



25. Ulusal Patoloji Kongresi
6. Sitopatoloji Kongresi
14 - 17 Ekim 2015 / Merinos AKKM - BURSA



Akciğer neoplazilerinde moleküler testler Hangi olgularda istenmeli?

Dr. Nalan Akyürek
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

KiŖiye zel kanser tedavisine yaklaŖım

- Kanserin moleküler temelinin anlaŖılması hedeflenen ajanları açığa çıkaran spesifik sürücülerin saptanmasına ve hastalığın alt sınıflandırılmasına olanak saęlamıŖtır.

Kanser tedavisinde “tek tip tedavinin” sonu



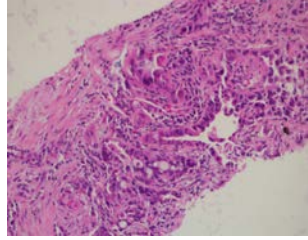
Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Onkojenik “Driver (sürücü)” Mutasyonlar

- **“Driver (sürücü)” mutasyonlar:** Somatik genlerde meydana gelen ve tümör hücrelerinin büyümesi ve sağkalımına neden olan genetik anormallikler
- **“Passenger (yolcu)” mutasyonlar:** Kanserin sürmesinde çok az rol alan moleküler değişiklikler

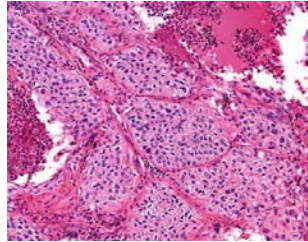
KHDAK alt tiplendirmesi

Morfolojiye dayalı tedavi

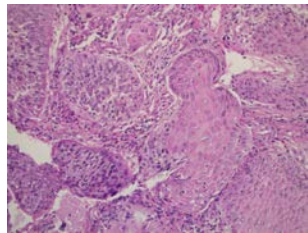
Adenokarsinom



