdır (Kuipers vd., 2015). Bu olgularda yaşam boyu KRK gelişme riski %70-80'dir ve bu risk 20 yaşından itibaren artar. HNPCK'li bir hastanın yaşam boyu endometriyal ve ovaryum kanseri geliştirme riski sırasıyla %54 ve %13,5 (Dunlop M G, vd, 1997). HNPCK tümörleri moleküler fenotip olarak genellikle yüksek derecede mikrosatellit instabilitesi (MSI-H) sergiler. Bu moleküler fenotip oluşumunda *MSH2*, *MLH1*, *MSH6*, *PMS2* gibi DNA yanlış eşleşme onarımında görevli genlerin germline mutasyonları rol oynar. Özellikle *MLH1* ve *MSH2* genlerindeki mutasyonlar daha sık gözlenir (Burt R, Neklason D W, 2005; de la Chapelle A, 2004). DNA yanlış eşleşme onarımında görevli olan genlerdeki genetik değişiklikler araştırılırken belli bir algoritmanın izlenmesi hem zaman hem de maliyet açısından daha efektif olacaktır. Bu nedenle önce *MLH1* ve *MSH2* taranmalı eğer bunlarda mutasyon bulunmazsa *MSH6* araştırılmalı, sonrasında da *PMS2* testi yapılmalıdır.

Sporadik KRK'lerin %10-15'i de MSI-H fenotipi sergiler. Sporadik MSI-H kolorektal kanserlerin çoğunda, *MLH1* geni promotör bölgesi hipermetilasyonu yoluyla susturulmuştur (Aaltonen L A, vd, 1993; Kinzler K W, Vogelstein B.,1996).

### *MYH-associated polyposis (MAP)*

MYH-associated polyposis (MAP) çok sayıda adenomatöz polipin görüldüğü nadir, otozomal resesif kalıtılan ve attenüe FAP'a yol açan bir hastalıktır. Genellikle 45-59 yaş arasında tanı konulur. MAP'lı olguların yaklaşık %50'sinde KRK gelişme riski söz konusudur. MAP moleküler fenotipinden sorumlu genetik değişiklik MUTYH(MYH) geninde gözlenen mutasyonlardır (de la Chapelle A, 2004).

### *Hamartomatöz Poliposis Sendromları*

Peutz-Jeghers sendromu (PJS), juvenile poliposis sendromu (JPS) ve Cowden hastalığının dahil olduğu Hamartomatous poliposis sendromları, 1/100.000 sıklıkta ve çok nadir gözlenen kalıtsal hastalıklardır.

Peutz-Jeghers sendromu (PJS), Peutz-Jeghers tipi hamartomatöz polipler ile karakterize otozomal dominant bir hastalıktır. Yaşam boyu bu hastaların %30'unda kolon kanseri ve %50'sinde de meme kanseri gelişme riski söz konusudur. PJS vakalarının yaklaşık %50'sinin, *STK11* geninin otozomal dominant germline mutasyonları nedeniyle meydana gelir (Ünlü M., 2019).

Juvenile poliposis sendromunda (JPS) yaşam boyu kolon kanseri riski %60 ve hastalar ayrıca mide, ince bağırsak ve pankreas kanseri geliştirme riski altındadır. JPS vakalarının yaklaşık %50'sinde, her ikisi de TGFβ sinyal yolağında yer alan *SMAD4* ve *BMPRIA* genlerinin otozomal dominant kalıtılan germline mutasyonları söz konusudur (Ünlü M., 2019).

Cowden hastalığı, otozomal dominant bir hastalıktır. Meme ve tiroid kanseri riski en çok Cowden hastalığında belirgindir ve hastaların %10'unda kolon kanseri gelişir. Cowden hastaların çoğunda *PTEN* geninin otozomal dominant germline mutasyonları tanımlanmıştır (Ünlü M., 2019).

### **Sporadik Kolorektal Kanser Moleküler Patogenezi**

Kolorektal karsinogenez ile farklı gen mutasyonları ilişkilendirilmiştir. Bu genlerden özellikle *APC*, *KRAS* ve *p53*'ün, KRK'de oldukça büyük bir oranda genetik değişikliğe uğradığı bildirilmiştir (Smith vd., 2002). Fearon ve Vogelstein 1990 yılında, normal kolon dokularından KRK'nin aşamalı oluşumunu açıklamak için genetik bir model tanımlamışlardır. Bu modele göre KRK oluşumunda üç aşamalı olayın gerçekleşmesi gereklidir; 1) KRK, hücre çoğalmasını veya DNA hasarlarının onarımını düzenlemede önemli işlevlere sahip genlerdeki değişikliklerin bir sonucu olarak ortaya çıkar, 2) Birden fazla gende mutasyon oluşumu gerekli, 3) Tümörün biyolojik davranışının belirlenmesinden genetik değişikliklerin sırası ve birikimi

sorumludur. Bu süreç yaklaşık 10-15 yıllık bir zamanda aşamalı olarak gerçekleşir (Hisamuddin ve Yang, 2006).

Günümüzde, KRK gelişiminde Kromozomal Kararsızlık (CIN) yolağı, Mikrosatellit Kararsızlık (MSI) yolağı ve CpG Adası Metilatör Fenotipi (CIMP) yolağı olmak üzere üç farklı moleküler yolak tanımlanmıştır. Bazı tümörler birden fazla yolağın özelliklerini sergileyebilir (Goel vd., 2003).

Sporadik karsinogenez süreci adenokarsinom poliplerde *APC* geninde somatik mutasyon oluşumu ile başlar. *APC* mutasyonları tümörögenез ve invazyonda etkili genlerin over ekspresyonuna sebep olur. Sporadik KRK'lerin %80'inde *APC*'de genetik bir değişim söz konusudur. Bu değişim kromozomal instabiliteye sebep olur ve erken adenom evresi gelişir. Sonrasında *KRAS* ve *PI3K* genindeki somatik değişimler ise MAPK yolağının aktive ederek hücre proliferasyonuna sebep olur. Bu aşamada hücreler geç adenom evresine geçiş gösterir. Bu evrede *APC* mutant adeno poliplerde *KRAS* mutant varyantları ortaya çıkar. Klonal hücrelerde son aşama olarak displazi evresinde oluşan *APC/KRAS* mutasyonuna ek olarak *TP53* ve *DCC* geninde değişimler ortaya çıkar (Ewing, Hurley, Josephides, & Millar, 2014). Bir tümör baskılayıcı gen olan *TP53*'de fonksiyon kaybı mutasyonları hücrenin kontrolsüz büyümesi ile sonuçlanır. Bu aşamalı karsinogenez uzun yıllar sonra KRK ortaya çıkmasına neden olur (Mármol, Sánchez-de-Diego, Pradilla Dieste, Cerrada, & Rodriguez Yoldi, 2017).

Sporadik KRK'lerde görülen diğer bir moleküler mekanizma *PIK3CA*'nın aktivasyon artışına neden olan mutasyonlardır. *PIK3CA* 3q26.3'te lokalizedir ve KRK olgularının %30-35'inde bu mutasyonlar gözlenir. *PIK3CA* Akt/mTOR yolağında Akt'in upstreaminde yer alır ve ATP fosforilasyonu ile Akt tirozin kinazı aktive eder. Ancak *PIK3CA*'nın sürekli aktive olmasına neden olan mutasyonlar sonucu, uyarı olmaksızın Akt aktivasyonu ve kontrolsüz hücre proliferasyonu ortaya çıkar (Tükün A, Akay Gümüş G., 2016).