KHDAK -
NOS

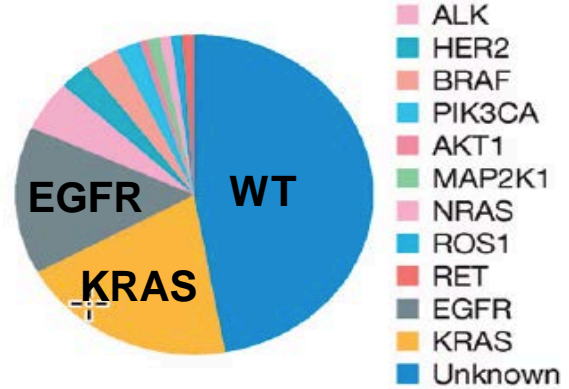


Skvamöz
hücreli
karsinom

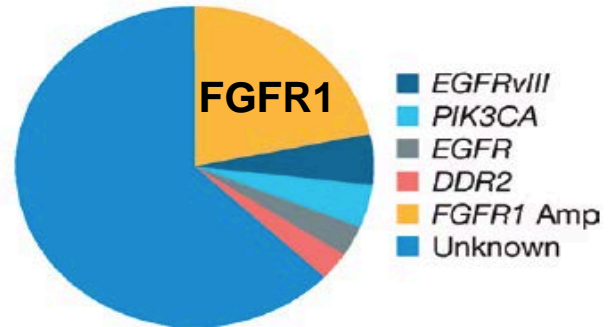


Hedef onkojenik sürücüler

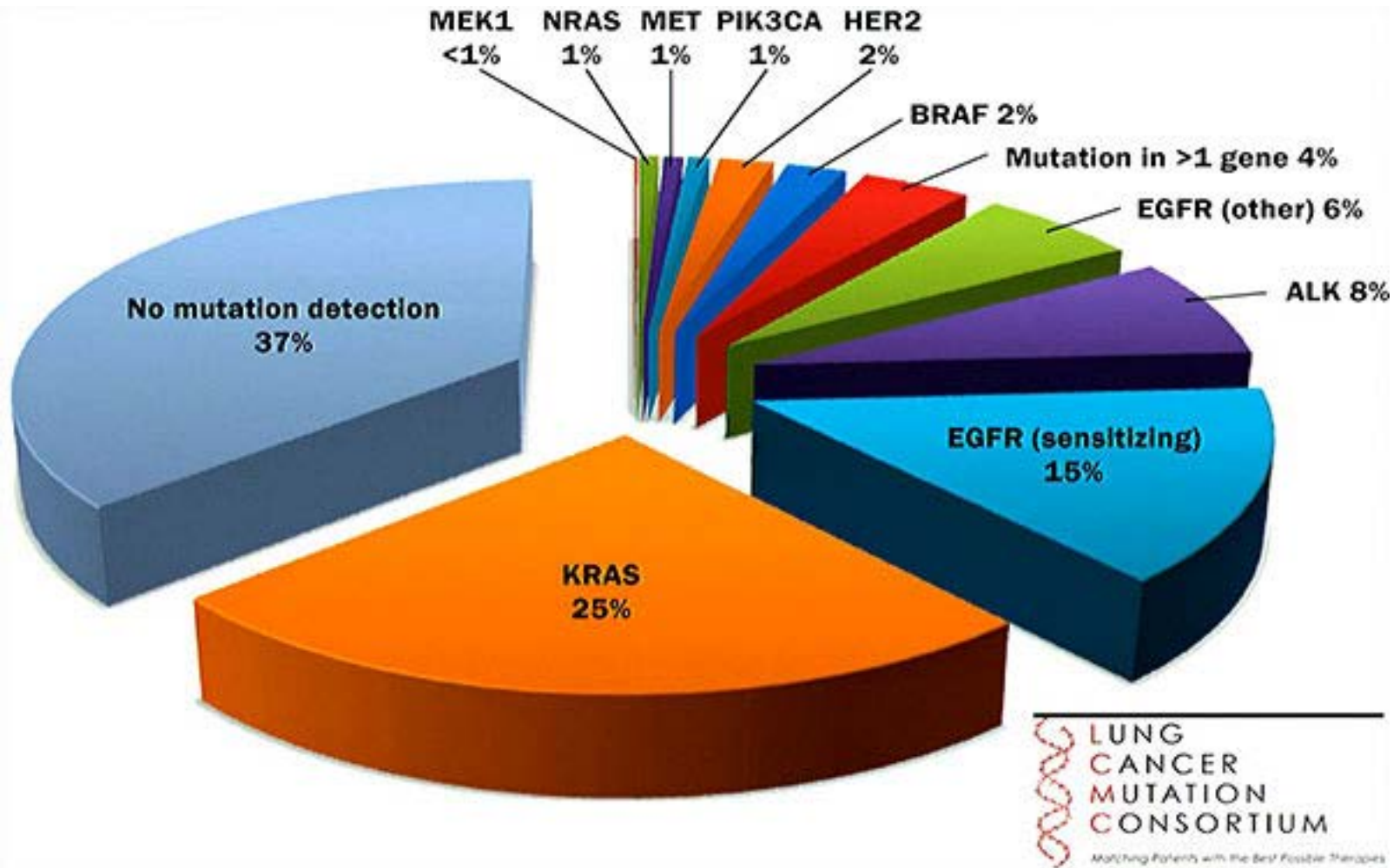
Adenocarcinoma



SCC



Adenokarsinomlarda onkojenik sürücüler



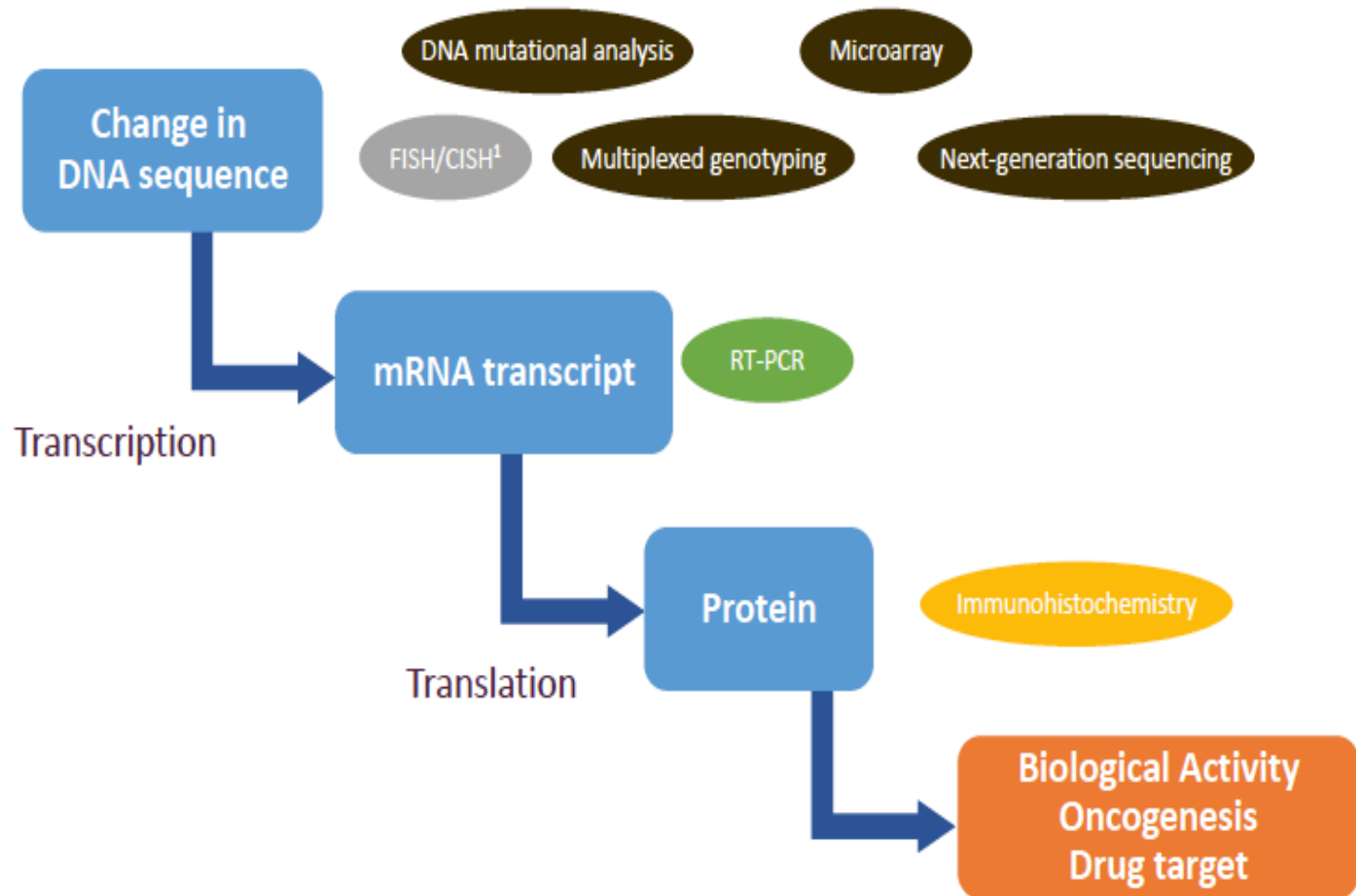
Akciğer adenokarsinomlarda moleküler hedefler

Hedef	Sıklık (%)	Tedavi ajanı
EGFR	Asians ~35-40 Caucasians ~10-20	Erlotinib, gefitinib, afatinib
ALK	5	Crizotinib
HER2	< 3	Afatinib, neratinib, dacomitinib
PIK3CA	< 5	GDC-0941, XL-147, BKM120
BRAF	< 5	Vemurafenib, GSK2118436
MEK	~1	AZD6244
ROS1	~2	Crizotinib
RET	~2	Sunitinib, sorafenib, vandetanib, cabozantinib
MET	1-11	Onartuzumab, rilotumumab, cabozantinib, tivantinib, crizotinib
FGFR1	~3	AZD4547, S49076, ponatinib, brivanib
PTEN	< 10	Vandetanib
PD-1/PD-L1	~30	Nivolumab, MPDL3280A
NaPi2b	~70	DNIB0600A (early development)

Akciğer adenokarsinomlarında terapötik hedefler

- EGFR
 - HER2
 - BRAF
 - ALK
 - ROS1
 - RET
 - MET
- Mutasyonlar
- Rearranjmanlar
- Amplifikasyon