### ***Kromozomal instabilite yolağı (CIN)***

KRK'deki genomik dengesizliğin en sık gözlenen sebebi kromozomal kararsızlıktır. Sporadik KRK'nin %85'inde kromozomal instabilite saptanmaktadır. Bu durum, kromozom kopya sayısındaki yapısal değişiklikler sonucu ortaya çıkar. Kolorektal karsinogenez sürecinde etkili genleri barındıran bütün kromozomların veya kromozomal bölgelerin kazanımı veya kaybı ile karakterizedir. CIN kromozom segregasyonu, telomer disfonksiyonu ve DNA hasarına yanıtta ortaya çıkan değişiklikler sonucu hücresel fonksiyonlarda görevli *APC*, *KRAS*, *TP53* ve *PI3K* gibi önemli genleri etkiler. Bunun sonucunda da kromozom sayısında bir dengesizlik



oluşturan anöploidi, kromozomal genomik amplifikasyonlar ve yüksek oranda heterozigozite kaybı (LOH) frekansı ortaya çıkar (Pino & Chung, 2010).

Kromozomal instabilite yolağında etkili olan, 7., 8q, 13q, 20. ve X kromozomlarında geniş amplifikasyonlar ve 1., 4., 5., 8p, 14q, 15q, 17p, 18., 20p ve 22q. kromozomlarda geniş delesyonlar tanımlanmıştır. Aynı zamanda, *VEGF*, *MYC*, *MET*, *LYN*, *PTEN* gibi karsinogenez sürecinde önemli olan genleri içeren bölgelerde kazançlar veya kayıplar bildirilmiştir. Ayrıca 1., 5., 8., 17. ve 18. kromozomlarda yüksek allel kaybı sıklığı gözlenebilir (%46-78). Bunlar arasında kromozom 18'de sıklıkla tüm kromozom kaybı görülürken, diğer kromozomlar ağırlıklı olarak kısmi kayıptan etkilenir. Bütün bu genomik değişikliklerin ardışık olarak meydana gelmesi, onkogenlerde ve tümör baskılayıcı genlerde mutasyonların birikimi olarak karşımıza çıkar. Tek gen değişiklikleri açısından *APC* ve *KRAS* genlerindeki varyantlar en sık gözlenenlerdir (J.-Y. Wang vd., 2006).

*KRAS*, 21 kDa'lık bir membran bağlı bir protoonkogendir. Bu genin aktivasyonuna sebep olan *KRAS* mutasyonları KRK'lerin %30-60'ında gözlenir. *KRAS*'ın, *BCL-2*, *H2AFZ*, *RAP1B*, *TBX19*, *E2F4* ve *MMP1* gibi down regüle hedef genlerin aktivasyonu yoluyla adenomdan karsinomaya geçişte önemli bir rol oynayabileceği tahmin edilmektedir. Ras-MAPKinaz sinyal yolağında yer alan *KRAS* geninde ortaya çıkan genomik değişiklik, genin GTPaz aktivitesi nedeniyle sürekli aktif formda kalmasına sebep olur. Aktive edici mutasyonların %90'dan fazlası, *KRAS* geni ekzon 2'in 12. ve 13. kodonlarında bulunur. Kodon 12'deki mutasyonlar, kodon 13'teki mutasyonlardan daha onkogenik bir fenotip gösterir; kodon 13 mutasyonlarının adenom-karsinom geçişinde daha fazla rol oynadığını düşündürürken; kodon 12 mutasyonları ise KRK tümör hücrelerinin lokal invazyon ve metastaza uğramasına yol açar. Ras yolağının aktivasyonu, hücrel büyüme, farklılaşmayı, sağ kalımı, apoptozu ve proliferasyonu gibi çoklu hücrel yolları etkiler (Brink vd., 2003).

Sporadik KRK'in %20-50'sinde 5q kromozomunun allelik kaybı bildirilmiştir. Kromozom 5'in uzun kolunda iki önemli gen bulunur; bunlar *APC* ve *MCC* genleridir. Somatik *APC* varyantları, KRK'nin %60-80'inde ve ayrıca kolorektal adenomların çoğunluğunda görülmekte olup, bu da *APC*'de ortaya çıkan varyantların KRK tümörögenез sürecinde erken bir olay olduğunu desteklemektedir. *APC*, mikrotübüllerin düzenlenmesinde görevli önemli bir tümör baskılayıcı gendir. Kanonik Wnt/ $\beta$ -katenin sinyal yolağı KRK oluşumunda etkili olan en önemli yollardan biridir. Bu yolda yer alan *APC*'nin fonksiyon kaybı için her iki allelin de kaybı gereklidir (Kolligs,



Bommer, & Göke, 2002). Fonksiyonel olmayan güdük bir proteine yol açan varyantlar, kolorektal tümör oluşumunu tetikleyen bir dizi genin düzensiz ekspresyonuna neden olur (Ewing vd., 2014).

*MCC* geni 5q21'de lokalizedir. DNA hasarına yanıtta görevli bir hücre döngüsü regülatör proteindir. Genellikle KRK'de *MCC* geninin promotör bölgesi hipermetilasyona uğrar ve genin ifadesi susturulur. *MCC*'nin *APC*'den bağımsız olarak Wnt/ $\beta$ -katenin sinyal yolunu inhibe edebileceği ileri sürülmektedir (Fukuyama vd., 2008).

Kolorektal kanserde en önemli ve etkili hücre içi sinyal yolağı Wnt/ $\beta$ -katenin sinyal yolağıdır. Bu sinyal yolağı KRK'de karsinogenez sürecinin hem başlatılması hem de ilerlemesinde etkindir. Yolağıdaki APC fonksiyon kaybı dışında, Wnt aktivasyonu,  $\beta$ -katenin varyantları, *AXIN1* ve *AXIN2*'deki varyantlar veya TCF-4 transkripsiyon faktöründe aktive edici mutasyonlar gibi moleküler mekanizmalar KRK oluşumu ve gelişiminde gözlenen değişimlerdir (Behrens, 2005).

KRK'de önemli olan genlerden biri de bir tümör baskılayıcı olarak fonksiyon gören ve 17p'de lokalize *TP53* genidir. *TP53*, hücre döngüsü kontrol noktasında, apoptoz, yaşlanma, otofaji ve hücre metabolizmasında rol oynayan bir dizi geni aktive eden, tümör baskılayıcı aktiviteye sahip bir transkripsiyon faktörüdür. Genomik stabilitenin korunmasında oldukça önemli bir genidir. Bu genin yer aldığı kromozomal bölgedeki 17p kayıpları KRK'nin %75'inde gözlenir. *TP53*'ü içeren segmental kayıpların KRK gelişimindeki aşamalı süreç içerisinde daha geç aşamalarda ortaya çıkan bir genetik değişiklik olduğu düşünülmektedir. KRK'de, 17p'nin allelik kaybı, genellikle ikinci alleldeki p53'teki mutasyonlarla ilişkilidir ve bunun adenomun karsinomaya geçişine aracılık edebileceği öngörülmektedir (Green & Kroemer, 2009).

Kromozom 18'in uzun kolu, *DCC*, *SMAD2* ve *SMAD4* gibi tümör baskılayıcı genleri içerir. KRK olgularının %50-70'inde 18q'da LOH gözlenir ve bu durum KRK evre II ve III'de kötü prognozun bir göstergesidir. *DCC*, hücre adezyonu migrasyonu ve apoptozun düzenlenmesinde rol oynar. Smad proteinleri, TGF- $\beta$  sinyal yolağında yer alan transkripsiyon faktörleridir. *SMAD4* ekspresyon kaybı, kötü prognoz ve ileri evre KRK ile ilişkilidir. Smad proteinleri, *c-myc*, *CBEA1*, *FLRF* gibi hedef genlerin transkripsiyonunu düzenler (Wei Wang vd., 2010).

### ***Mikrosatellit instabilitesi (MSI)***

Mikrosatellitler, tüm genom üzerine yayılan ve tekrarlayan özelliklerinden dolayı replikasyon sırasında hatalara yatkın olan kısa tekrar nükleotid

dizileridir. DNA yanlış eşleşme onarım (MMR) sistemi, DNA replikasyonu sırasında meydana gelen hataları tanır ve onarır. Mikrosatellitlerin kararsızlığı, MMR sisteminin bu hataları düzeltememesinin bir sonucu olarak ortaya çıkar. Mikrosatellit kararsızlığı sergileyen tümörler, sitogenetik olarak normal bir karyotip sergiler. Mikrosatellit kararsızlığının sebep olduğu tümörögenез mekanizması, somatik mutasyon veya anormal metilasyon yoluyla MMR'den sorumlu genlerin inaktivasyonunu içerir. MMR'den sorumlu genlerdeki fonksiyon kayıpları sonucunda hatanın onarılamaması, mikrosatellitlerin boyutunu değiştirir. Boyutu değişen mikrosatellitler bir genin ekzonik bölgesi içinde yer alıyorsa, genin fonksiyonunda veya ekspresyonunda değişikliğe yol açabileceğinden önemlidir. Tanımlanan MMR sistemi genleri arasında *MSH2*, *MLH1*, *MSH6*, *PMS2*, *MLH3*, *MSH3*, *PMS1* ve *Exo1* bulunur. Sporadik MSI-yüksek KRK fenotipi, genellikle *MLH1*'in hipermetilasyon yoluyla susturulmasından kaynaklanır (Al-Sohaily vd., 2012). Sporadik olguların yaklaşık %15'inin MMR genlerindeki mutasyonlardan kaynaklı olduğu ve yaş, kadın cinsiyeti ve bu tümörlerin proksimal dağılımı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Jass, 2004).

Mikrosatellit instabilitesi DNA onarım sisteminin bozulması ile hücrede mutasyon birikimine sebep olur. MSI gelişiminde %60 *MSH2* ve %30 *MLH1* mutasyonları gözlenir. *MLH3*, *MSH6*, *PMS1* ve *PMS2* genlerinde oluşan mutasyonlar da MSI patogenezinde rol oynar. Sporadik KRK'lerin %15, HNPCK'lerin %95'inde MSI gözlenir. Sporadik ya da familial KRK ayırımında MSI belirteçleri tanı koymada yardımcıdır. Günümüzde Ulusal Kanser Enstitüsü (National Cancer Institute-NCI) MSI'nin tanımlanması için beş mikrosatellit lokusunun incelenmesini önermektedir. Bu lokuslar, iki mononükleotid tekrarı olan BAT25 ve BAT26 ve üç dinükleotid tekrarı olan D5S346, D2S123 ve D17S250'den oluşur. Bu lokuslardan bir tanesinde instabilite saptanması durumunda tümör MSI-düşük(MSI-L) instabilite olarak değerlendirilir. Birden fazla lokusta instabilite saptanan tümörler ise MSI-yüksek (MSI-H) olarak tanımlanır. Lokuslarda herhangi bir instabilite saptanmadığı durumlarda stabil tümör fenotipi olarak değerlendirilir. MSI düşük fenotipli tümörler, stabil tümörler ile karşılaştırıldığında daha kötü hasta sağ kalımı ile ilişkilidir (Kohonen-Corish vd., 2005).

Sporadik KRK'de MSI-yüksek fenotipe sahip tümörler kadınlarda daha yaygındır ve ağırlıklı olarak sağ kolonda bulunurlar. MSI yüksek tümörlerin olumsuz patolojik özelliklerine rağmen, genel sağ kalımda iyi prognoz sergiler (Jass, 2004). Mikrosatellit instabilitesi-yüksek tümörler, daha az LOH gösterme eğiliminde olup *K-RAS* ve *p53*'te daha az mutasyona sahiptirler. *BRAF* V600E varyantları sıklıkla sporadik MSI-yüksek KRK'de görülür. KRK'nin %90'ında, *TGFβRII* geninde fonksiyon kaybı ve MSI gözlenir.

TGF $\beta$ -II sinyal iletimi, hücresel çoğalmayı inhibe eder ve bu nedenle gen işlevindeki değişiklikler, MSI karsinogenezinde olası mekanizmalardan biridir (Al-Sohaily et al., 2012).

*BRAF* varyantları MSI-düşük %4 ve MSI-yüksek tümörlerin % 40'ında görülür. Bunlar içerisinde V600E (Val600Glu) varyantı en yaygın gözlenen varyanttır. Sporadik KRK %10'unda V600E varyantı gözlenir ve kötü prognostiktir. Bu varyant Lynch sendromu ile sporadik KRK ayırımında kullanılır.

### *CpG adası metilasyon fenotipi (CIMP)*

Epigenetik değişiklikler, DNA dizisini değiştirmediğinden gen ekspresyonundaki veya işlevindeki değişiklikleri ifade eder. İnsanlarda epigenetik değişiklikler genellikle DNA metilasyonu veya histon modifikasyonları yoluyla meydana gelir. Gen promotör bölgesinin metilasyonu genin susturulmasıyla sonuçlanır. Bu fenomen tümör baskılayıcı genlerin fonksiyon kaybı için alternatif bir mekanizma olarak karşımıza çıkar. Kolorektal karsinogenezde yer alan *APC*, *MCC*, *MLH1*, *MGMT* gibi tümör baskılayıcı genlerin, DNA hipermetilasyonu ile susturulduğu bildirilmektedir. Bu mekanizmaya verilebilecek en bilinen örnek, sporadik MSI-yüksek KRK'de *MLH1*'in hipermetilasyon yoluyla susturulmasıdır (Wong, Hawkins, & Ward, 2007).

CIMP'de, birden fazla genin eş zamanlı hipermetilasyonu söz konusudur. KRK'de tümörler CIMP yüksek ve düşük fenotip şeklinde değerlendirilir. CIMP yüksek KRK, sporadik KRK'nin %15-20'sini oluşturur, kadınlarda ve yaşlı hastalarda daha sık görülür. Özellikle proksimal yerleşim daha yaygındır. Patolojik olarak, CIMP-yüksek tümörler genellikle kötü diferansiye, müsinöz veya taşlı halka histolojisi gösterir, MSI ve *BRAF* mutasyonu içerir (Weisenberger vd., 2006).

## **KOLOREKTAL KANSERLERDE TANI VE TEDAVİ**

İleri evre ve metastatik KRK hastalarında tedavi seçimi, tedavinin hedefleri, önceki tedavinin türü ve zamanlaması, tümörün mutasyon profili ve ilaçların farklı toksisite profillerinin dikkate alınmasına dayanır. Hastalığın tanı ve tedavisinde kullanılan kılavuzlarda spesifik rejimler, başlangıç tedavisi, ilk progresyondan sonraki terapi veya ikinci progresyondan sonraki terapi ile ilgili olup olmamalarına göre belirlenmiştir.

### *Sistemik Tedavi için Biyobelirteçler*

Kolorektal kanserlerin moleküler takibinde NCCN (National Comprehensive Cancer Network) kılavuzu kullanılmaktadır. İleri evre veya metastatik KRK (mKRK) tedavisi için hedefe yönelik tedavinin rolü giderek

daha belirgin hale geldikçe, NCCN kılavuzu biyobelirteç testine ilişkin tavsiyelerini genişletmiştir.

### ***KRAS ve NRAS Mutasyonları***

RAS/RAF/MEK/ERK'nin MAPK sinyal yolu, EGFR'nin downstreaminde yer alır. Bu yolun bileşenlerindeki mutasyonların güçlü negatif prediktif belirteçler olduğu ve terapilerin etkililiğini engellediği tespit edilmiştir. Özellikle *KRAS* ve *NRAS* ekzon 2 kodon 12-13 varyantları mutant olan vakalarda hedefe yönelik bir tirozin kinaz inhibitörü olan cetuximab/panitumumab kullanılması önerilmez. Çünkü *KRAS* veya *NRAS* genlerinin 2, 3 veya 4. ekzonlarındaki mutasyon cetuximab veya panitumumab tedavisine yanıtta duyarlı değildir. Evre I, II, III anti-EGFR ajanlar etkili olmadığı için erken evrelerde RAS profili taranması önerilmez. Günümüzde rutin KRK tanı ve tedavisinde NCCN kılavuzuna göre bütün metastatik KRK (mKRK) hastalarında *KRAS* ve *NRAS* mutasyonlarının taranması önerilmektedir (Amado RG, vd., 2008; Sorich MJ, vd., 2015).