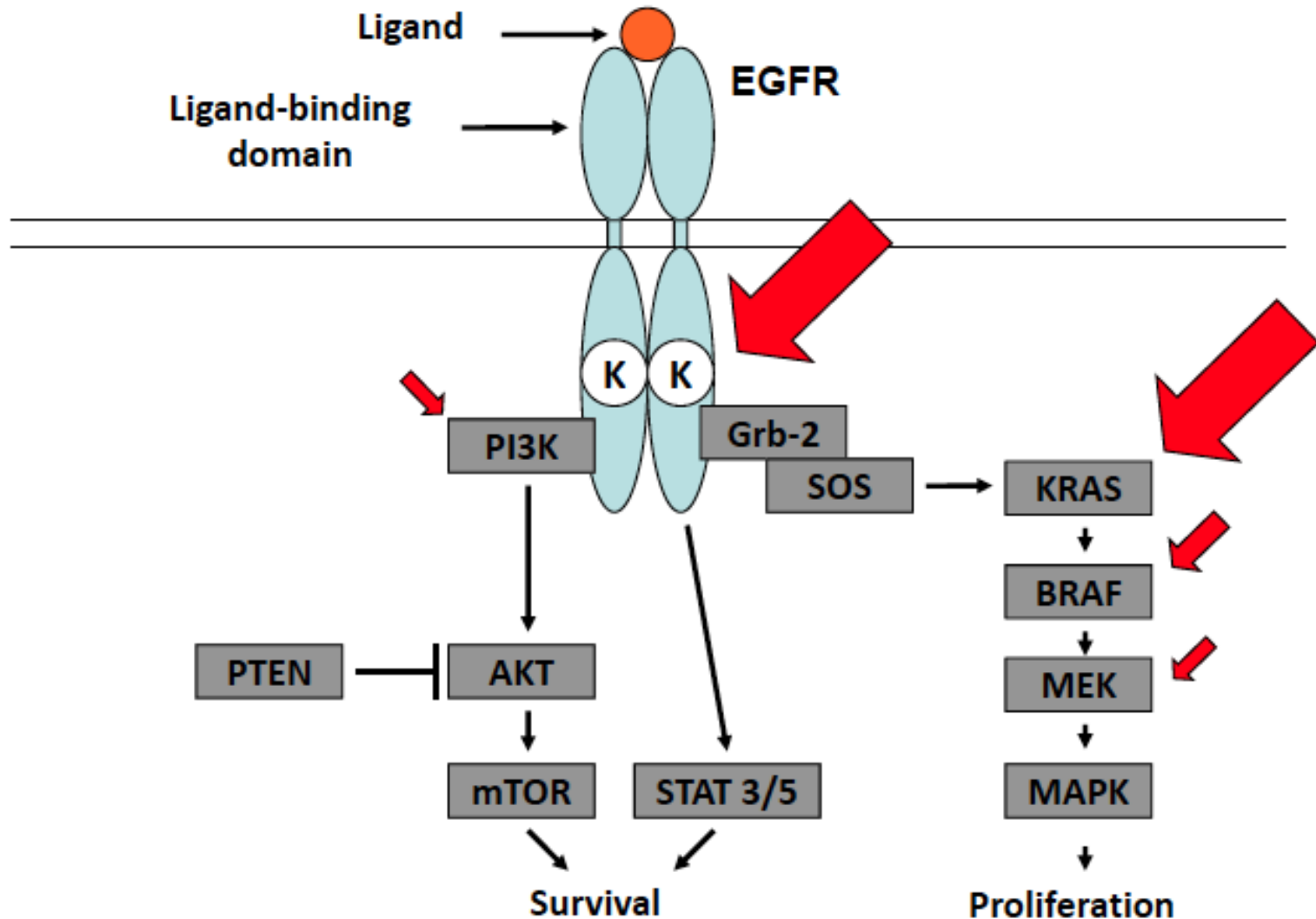
Biyobelirteç analiz metodları

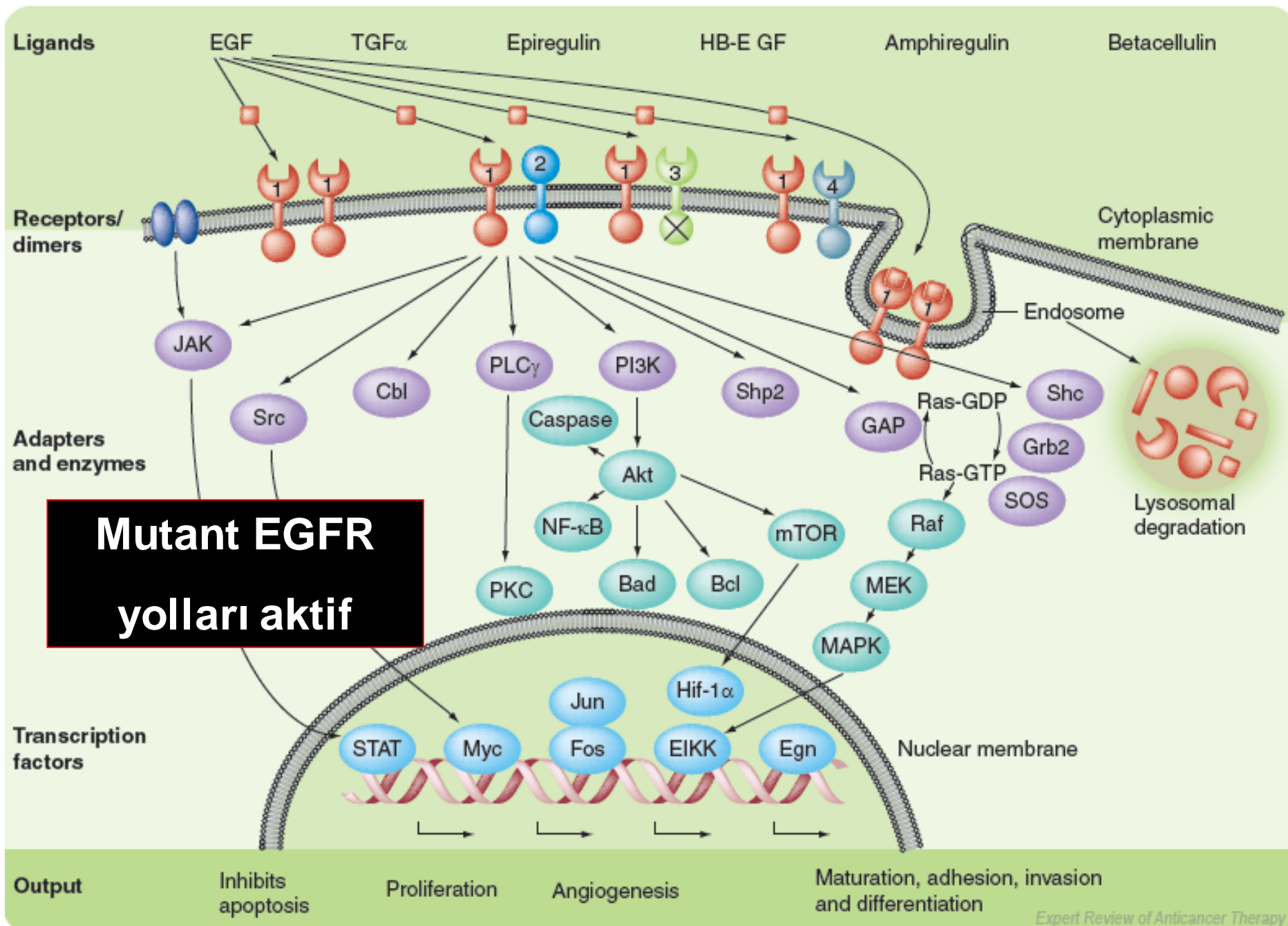


Őu an iin lkemizde “Klinik olarak onaylı” Akciğer kanseri prediktif biyobelirteleri

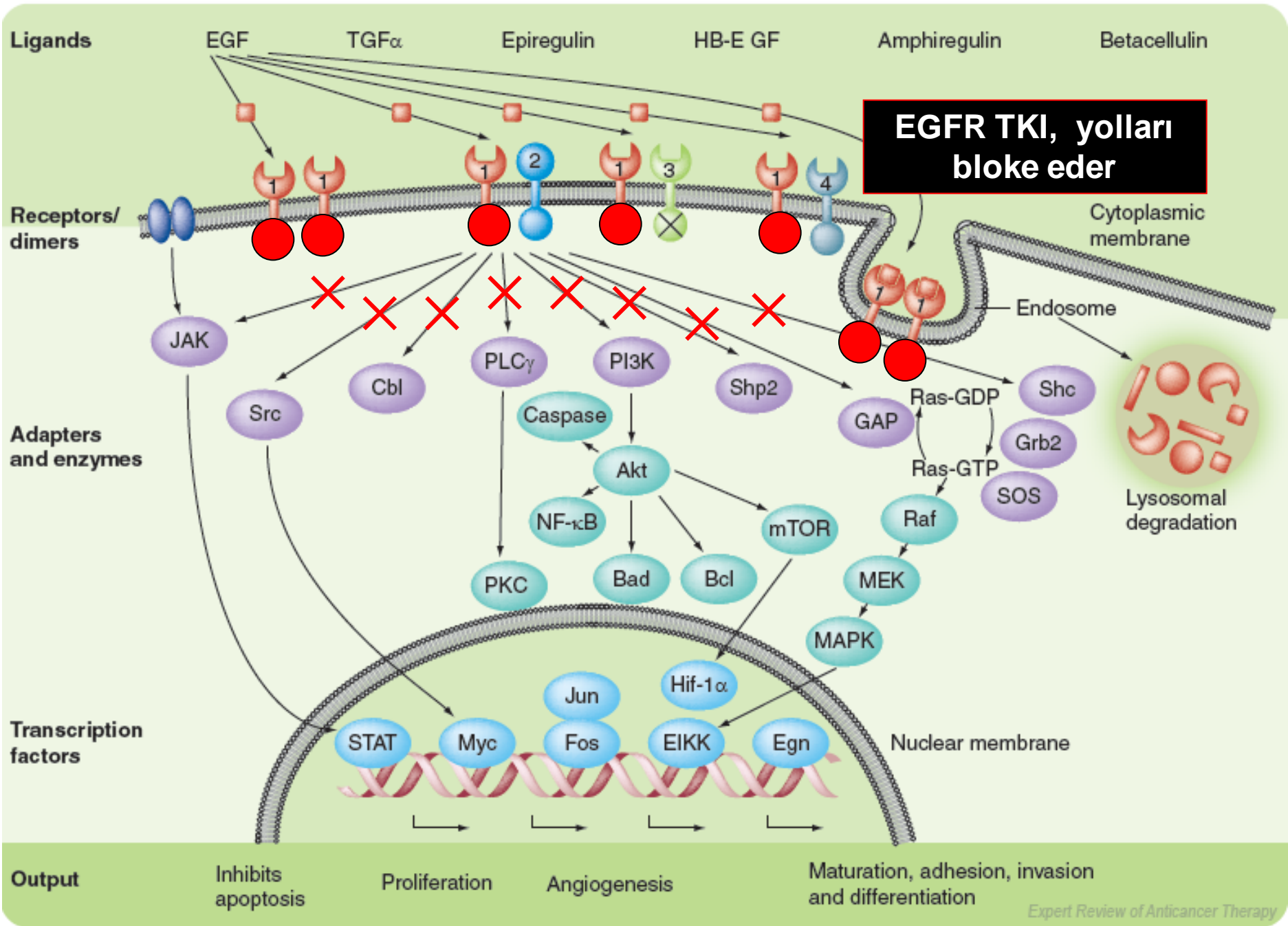
- Epidermal Growth Faktr Reseptr (EGFR) mutasyonları
- Anaplastik Lenfoma Kinaz (ALK) rearranjman genleri

Akciğer adenokarsinomunda EGFR yolunda mutasyonlar



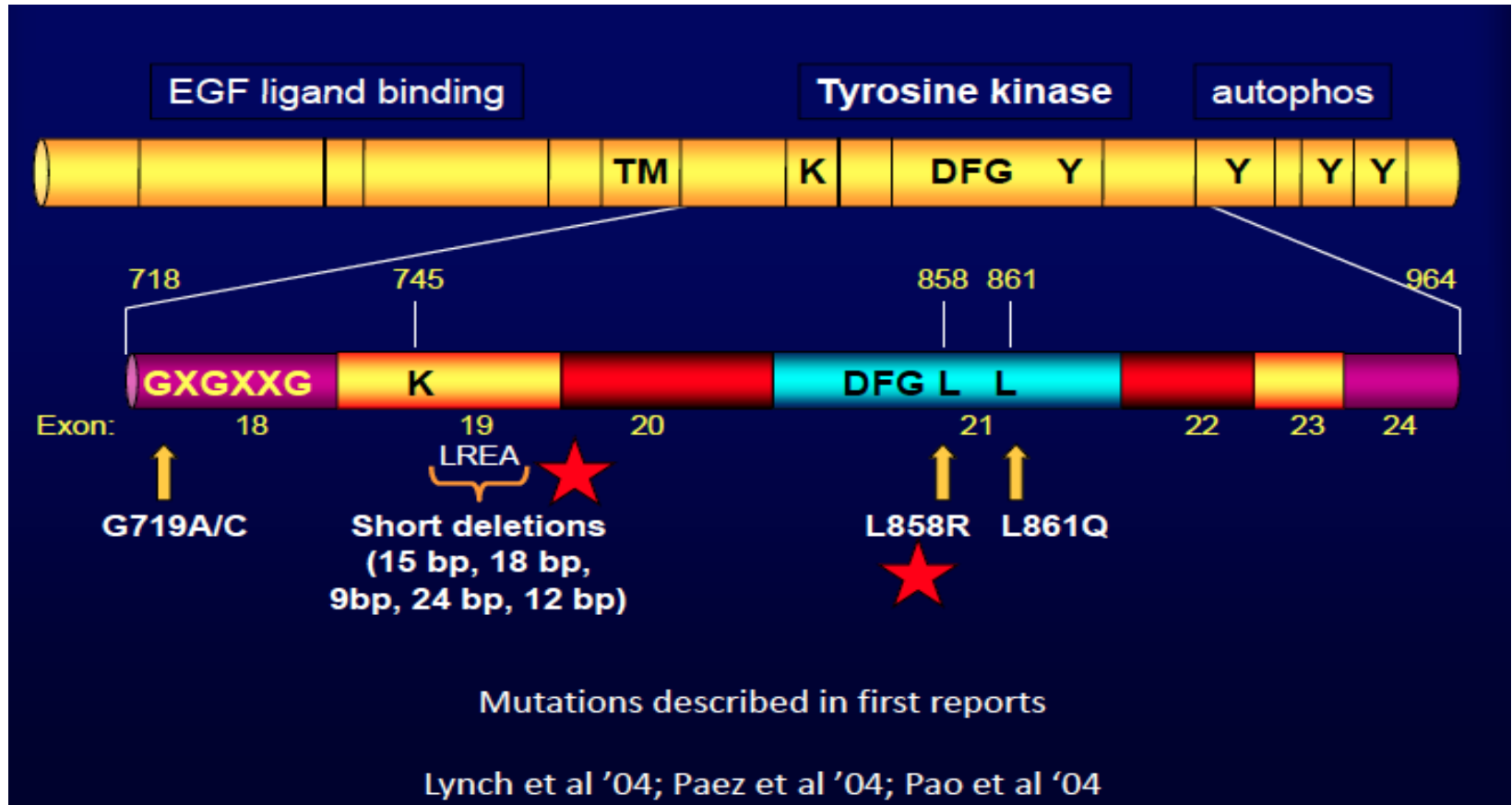


**Mutant EGFR
yolları aktif**

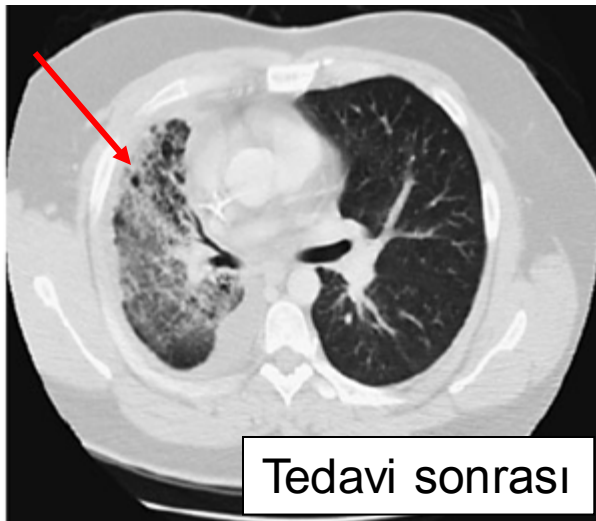
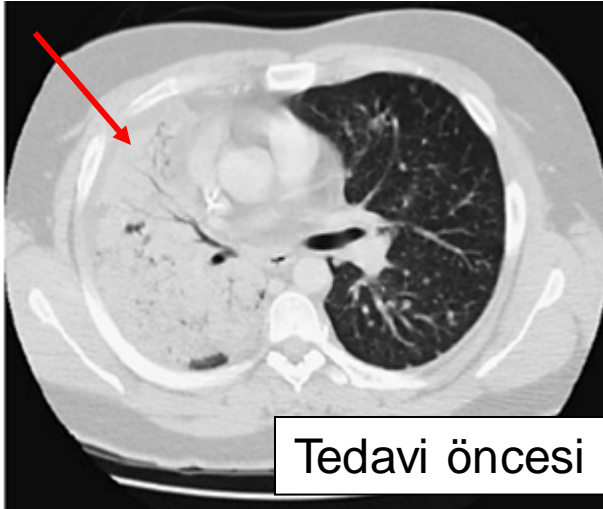


EGFR - Tirozin Kinaz İnhibitörleri (TKİ)'ne sensitif EGFR mutasyonları

- ◆ Exon 19 ve Exon 21, EGFR mutasyonlarının %85-90'ından sorumludur.



Akciğer kanserlerinde EGFR mutasyonları



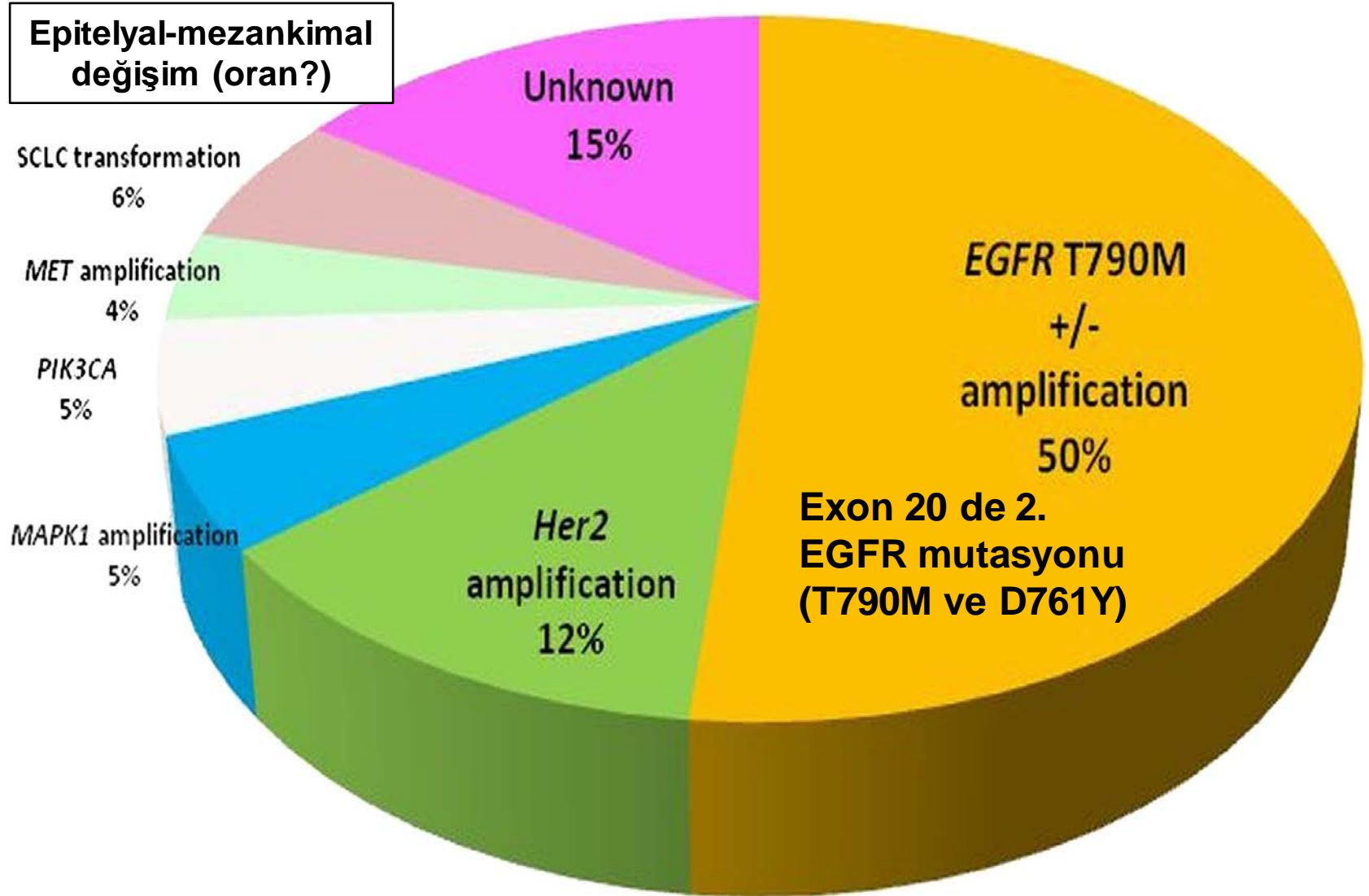
Klinik özellikler:

- Kadınlar, hiç sigara içmeyenler, Asya kökenliler

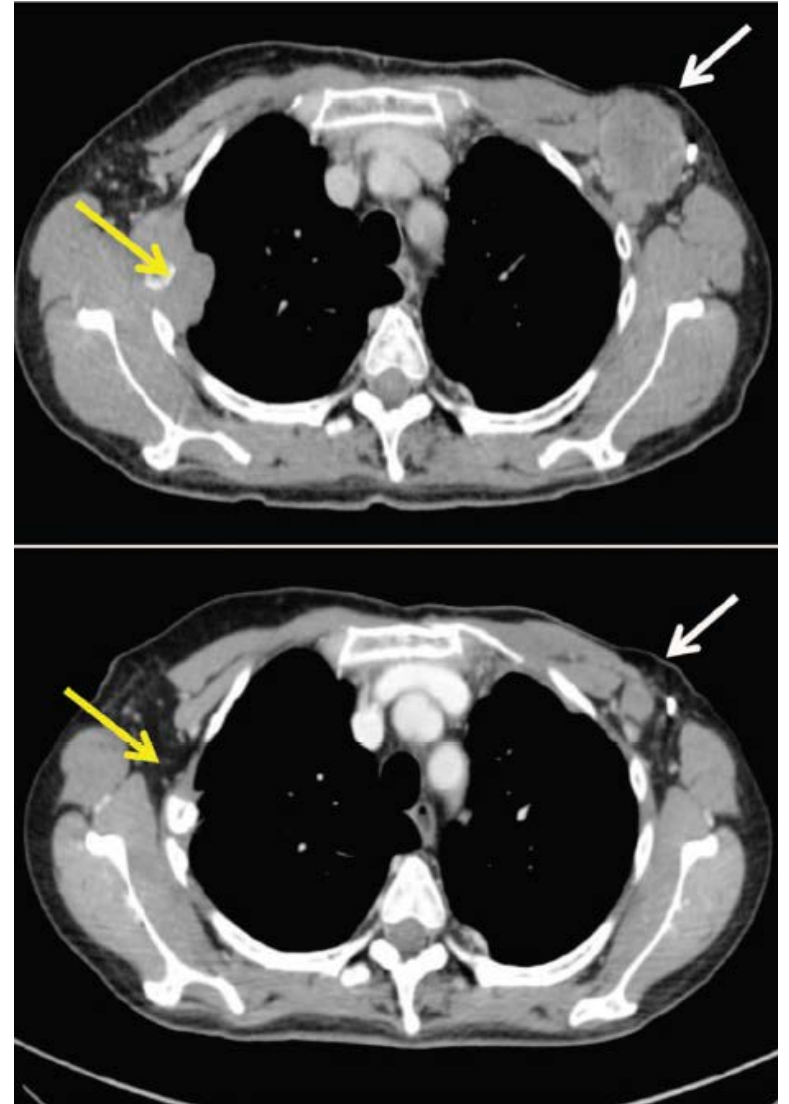
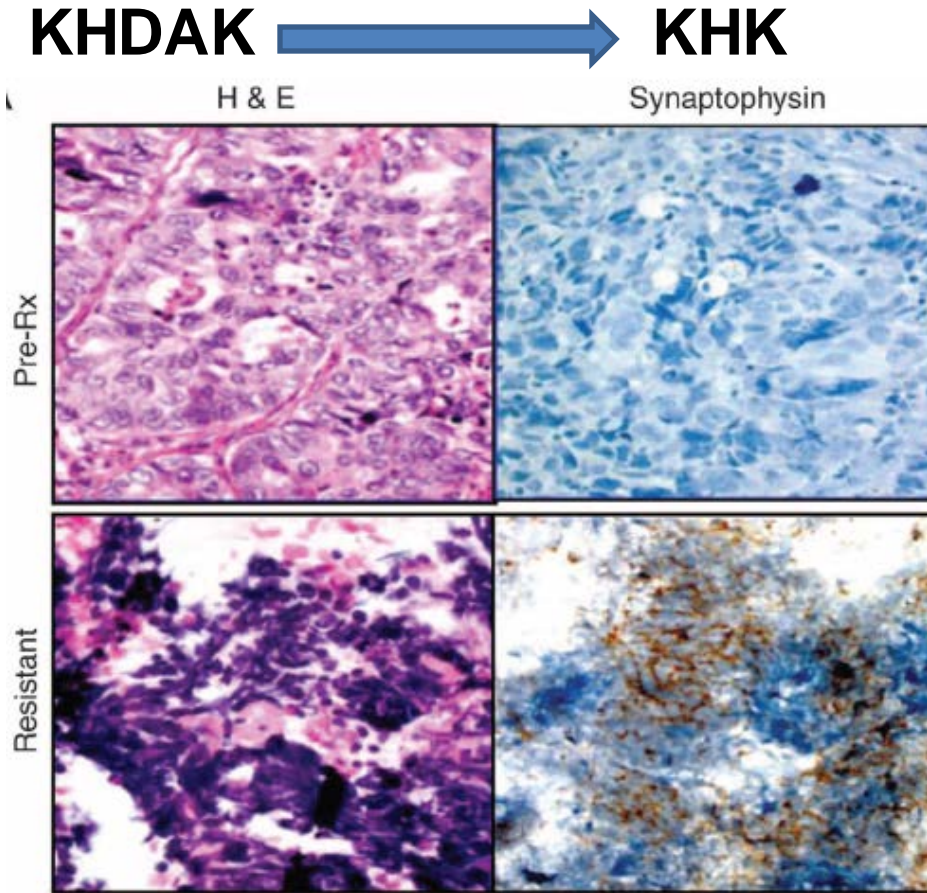
Histopatolojik özellikler:

- Lepidik, papiller, mikropapiller adenokarsinomlarda sık

EGFR - TKİ'lerine kazanılmış direnç mekanizmaları



Morfolojik transformasyon ve kazanılmış direnç



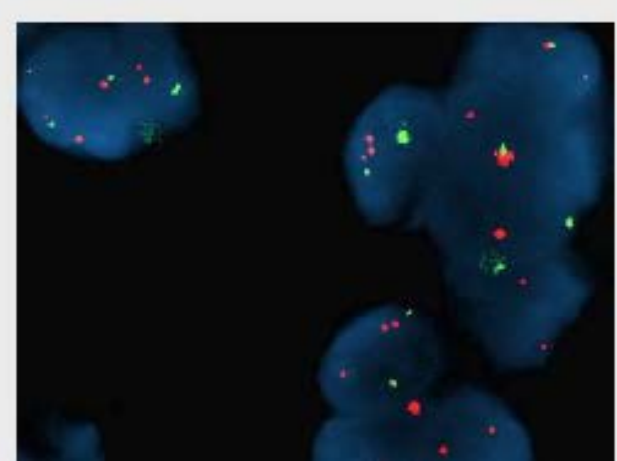
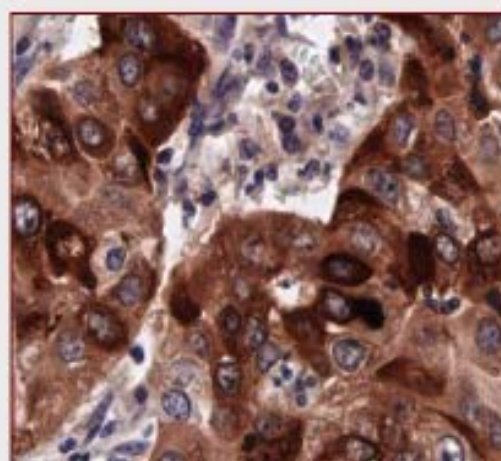
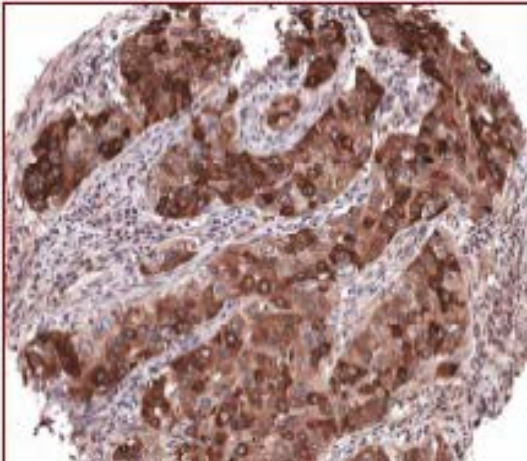
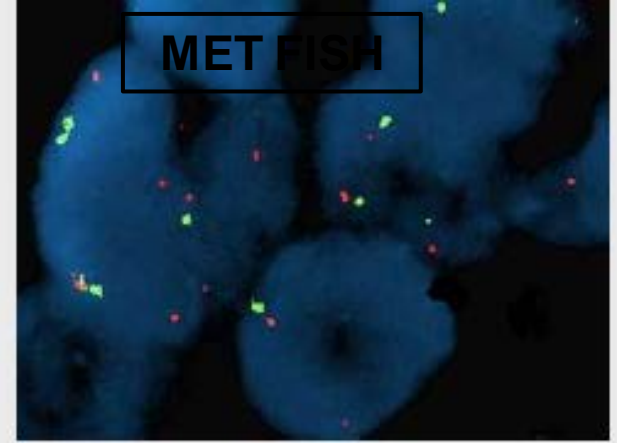
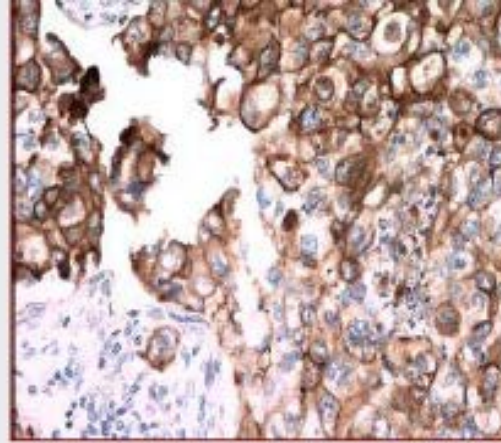
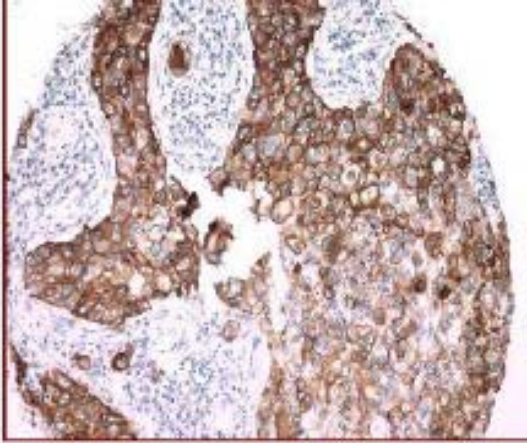
Sequist LV. Sci Transl Med 2011; 3(73).