### ***BRAF V600E Mutasyonları***

Yüksek derecede mikrosatellit instabilitesi gösteren tümörlerin çoğunda *BRAF* mutasyonları saptanır. MSI fenotipli olgularda sporadik ve familial ayrımı yapabilmek için *BRAF* mutasyon analizi önerilmektedir. *BRAF* mutasyonları arasında üç varyant sık gözlenir; ekzon 11'de kodon 468, ekzon 15'te kodon 600 ve kodon 596 varyantları, *KRAS* ve *NRAS*'taki mutasyonlar, EGFR inhibitörlerine duyarsız olduğu için, RAS açısından wild tip içeren birçok tümörde setuksimab veya panitumumaba yanıtı öngören olası ek biyobelirteçler olarak RAS'ın downstreaminde yer alan genler üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. KRK'lerin yaklaşık %5 -9'unda, *BRAF* geninde spesifik bir mutasyon olan V600E varyantı gözlenir. *BRAF* V600E varyantının *BRAF* hedefli tedavi için güçlü bir prediktif ve prognostik belirteç olduğu kanıtlanmıştır. NCCN kılavuzu, evre IV KRK'li hastalarda tümör dokusundan (primer tümör veya metastaz) *BRAF* genotiplemesini önerir (Tol J, Nagtegaal ID, Punt CJA, 2009; Van Cutsem E. vd., 2011).

### ***HER2 Amplifikasyonu/Overekspresyonu***

*HER2*, *EGFR* ile aynı sinyal kinaz reseptörleri ailesinin bir üyesidir ve meme kanserinde hem ileri evre hem de adjuvan tedavi için hedefe yönelik tedavi stratejisi olarak başarılı olmuştur. *HER2*, KRK'de nadiren amplifiye/over eksprese edilir. KRK'li olguların yaklaşık %3'ünde görülür, ancak prevalansı RAS/*BRAF*-non mutant tümörlerde daha yüksektir (%5-14) (Sartore-Bianchi A. vd., 2016; Sartore-Bianchi A. vd., 2019). *HER2*-hedefli tedaviler, *RAS/BRAF* wild tip ve *HER2* over ekspresyonuna sahip tümörleri

olan hastalarda alternatif tedavi seçenekleri olarak önerilmektedir. NCCN kılavuzları, mKRK'li hastalar için *HER2* amplifikasyonlarının test edilmesini önermektedir. Tümörün bir *KRAS/NRAS* veya *BRAF* mutasyonuna sahip olduğu biliniyorsa *HER2* testi endike değildir. *HER2*-hedefli tedaviler üzerine araştırma çalışmaları devam etmektedir.

### ***MSI/MMR Durumu***

NCCN kılavuzuna göre yeni tanı almış bütün hastalara MSI/MMR testi yapılmalıdır. Familial ve sporadik vakaların ayırımında bu test önemlidir. MMR veya MSI testi, evre II hastalar için adjuvan tedavi kararları konusunda bilgi vermeye yardımcı olabilir. Vakaların büyük çoğunluğunda *MLH1* ekspresyon yokluğunda *BRAF* V600E mutasyonunun varlığı, Lynch sendromu (LS) tanısını dışlar. *BRAF* V600E mutasyonunun veya *MLH1* promotör metilasyonunun varlığı, sporadik kanser ile uyumludur.

Rezeke edilmiş, metastatik olmayan kolon kanseri olan hastalarda adjuvan tedavi seçenekleri hastalığın evresine bağlıdır. Evre I tanısı alan KRK hastaları ve evre II tanısı alan ve MSI-yüksek [MSI-H] olan olgularda herhangi bir adjuvan tedavi uygulanmaz. MSI durumu, evre II hastalarda adjuvan kemoterapi kullanılıp kullanılmayacağına karar verirken dikkate alınması gereken önemli bir bilgidir. Lynch sendromlu bireyleri belirlemek, metastatik KRK hastalarında immünoterapi kullanımını belirlemek ve evre II hastalar için tedavi seçeneğini karar vermek üzere kişisel kolon veya rektum kanseri öyküsü olan tüm hastalar için MMR veya MSI testi önerilir.

### ***NTRK Füzyonları***

Nörotrofik tirozin reseptör kinaz (NTRK) füzyonları, kolorektal karsinomlarda son derece nadir gözlenen moleküler değişikliklerdir. Genel insidansı yaklaşık %0,35'tir. NTRK inhibitörleri NTRK füzyon olgularında aktivite gösterirken NTRK mutasyonlarında etkin değildir (Drilon A, vd., 2018).

### ***Tümör Mutasyon Yüklü (TMB)***

Solid tümörlerde TMB, tümör genomunun belirli bir kodlama alanı içindeki somatik kodlama mutasyonlarının toplam miktarını ölçer. Bu analiz için yeni nesil dizileme (NGS) teknikleri kullanılabilir. TMB immünoterapiye yanıt için potansiyel bir biyobelirteç olarak tanımlanmıştır. Pembrolizumab, önceki tedaviyi takiben ilerlemiş ve tatmin edici alternatif tedavi seçenekleri olmayan, rezeke edilemeyen veya metastatik, TMB-yüksek (TMB-H) solid tümörleri olan hastalar için FDA onayı almış bir hedefe yönelik ajandır (U.S. Food & Drug Administration, 2020). Kolorektal kanser popülasyonundaki

sınırlı verilere dayanarak, NCCN kılavuzu şu anda TMB biyobelirteç testini önermemektedir.

### ***Prognostik Faktörler***

Kolorektal kanserlerde klinikte kullanılan prognostik faktörler arasında, yaş, perinöral invazyon, tümörün evresi, histolojik tip, metastaz durumu, metastatik KRK'de *KRAS*, *NRAS* ve *BRAF* varyantları, MSI ve MMR profili, CEA ve CA 19-9 serum seviyesi, tümör yükü sayılabilir.

Evre II veya III KRK'li hastalarda adjuvan tedavi ile ilgili kararlara yardımcı olmak için prognostik ve prediktif bilgiler sağlama umuduyula yeni analiz yöntemleeri geliştirilmiştir.

Oncotype DX kolon kanseri analizi, düşük, orta veya yüksek nüks olasılığının prognostik bir sınıflandırıcısı olarak yedi nüks riski geninin ve beş referans geninin ekspresyon seviyesini ölçerek hastalığın prognozu hakkında bilgi sağlar (O'Connell MJ. vd., 2010).

Yeni geliştirilen moleküler testlerden bir diğeri de ColDx analizi, nüks riski yüksek olan evre II kolon kanseri olan hastaları belirlemek için 634 prob kullanan mikrodizin(mikroarray) tabanlı bir çoklu gen testidir (Kennedy RD, vd.,2011). Kanser İmmünoterapi Derneği liderliğindeki uluslararası bir çalışmada, özel bir yazılım tarafından tümör numunesinin önceden belirlenmiş bölgelerinde CD3+ ve CD8+ immün hücre yoğunluklarının yüzdelikleri olarak bildirilen bir skorum sistemi olan Immunoscore oluşturulmuştur. Böylece evre III olan hastalarda prognostik değerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada, en yüksek İmmün skora sahip hastaların en düşük nüks riskini gösterdiği bildirilmiştir (Mlecnik B, vd., 2020).