KHDAK'larında MET artmış gen kopya sayısı ve Gefitinib tedavisine primer direnç

- Başlangıç TKİ tedavisine direnç gelişen EGFR mutasyonu olan KHDAK'larının %20'sinde saptanmaktadır.
- Primer tümöre göre, beyin metastazlarında aşırı ekspresyonu bulunmaktadır. Bu vakaların bazılarında MET kopya sayısı artmıştır.

Akciğer kanseri beyin metastazlarında MET amplifikasyonu

Primer akciğer tümörü

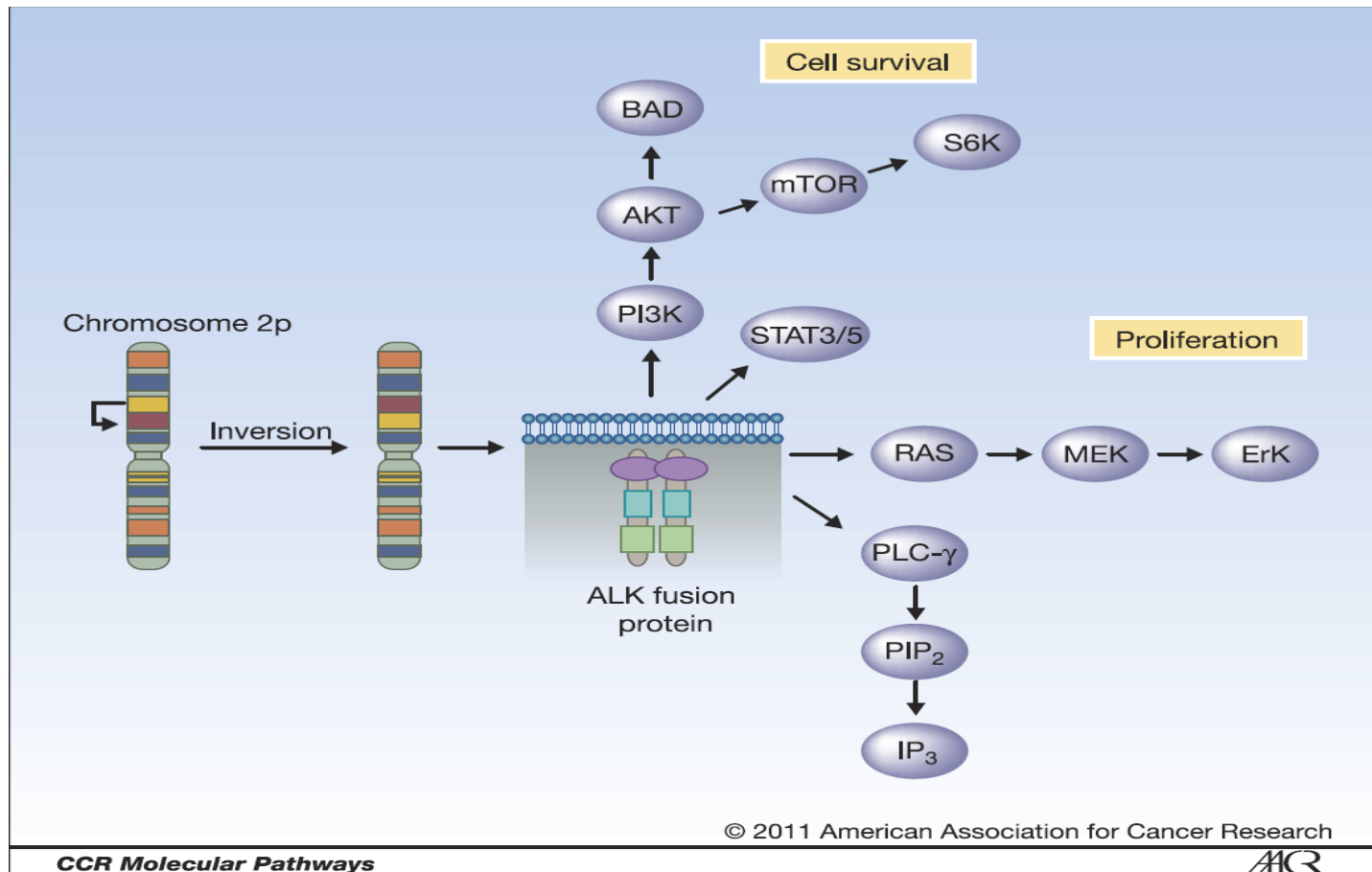


Beyin metastazı

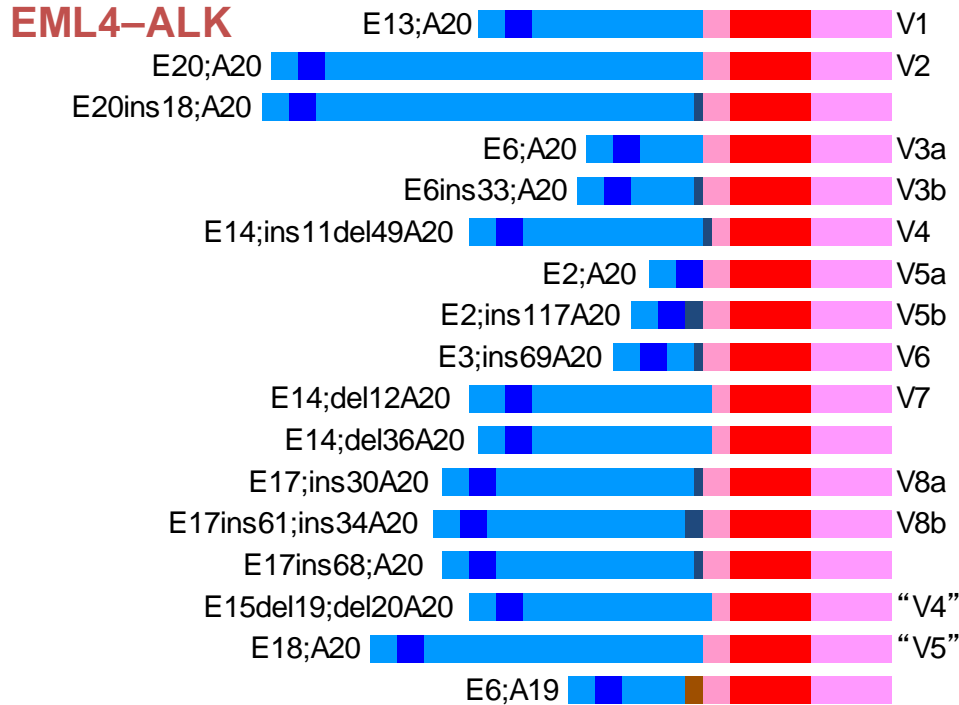
Akciğer kanserlerinde ALK rearranjmanı

- Hastaların yaklaşık %3-7'sinde

1. Kwak EL, et al. N Engl J Med 2010;363:1693–703
2. Blackhall FH, et al. Ann Oncol 2012;23:Suppl 9:ix73–ix94
3. Camidge R, et al. Nat Rev Clin Oncol 2012;9:268–77

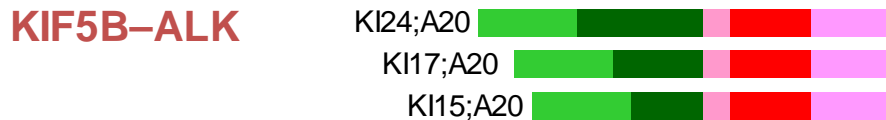


ALK füzyon varyantları



> %90 varyant 1, 2, 3

- Yaklaşık 27 farklı ALK-füzyon varyantı bildirilmiştir



Ou SH, et al.

Oncologist 2012;17:1351-75

ALK rearranmanı hangi hastalarda sık?