Son yıllarda KRK'li hastalarda tedaviye yanıtta, prognoz ve progresyonda ve erken tanıda likit biyopsi olarak adlandırılan non-invaziv bir yaklaşım geliştirilmiştir. Tümör hücreleri, dolaşımdaki DNA (ctDNA) ve hücre dışı vezikülleri (özellikle eksozomlar) olmak üzere iki tip hücreyi dolaşıma aktarır. Bunlardan cftDNA tümör hücreleri tarafından apoptoz, nekroz ve daha az ölçüde aktif salgılama ile kan dolaşımına bırakılır. Fragmente olmuş apoptotik tümör hücreleri, kanda ctDNA'nın en önemli kaynağıdır. Eksozomlar ise DNA RNA ve protein içeren fragmente olmamış nükleik asit parçalarıdır. ctDNA ölü tümör hücreleri içerirken eksozomlar canlı tümör hücreleri barındırır.

Ameliyat sonrası sirküler tümör DNA (ctDNA), evre I-III kolon kanserinde yüksek nüks riskinin bir belirteci olarak incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda hem ameliyattan sonra hem de adjuvan kemoterapi sonrasında

cftDNA pozitif olgularda nüks oranının negatif olgulara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Reinert T, vd., 2019). *KRAS* ile mutant dolaşımdaki tümör DNA'sının saptanmasının, hem uygun bir tedavi stratejisinin belirlenmesinde, hem de tedavi direncini değerlendirmede büyük önem taşıdığı bildirilmektedir. Bu testlerden elde edilen bilgiler, diğer risk faktörlerine göre nüks riski hakkında daha fazla bilgi verebilir, ancak bu yeni testler ile ilgili yeterli veri olmadığından rutin klinikte kullanılması henüz önerilmemektedir. Bununla birlikte kolorektal kanserlerin tedavisinde bu testler umut vaat etmektedir.

## SONUÇ

Kolorektal kanserler üzerine yapılan çok sayıdaki çalışmalar moleküler patogenezin anlaşılmasına yardımcı olmaktadır. Bu bağlamda özellikle altta yatan moleküler yolların ve ilişkili genlerdeki genetik ve epigenetik değişikliklerin aydınlatılması önem arz etmektedir. Bu sayede yeni tanı ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlanabilir. Kolorektal erken tanısında, prognozun belirlenmesinde, tedaviye yanıtın öngörülmesinde biyobelirteç olabilecek moleküllerin araştırıldığı moleküler temelli çalışmaların, tedavide bu moleküllerin etkin ve etkili bir şekilde kullanılması hedeflenmektedir. Biyobelirteçler ve tarama programlarının etkili kullanımı sayesinde semptomatik ya da asemptomatik yüksek riskli bireyler tanımlanabilir ve erken tanı şansı arttırılabilir. Ayrıca ileri evre ve metastatik olgularda geliştirilen biyobelirteçler ile alternatif tedavi stratejileri uygulanarak sağ kalım sürelerinde önemli oranda iyileşmeler sağlanabilmektedir.



## KAYNAKLAR

- Aaltonen L A, Peltomäki P, Leach F S, et al. Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. *Science*.260(5109):812–816,1993.
- ABEDINI, Paria, et al. Expression analysis of circulating plasma long noncoding RNAs in colorectal cancer: The relevance of lncRNAs ATB and CCAT1 as potential clinical hallmarks. *Journal of cellular physiology*, 2019, 234.12: 22028-22033.
- Al-Sohaily, S., Biankin, A., Leong, R., Kohonen-Corish, M., & Warusavitarne, J. Molecular pathways in colorectal cancer. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 27(9), 1423-1431, 2012.
- Amado RG, Wolf M, Peeters M, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*; 26:1626-1634, 2008.
- AYDIN, İbrahim, et al. Kolorektal kanser nedeniyle opere ettiğimiz hastaların değerlendirilmesi. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 16.2: 102-109.
- Bakanlığı, S.. KOLOREKTAL KANSER TARAMALARI DEĞERLENDİRME RAPORLARI. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, 2014.
- Behrens, J. The role of the Wnt signalling pathway in colorectal tumorigenesis. In: Portland Press Ltd., 2005.
- BRINK, Mirian, et al. K-ras oncogene mutations in sporadic colorectal cancer in The Netherlands Cohort Study. *Carcinogenesis*, 2003, 24.4: 703-710.
- Burt R, Neklason D W. Genetic testing for inherited colon cancer. *Gastroenterology*. 128(6):1696–1716, 2005.
- Butterworth, A. S., Higgins, J. P., & Pharoah, P. Relative and absolute risk of colorectal cancer for individuals with a family history: a meta-analysis. *European journal of cancer*, 42(2), 216-227, 2006.
- de la Chapelle A. Genetic predisposition to colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 2004;4(10):769–780.
- Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, et al. Efficacy of Larotrectinib in TRK Fusion-Positive Cancers in Adults and Children. *N Engl J Med* 2018; 378:731-739, 2004.
- Dunlop M G, Farrington S M, Carothers A D, et al. Cancer risk associated with germline DNA mismatch repair gene mutations. *Hum Mol Genet*;6(1):105–110, 1997.
- Green, D. R., & Kroemer, G.. Cytoplasmic functions of the tumour suppressor p53. *Nature*, 458(7242), 1127-1130, 2009.
- Fearon, E. R., & Vogelstein, B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *cell*, 61(5), 759-767, 1990.

- Fleming, M., Ravula, S., Tatishchev, S. F., & Wang, H. L. Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. *Journal of gastrointestinal oncology*, 3(3), 153, 2012.
- FUKUYAMA, Ryuichi, et al. Mutated in colorectal cancer, a putative tumor suppressor for serrated colorectal cancer, selectively represses  $\beta$ -catenin-dependent transcription. *Oncogene*, 2008, 27.46: 6044-6055.
- GOEL, Ajay, et al. Characterization of sporadic colon cancer by patterns of genomic instability. *Cancer research*, 2003, 63.7: 1608-1614.
- GRANADOS-ROMERO, Juan José, et al. Colorectal cancer: a review. *Int J Res Med Sci*, 2017, 5.11: 4667.
- Ewing, I., Hurley, J. J., Josephides, E., & Millar, A. The molecular genetics of colorectal cancer. *Frontline gastroenterology*, 5(1), 26-30, 2014.
- GUINNEY, Justin, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nature medicine*, 2015, 21.11: 1350-1356.
- Hampel H, Stephens J A, Pukkala E, et al. Cancer risk in hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: later age of onset. *Gastroenterology*;129(2):415–421, 2005.
- Hisamuddin, I. M., & Yang, V. W. Molecular genetics of colorectal cancer: an overview. *Current colorectal cancer reports*, 2(2), 53-59, 2006.
- Jass, J. R. HNPCC and sporadic MSI-H colorectal cancer: a review of the morphological similarities and differences. *Familial cancer*, 3(2), 93-100, 2004.
- Kemeny, N., Niedzwiecki, D., Shurgot, B., & Oderman, P. Prognostic variables in patients with hepatic metastases from colorectal cancer. Importance of medical assessment of liver involvement. *Cancer*, 63(4), 742-747, 1989.
- Kennedy RD, Bylesjo M, Kerr P, et al. Development and independent validation of a prognostic assay for stage II colon cancer using formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *J Clin Oncol*; 29:4620-4626, 2011.
- Kinzler K W, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell*;87(2):159–170, 1996.
- KOHONEN-CORISH, Maija RJ, et al. Low microsatellite instability is associated with poor prognosis in stage C colon cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 2005, 23.10: 2318-2324.
- Kolligs, F. T., Bommer, G., & Göke, B. Wnt/beta-catenin/tcf signaling: a critical pathway in gastrointestinal tumorigenesis. *Digestion*, 66(3), 131-144, 2002.
- KUIPERS, Ernst J., et al. Colorectal cancer. *Nature reviews. Disease primers*, 2015, 1: 15065-15065.
- Mármol, I., Sánchez-de-Diego, C., Pradilla Dieste, A., Cerrada, E., & Rodríguez Yoldi, M. J. Colorectal carcinoma: a general overview and future pers-

- pectives in colorectal cancer. *International journal of molecular sciences*, 18(1), 197, 2017.
- Mlecnik B, Bifulco C, Bindea G, et al. Multicenter International Society for Immunotherapy of Cancer Study of the Consensus Immunoscore for the Prediction of Survival and Response to Chemotherapy in Stage III Colon Cancer. *J Clin Oncol* 2020: JCO1903205.
- O'Connell MJ, Lavery I, Yothers G, et al. Relationship between tumor gene expression and recurrence in four independent studies of patients with stage II/III colon cancer treated with surgery alone or surgery plus adjuvant fluorouracil plus leucovorin. *J Clin Oncol* 2010; 28:3937-3944.
- Pino, M. S., & Chung, D. C. The chromosomal instability pathway in colon cancer. *Gastroenterology*, 138(6), 2059-2072, 2010.
- Reinert T, Henriksen TV, Christensen E, et al. Analysis of Plasma Cell-Free DNA by Ultradeep Sequencing in Patients With Stages I to III Colorectal Cancer. *JAMA Oncol* 2019; 5:1124-1131.
- Sartore-Bianchi A, Trusolino L, Martino C, et al. Dual-targeted therapy with trastuzumab and lapatinib in treatment-refractory, KRAS codon 12/13 wild-type, HER2-positive metastatic colorectal cancer (HERACLES): a proof-of-concept, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016; 17:738-746.
- Sartore-Bianchi A, Amatu A, Porcu L, et al. HER2 Positivity Predicts Unresponsiveness to EGFR-Targeted Treatment in Metastatic Colorectal Cancer. *Oncologist* 2019.
- SIEGEL, Rebecca L., et al. Colorectal cancer statistics, 2020. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2020, 70.3: 145-164.
- Sorich MJ, Wiese MD, Rowland A, et al. Extended RAS mutations and anti-EGFR monoclonal antibody survival benefit in metastatic colorectal cancer: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Oncol* 2015; 26:13-21.
- Stintzing, S., Tejpar, S., Gibbs, P., Thiebach, L., & Lenz, H.-J. Understanding the role of primary tumour localisation in colorectal cancer treatment and outcomes. *European journal of cancer*, 84, 69-80, 2017.
- The Global Cancer Observatory - GLOBOCAN, December 2020.
- Tol J, Nagtegaal ID, Punt CJA. BRAF mutation in metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 361:98-99.
- Tükün A., Akay G. G. *Kanser Genetiği*. (Ed) Dündar M. *Tıbbi Genetik ve Klinik Uygulamaları*, 2016, 561-572.
- U.S. Food & Drug Administration. Package Insert. KEYTRUDA® (pembrolizumab) injection, for intravenous use. 2020.

- Ünlü M. Kolorektal polipozis sendromları: Yeni sınıflama. Özdamar ŞO, editör. Gastrointestinal Patolojide Yenilikler. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2019. p.94-102.
- WANG, Jaw-Yuan, et al. Molecular mechanisms underlying the tumorigenesis of colorectal adenomas: correlation to activated K-ras oncogene. *Oncology reports*, 2006, 16.6: 1245-1252.
- WANG, Wei, et al. Prognostic values of chromosome 18q microsatellite alterations in stage II colonic carcinoma. *World journal of gastroenterology: WJG*, 2010, 16.47: 6026.
- WEISENBERGER, Daniel J., et al. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nature genetics*, 2006, 38.7: 787-793.
- Wong, J. J. L., Hawkins, N. J., & Ward, R. L. Colorectal cancer: a model for epigenetic tumorigenesis. *Gut*, 56(1), 140-148, 2007.
- Van Cutsem E, Kohne CH, Lang I, et al. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status. *J Clin Oncol* 2011; 29:2011-2019.



## Akciğer Kanserinde Güncel Genetik Algoritma ve Tedavi Seçenekleri

Serap Arslan<sup>1</sup>

### Özet

Kanserin moleküler özelliklerinin anlaşılmasına başlamasıyla birlikte çalışmalar hedefe yönelik tedaviler üzerine yoğunlaşmıştır. Akciğer kanseri ile ilgili yapılan hücresel ve moleküler mekanizma çalışmaları sayesinde hastalığın epidemiyolojisi, prognozu, tanı ve tedavisinde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir.

Akciğer kanseri dünyada %11,4 insidans ve %18 mortalite oranıyla en yaygın görülen kanser tiplerinden biridir. Akciğer kanseri etiyojisinde sigara, yaş, ırk, cinsiyet, meslek, hava kirliliği, radyasyon, genetik ve immünolojik faktörler de etiyojik faktörler arasında yer almaktadır. Akciğer kanseri biyolojisi, tedavisi ve prognozuna göre başlıca küçük hücreli (%15) ve küçük hücreli dışı (%85) olmak üzere iki ana sınıfa ayrılır.

Akciğer kanseri gelişiminde onkogenlerin aktivasyonu ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu en önemli genetik etkidir. Akciğer adenokarsinomlarında günümüzde kullanılan onaylı ajanlarla hedeflenebilir değişiklikler, EGFR, ALK, BRAF, RET, NTRK1-2-3, ROS1, MET, ERBB2 ve KRAS gibi genlerdeki nokta mutasyonları, in-frame delesyonlar, splice varyantları ve translokasyonları içerir.

NCCN KHDAK Paneli, metastatik KHDAK'li uygun hastalar için moleküler testler önermektedir. Klinik kılavuzlar tüm ileri evre veya metastatik akciğer adenokarsinomlarında *EGFR-ALK-ROS* panelinin klinisyen tarafından istenmesi gerektiğini vurgulamaktadır. Hedefe yönelik tedavi alan olgularda sağ kalım oranı daha uzundur. Özellikle *EGFR* E19 del, L858R mutasyonu, *ALK* ve *ROS* yeniden düzenlenmelerinde TKI karşı yanıt söz konusudur. Tedavi sonrası hastalarda direnç gelişebilir. Hedefe yönelik tedavilerde bu direnç mekanizmaları karşı terapötik ajan geliştirme üzerine birçok umut vaat eden çalışma devam etmektedir. Çalışmalardan elde edilen veriler arttıkça gelecekte kişiye özel alternatif tedavi seçenekleri de karşımıza çıkacaktır.

1 Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD, ORCID: 0000-0002-7112-5658, serkus76@gmail.com

## EPİDEMİYOLOJİ

Akciğer kanseri dünyada %11,4 insidans ve %18 mortalite oranıyla en yaygın görülen kanser tiplerinden biridir (1, 2). Tüm kanser ölümlerinin yaklaşık 1/3'ünü oluşturur. Ülkemizde yıllık insidansı erkeklerde 61,6/100.000 ve kadınlarda 5,1/100.000'dir ve yaşla birlikte insidans artışı söz konusudur (3).

Akciğer kanseri etiolojisinde sigara kullanımı en önemli etkenlerden biridir. Tanı alan hastalarda erkeklerin %85'i ve kadınların %47'sinde etioloji tütün kullanımınıdır. Ancak sigara kullanmayan olgular da söz konusudur. Dünya çapında elde edilen verilere göre olguların erkeklerin %15'i ve kadınların da %53'ü hiç tütün kullanmamış bireylerden oluştuğunu göstermektedir. Sigara kullanımı dışında yaş, ırk, cinsiyet, meslek, hava kirliliği, radyasyon, genetik ve immünolojik faktörler de etiyojik faktörler arasında yer almaktadır (4).