- **Klinik özellikler:**

- Sigara içmeyenler veya kısa süreli az miktarda sigara içenler
- Genç yaş (ortalama yaş, 51)
- Serosal membran tutulumu (malignan plevral efüzyon)

- **Histopatolojik özellikler:**

- **Solid tip, taşlı yüzük ve müsinöz kribriform paternli adenokarsinomlarda** daha yüksek olasılıkla bulunmaktadır.

ALK inhibitörlerine direnç

- ALK füzyon geninde gen kopya sayısında artış (amplifikasyon), sekonder ALK mutasyonları
- EGFR, KRAS mutasyonu
- KIT amplifikasyonu
- ALK rearranjmanı kaybı
- Sarkomatoid karsinoma transformasyon

Moleküler testler için iş akış şeması

24 saat

Biyopsi

Fiksasyon
Nötral buffer formalin

1-2 iş günü
(IHK hariç)

Parafine gömme

Histopatolojik inceleme ve tümör seçimi

DNA/RNA ekstrasyonu

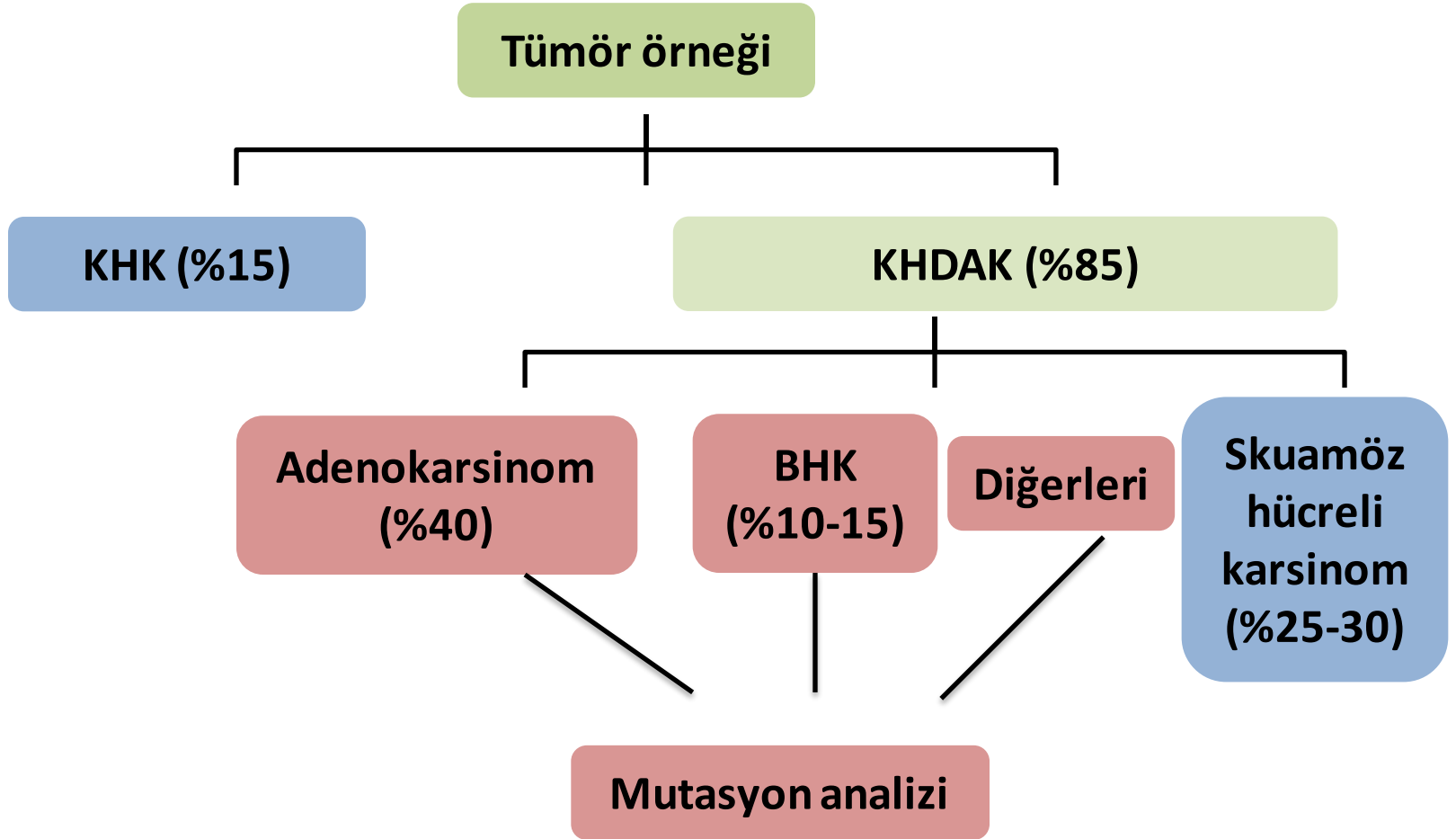
FISH testi

10 iş günü

Analiz

**Değerlendirme ve
raporlama**

Akciğer kanserlerinde tiplendirme



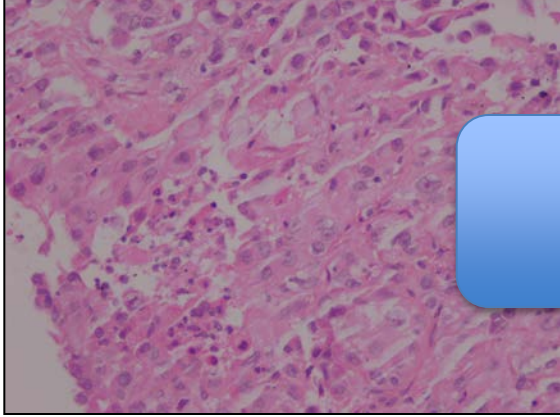
Moleküler testler için küçük doku örnekleri ve sitolojinin stratejik kullanımı

- Akciğer kanserlerinin yaklaşık %50-70'i tanı anında ileri evrede
- İleri evre metastatik AC tümör örnekleri genellikle küçük biyopsi veya sitoloji
- Vakaların çoğunda ilk örnekler incelenmeye başlandığında hastanın evresi bilinmiyor

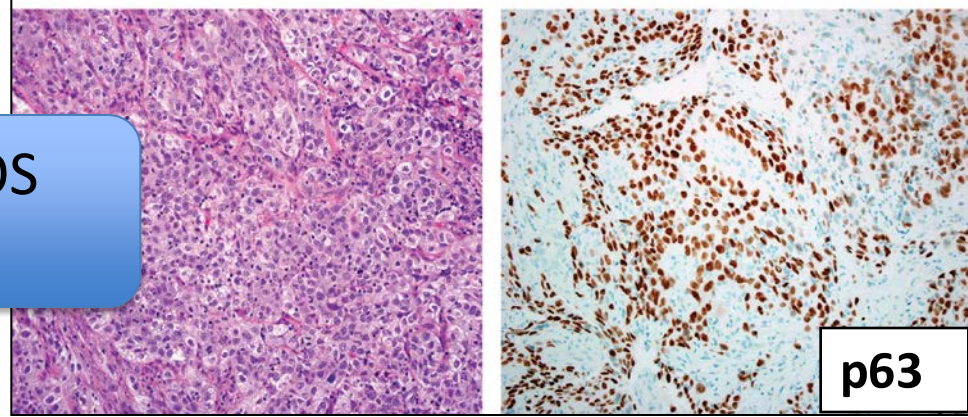
Tedavi seçiminde immünohistokimyasal çalışmalar moleküler testlerden daha az öneme sahip

- Bu nedenle materyal tanı ve ileri moleküler testler için optimum şekilde kullanılmalı
 - 1) Sınırlı tanısal İHK paneli
 - 2) Moleküler testler için materyalin yeterliliği

İmmünohistokimya KHDAK-NOS tanısını %5-10 oranına düşürür



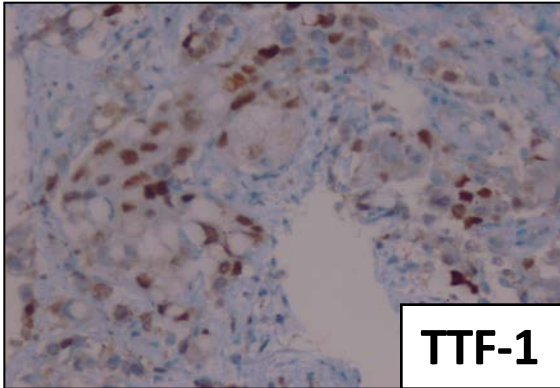
KHDAK-NOS
%25-40



p63

KHDAK – öncelikle
skuamöz hücreli karsinom
ile uyumlu

p40,
CK5/6



TTF-1

KHDAK – öncelikle
adenokarsinom ile
uyumlu

Napsin-A

Akciğer kanseri histolojik sınıflamasına dayalı moleküler testler için önerilen algoritım