Akciğer adenokarsinomunda gözlenen genetik değişikliklerin sıklığı cinsiyet, yaş, sigara içme durumu ve coğrafi bölgelere göre incelenmiştir. *KRAS* mutasyonları, özellikle transversiyon tipi mutasyonlar sigara içenlerde bulunurken, *EGFR* mutasyonları (5) ve *ALK*, *ROS1* ve *RET* translokasyonları daha çok hafif veya hiç sigara içmeyenlerde bulunur. *TP53* (6), *NRAS* (7) ve *MAP2K1* (8) gibi diğer değişiklikler de sigara içenlerde daha yaygındır; *BRAF* ve *MET* hem sigara içenlerde hem de içmeyenlerde bulunur; *EGFR* değişiklikleri genç hastalarda ve kadınlarda daha sık bulunurken, *ALK*, *ROS1* ve *RET* değişiklikleri genç hastalarda daha yaygındır, ancak cinsiyet farklılığı yoktur. Ayrıca *EGFR* mutasyonunun Doğu Asya'da ve *KRAS* mutasyonunun ABD/Avrupa popülasyonlarında daha sık gözlemlendiği bildirilmiştir (9). Bununla birlikte bu epidemiyolojik ilişkilerin hastaya uygulanacak test ve tedavi seçiminde belirleyici olmaması gerektiği yönünde genel bir görüş birliği söz konusudur.

## SINIFLANDIRMA

Akciğer kanseri patolojik olarak Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2004 sınıflamasında, akciğer kanseri biyolojisi, tedavisi ve prognozuna göre başlıca küçük hücreli (KHAK) ve küçük hücreli dışı (KHDAK) olmak üzere iki ana sınıfa ayrılmaktadır. Akciğer kanseri olgularının %80-85'i KHDAK ve %15-20'ini KHAK oluşturur (10). Bu ayırım tedavinin seçilmesi ve prognozun belirlenmesi için gereklidir.

### *Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (KHAK)*

Küçük hücreli akciğer kanseri büyük oranda sigara içenlerde ortaya çıkan ve son derece kötü bir prognoza sahip olan yüksek dereceli bir nöroendokrin



karsinomdur. KHAK'li olgularda etiyolojik faktör olarak çoğunlukla sigara ilk sırada yer alır. KHAK tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %15'ini oluşturur. Hastalığın klinik seyri çok hızlı ve agresiftir. KHAK, submukozal yerleşimli nöroendokrin hücrelerden köken alır. Küçük hücreli karsinoma ve kombine küçük hücreli karsinoma olmak üzere iki alt tipi vardır. Erkeklerde görülme oranı kadınlara göre daha sıktır. Olgular sıklıkla ileri evrede ya da metastatik evrede tanı alır. Yüksek proliferasyon hızı nedeniyle erken ve yaygın metastaz sık görülür. Hastaların 2/3'de tanı anında uzak metastaz oluşumu saptanır. En yaygın metastaz bölgeleri kontralateral akciğer, beyin, karaciğer, adrenal bezler ve kemikte yerleşim gösterir. Akciğer kanseri olgularının her 10 hastadan 8'i KHDAK, 1'i ise KHAK oluşturmaktadır (11).

### ***Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri (KHDAK)***

Küçük hücreli dışı akciğer kanseri tüm olguların yaklaşık %85'ini oluşturur. Başlıca üç tipi vardır; sküamöz (yassı) hücreli kanser, adeno kanser ve büyük hücreli kanser şeklinde gözlenmektedir. Adenokarsinomlar tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %50'sini oluşturur. Büyük hücreli karsinom ise nadir görülür. Sigara içmeyenlerde ve kadınlarda en sık görülen KHDAK tipini adenokanserler oluşturur. Adenokanserler heterojen periferik kitle ile ve erken metastaz yaparak kendini gösterir. Sküamöz hücreli kanserler tipik olarak santral yerleşimli olup geç metastaz yaparlar (12). Kemoterapiye cevap vermesine rağmen teşhis sırasında genellikle ileri evrede oldukları için hastaların prognozları kötüdür (13). Bazı prognostik faktörler, KHDAK'li hastalarda sağkalımı öngörmektedir. İyi prognostik faktörler arasında, tanı anında erken evre hastalık, iyi performans durumu, anlamlı kilo kaybı olmaması (<%5) ve kadın cinsiyeti yer alır (14).

Hastaların çoğunluğu metastatik ya da ileri evre tanı almaktadır. Tüm akciğer kanseri hastalarının sadece %15'i tanıdan sonra 5 yıl ve daha fazla yaşama süresine sahip olduğu bilinmektedir. Akciğer kanserinde 5 yıllık sağ kalım oranı yaklaşık %10-15'dir (14).

## **AKCİĞER KANSERİNDE MOLEKÜLER MEKANİZMA**

Akciğer kanserlerinde onkogenik ve tümör baskılayıcı özellikte genlerin aktivasyon kazancı ya da fonksiyon kaybı sonucu tümör hücresinin lehine genetik değişimler söz konusudur. Bu değişimler genellikle tümör baskılayıcı genlerde hipermetilasyon, onkogen hipometilasyonu gibi epigenetik modifikasyonlar, DNA tamir genlerinde hatadan kaynaklı fonksiyon kaybı, hücresel sinyal yollarında yer alan *EGFR*, *ALK*, *ROS1* ve *HER2* gibi reseptör tirozin kinaz (RTK) genlerinde, *RAS*, *RAF* ve *MEK1* gibi Map Kinaz sinyal yolağı genlerinde ve *PIK3CA*, *AKT1* gibi *PI3K/Akt* sinyal yolağındaki

genlerde ortaya çıkan mutasyonlar şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Sküamöz hücreli karsinomlarda sıklıkla *PIK3CA*, *FGFR1* ve *PTEN* genlerinde değişim söz konusu iken, adenokarsinomlarda *KRAS*, *EGFR*, *ALK* ve *MET* genlerinde genetik değişiklikler görülmektedir (15).

#### ***KHAK'de Moleküller Mekanizma***

KHAK olgularının büyük çoğunluğunda hastalık gelişiminde, tümör baskılayıcı özelliğe sahip olan *TP53* ve *RB* genlerinde görülen eş zamanlı inaktivasyonun rol aldığı gösterilmiştir. Bunun dışında yapılan çalışmalarda *MYC* ve *FGFR1* geni amplifikasyonları, *PTEN* fonksiyon kaybı, *NOTCH*, *CREBBP* ve *GNAS* genlerindeki genetik değişikliklerin hastalık patogenezinde etkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca KHAK tümörlerinin yaklaşık %8'inde bir histon metiltransferaz olan *KMT2D*'nin (*MLL*) mutasyonlar sonucu inaktive olduğu saptanmıştır (11).

Lambert-Eaton miyastenik sendromu, ensefalomiyelit ve duyuşal nöropati gibi birçok nörolojik ve endokrin paraneoplastik sendrom, KHAK ile ilişkilidir. NCCN (National Comprehensive Cancer Network) KHAK Paneli, nörolojik paraneoplastik sendromdan şüpheleniliyorsa kapsamlı bir paraneoplastik antikor panelinin çalışılmasını önerir. KHAK hücreleri bazen vazopressin (antidiüretik hormon [ADH]) ve adrenokortikotropik (ACTH) içeren polipeptit hormonları üretir. Bu hormonlardan ADH, malignite hiponatremisine (uygunsuz ADH sekresyonu sendromu [SIADH]) ve ACTH ise Cushing sendromuna neden olur. KHAK'li olgularda SIADH sendromu daha sık gözlenir (16,).

#### ***KHDAK'de Moleküller Mekanizma***

Akciğer kanseri ile ilgili yapılan hücrel ve moleküler mekanizma çalışmaları sayesinde hastalığın epidemiyolojisi, prognozu, tanı ve tedavisinde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Akciğer kanserinin moleküler mekanizmasının anlaşılması için yapılan çalışmalar göstermiştir ki, farklı evrelerde ve farklı histopatolojik tiplerde rol oynayan genlerde değişiklik söz konusudur. Akciğer kanseri gelişiminde onkogenlerin aktivasyonu ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu en önemli genetik etkendir. Bu onkogen ve tümör baskılayıcı genlerde ortaya çıkan mutasyonların hastalığın prognoz ve progresyonunda farklı genetik değişimlerin birikiminin etkili olduğunu ortaya koymaktadır. KHDAK formdaki tümörler sıklıkla patolojik olarak adenokarsinom fenotipi sergiler. Olguların klinik özelliklerine göre cerrahi yaklaşım, radyoterapi ve kemoterapi gibi tedavi stratejileri uygulanır. Özellikle kemoterapi uygulanacak olgularda kişiye özel moleküler hedefe yönelik alternatif tedavi protokolleri uygulanabilmektedir.

DSÖ'nün 2021'de yenilenen akciğer kanserleri sınıflandırma kılavuzuna göre, adenokarsinomlarda gözlenen moleküler anomalilerin hastalığın etiolojisinde, patogenezi ve tanısında çok önemli bir etken olduğu vurgulanmıştır. Birçok moleküler değişiklik rapor edilmiştir ve bunlar adenokarsinomun patogenezi, ilerlemesi ve daha da önemlisi tedavisi ile ilişkilidir. Özellikle akciğer adenokarsinomuna spesifik olan onkogenik sürücü mutasyonlarına (*EGFR* ekzon 19 delesyonları ve ekzon 21 nokta mutasyonları, *EMLA-ALK* translokasyonları) özgü hedefli terapötik ajanlar tanımlanmıştır. Akciğer adenokarsinomlarında günümüzde kullanılan onaylı ajanlarla hedeflenebilir değişiklikler, *EGFR* (17-20), *ALK* (21, 22), *BRAF* (23,24), *RET* (25,26), *NTRK1-2-3* (27), *ROS1*(25,28), *MET* (29, 30), *ERBB2* (31) ve *KRAS* (32) gibi genlerdeki nokta mutasyonları, in-frame delesyonlar, splice varyantları ve translokasyonları içerir. Bu değişiklikler genellikle ileri evre hastalarda tedaviyi yönlendirmek için kullanılsa da *EGFR* hedefli tedavi kullanımı erken evre hastalara doğru genişlemektedir (33). Bunlar dışında tek başına ya da diğer mutasyonlarla birlikte *TP53*, *STK11* ve *KEAPI* genlerindeki değişimler akciğer adenokarsinomlarında bulunabilen diğer değişikliklerdir. Şu an için doğrudan bu genleri hedefleyen ajanlar söz konusu değil ancak *STK11*'in tümör ilerlemesi ve ICP'ye (immün checkpoint inhibitör) direnç ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (34, 35).

## PREDİKTİF VE PROGNOTİK BİYOBELİRTEÇLER

NCCN KHDAK Paneli, metastatik KHDAK'li uygun hastalar için moleküler testler önermektedir. Akciğer kanseri için FDA onaylı çok sayıda ajanlar ve biyobelirteçler mevcuttur. Metastatik adenokarsinom ve büyük hücreli karsinom KHDAK 'li hastalar için moleküler testler önerilir. Metastatik sküamöz hücreli karsinomlu hastalar için de moleküler test düşünülebilir (35, 36). NCCN KHDAK Paneli ayrıca, FDA onaylı bir immün biyobelirteç olan PD-L1 inhibitörü gibi immünoterapi ajanları bulunduğundan, metastatik KHDAK'li tüm hastalarda PD-L1 IHC testini önerir (37).

KHDAK için prediktif ve prognostik belirteçler olarak bazı biyobelirteçler tanımlanmıştır. Bir prediktif biyobelirteç terapötik etkinliğin göstergesidir, biyobelirteç ile hastaya uygulanan tedavi sonucu arasında bir etkileşim vardır. Bir prognostik biyobelirteç ise, alınan tedaviden bağımsız olarak hastanın hayatta kalmasının göstergesidir, çünkü biyobelirteç doğuştan gelen tümör davranışının bir göstergesidir. KHDAK Paneli, geleneksel kemoterapi rejimlerine kıyasla hedefe yönelik tedaviler veya immünoterapiler alan hastalarda genel hayatta kalmada iyileşme gösteren verilere dayanarak, hastaların hedefe yönelik tedaviler veya immünoterapiler için uygun olup

olmadığını değerlendirmek için tüm uygun hastalarda belirli moleküler ve immün biyobelirteçlerin test edilmesini önerir (38, 39).

KHDAK'te günümüzde prediktif moleküler biyobelirteçler arasında, *ALK* yeniden düzenlemelerini, *BRAF* p.V600E nokta mutasyonları, *EGFR*, *ERBB2 (HER2)*, *KRAS* ve *MET*ex14skipping mutasyonları, *RET* ve *ROS1* yeniden düzenlenmeleri, *NTRK1/2/3* gen füzyonları ve prediktif bir immün biyobelirteç olan PD-L1 ekspresyonu yer alır. Ayrıca yüksek düzeyde *MET* amplifikasyonları olan KHDAK hastaları için hedefe yönelik ajanlar mevcuttur (40, 41). Ancak, bu ajanların kullanımını destekleyecek daha az veri olduğundan henüz KHDAK için FDA onayı almamıştır.

*EGFR* ekzon 19 delesyonlarının veya ekzon 21 L858R mutasyonlarının varlığı, osimertinib gibi *EGFR* tirozin kinaz inhibitörü (*EGFR* TKI) tedavisinden elde edilen tedavi yararının öngörüsüdür. Belirli *EGFR* TKI'lerin etkinliğini gösteren verilere dayanarak, metastatik KHDAK'li uygun hastalarda yeni *EGFR* mutasyonları (*EGFR* S768I, L861Q ve G719X değişiklikleri dahil) için de moleküler testler önerilir (42, 43). Panel ayrıca, ikinci basamak tedavi seçenekleri olarak yeni ajanların etkinliğini gösteren verilere dayanarak, metastatik KHDAK'li uygun hastalarda *EGFR* ekzon 20 insersiyon mutasyonları için test yapılmasını önerir. Test uygun şekilde valide edilmişse, bu *EGFR* mutasyonlarının tümü aynı testte değerlendirilebilir. Ancak *EGFR* mutasyonlarını saptamak için hedeflenen PCR tabanlı yöntemler, *EGFR* ekzon 20 insersiyonlarını saptamada yetersiz kalabileceğinden, yeni nesil dizileme (NGS) tabanlı stratejiler tercih edilir (44, 45).

*ALK* yeniden düzenlemeleri, asalectinib, brigatinib veya lorlatinib gibi hedefe yönelik tedaviden fayda sağlamayı öngörür. *ALK* yeniden düzenlemeleri ve *EGFR* mutasyonları için test yapılması, metastatik sküamöz olmayan KHDAK veya KHDAK NOS'lu hastalar için önerilir, böylece bu sürücü mutasyonlarına sahip hastalar, *BRAF* p.V600E, *ERBB2 (HER2)* mutasyonları, *KRAS*, *MET*ex14 skipping, *NTRK1/2/3*, *RET* ve *ROS1*'in dahil olduğu hedeflenen ajanlarla etkili tedavi alabilirler (46, 47).

*KRAS* onkogeni prognostik bir biyobelirteçtir. *KRAS* mutasyonlarının varlığı, tedaviden bağımsız olarak, *KRAS* mutasyonlarının yokluğu ile karşılaştırıldığında, KHDAK'li hastalar için kötü prognostiktir. *KRAS* mutasyonları ayrıca *EGFR* TKI tedavisinden fayda sağlanmadığının bir göstergesidir (47).

Likit biyopsi (cfDNA) testi bir biyobelirteç olarak önerilmektedir. Ancak KHDAK paneli, plazma cfDNA/ctDNA DNA testinin KHDAK'in tanısı