Akciğer kanseri örneği



Histopatolojik inceleme



Sınırlı immünohistokimya
(adenokarsinom –
skuamöz hücreli karsinom
ayırımı)

Klinik şüphe
Hiç sigara içmemiş
Minör adenokarsinom
komponentinin
saptanması

- Dekalsifikasyon ve ağır metal içeren fiksatifler kaçınılmalı,
- Küçük örnekler için önceden boyasız kesit alınmalı

- Adenokarsinom,
- Adenoskuamöz karsinom
- KHDAK, ön planda adenokarsinom lehine
- KHDAK, NOS



EGFR mutasyon testi
ALK rearranjman testi

- Skuamöz hücreli karsinom
- KHDAK, ön planda skuamöz hücreli karsinom lehine



Mevcut hedeflerin değeri belirsiz

EGFR mutasyonu ve ALK rearranjmanı tayininde kullanılan örnekler

- Formalin fikse, paraffine gömülü doku,
- Sitoloji örnekleri (Aspirasyonlar, hücre blokları, direk yaymalar, imprintler) kullanılabilir.
 - *Bronş lavajı ve fırçalama biyopsisi genellikle yeterli değil!*
- **Sitoloji örnekleri için hücre bloğu önerilmektedir**

Örnekler

Doku alındıktan hemen sonra formole konmalı (6-24 saat fiksasyon), 48 saati aşmamalı

- **Uygun fiksatifler**

- Biyopsiler: %10 nötral-tamponlu formalin
- Sitolojik materyal: Alkol (%70 etanol)

- **Uygun olmayan fiksatifler**

- Ağır metal fiksatifler (Zenker's, B5, AZF, B+)
- Asidik solüsyonlar (Bouin's solüsyonu, kemik dekalsifikasyon solüsyonları)

Kemikteki metastatik tümörlerde mutasyon analizi dekalsifikasyon nedeniyle problem!

(EDTA dekalsifikasyon önerilmektedir)

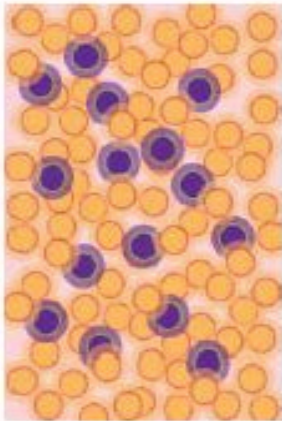
Yeterli tümör miktarı tayini

- Test için tümör miktarı/tümör hücre sayısı her laboratuvar için teyit edilmelidir
 - DNA sekanslama için: 20ng (300-400 hücre);
 - FISH testi için 50-100 viabl hücre)
- Yeterli örnek yoksa **hemen tekrar biyopsi istenmelidir.**

Örneklerin hazırlanması sırasında test hassasiyeti göz önünde bulundurulmalıdır

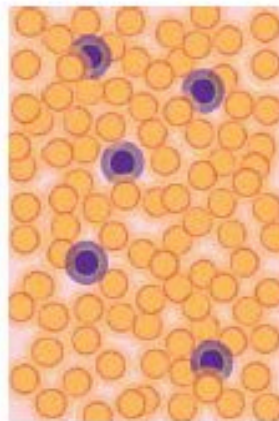
- Sensitivite (duyarlılık): Verilen bir test yöntemi ile saptanması için mevcut olması gereken mutant hücrelerin yaklaşık sayısının ölçümüdür

15%
sensitivity



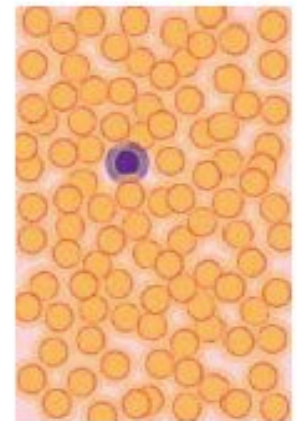
15 mutant cells in 100
non-mutant cells

5%
sensitivity



5 mutant cells in 100
non-mutant cells

1%
sensitivity



1 mutant cell in 100
non-mutant cells

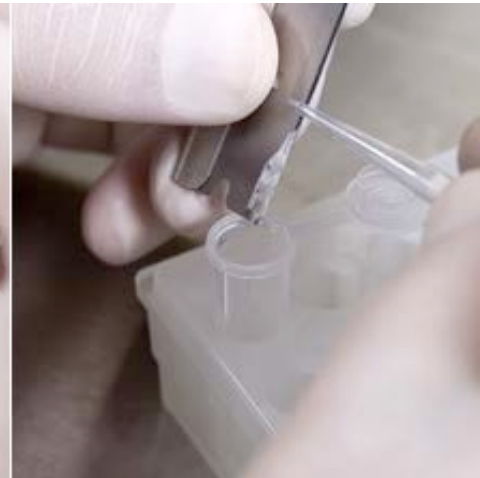
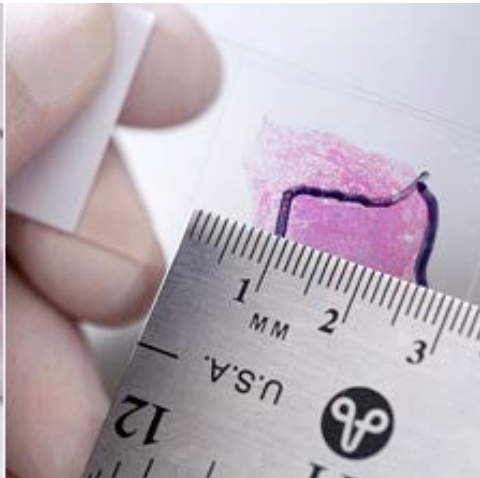
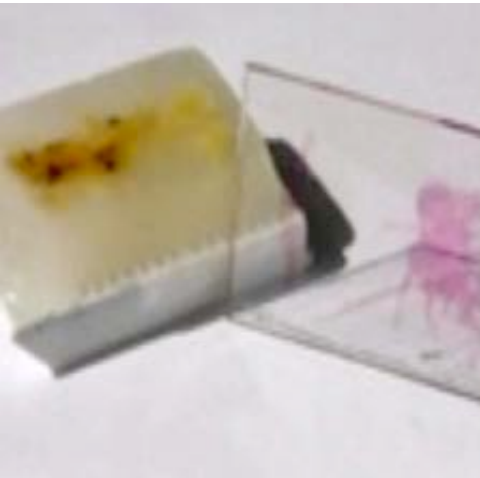
Materyal seçiminde önemli noktalar

Test duyarlılığını negatif etkileyenler

- Materyalde tümör hücre oranı %40'ın altında ise mutasyonu saptayamayabilir
- Tümör hücrelerinin en çok olduğu blok seçilmeli (%50'den fazla) ve alan işaretlenip sadece o alan çalışılmalı
- İnflamasyon ve nekrotik alanlar olmamalı

Makrodiseksiyon

- Parafin blokta viabl tümör %50-80'den az ise makrodiseksiyon ile normal doku ve nekroz alanları uzaklaştırılır.
- Makrodiseksiyon, parafin blokta veya slayt üzerindeki boyasız kesitte yapılabilir
- Etüvde 65°C'de 1 saat yumuşatılan parafin bloktan test edilecek doku bistüri ile ayrılır



EGFR mutasyonu / ALK rearranjmanı için hasta seçimi klinik özellikler kullanılarak YAPILMAMALIDIR!

- Sıkı ilişkiye rağmen bir çok istisnalar vardır.
- Tedaviden yarar sağlayacak önemli sayıda hastayı dışlamaktadır.

Lokal progresyon ve metastaz boyunca tümörlerin moleküler gelişimi nedeniyle; progresyonun her evresinde ve tedavi direncinde yeni örnekler ile moleküler test yapılmalıdır.

- Primer vs. metastaz
 - Başlangıç TKİ cevabından sonra metastaz çıkmışsa, metastaz da test edilir.
- Multipl primerler
 - Eğer histolojiler farklı ise tümü test edilir,
- Bir tümörün çok sayıda alanında test yapılması gereksizdir.

Tekrar biyopsilerde gereksiz tanısal İHK yapılmasından kaçınılmalı ve direk moleküler test için gönderilmeli

EGFR mutasyon ve ALK rearranjman testleri için endikasyon tanılar ve hücre tipleri

Rezeksiyon veya eksizyon materyallerinde:

- Adenokarsinomlar ve adenokarsinom komponenti olan tümörler
- Adenoskuamöz karsinom, büyük hücreli karsinom, sarkomatöz karsinom

Küçük biyopsiler ve sitoloji örneklerinde:

- Adenokarsinom
- KHDAK- öncelikle adenokarsinom ile uyumlu
- KHDAK- NOS (sınıflanamayan)
- Adenoskuamöz karsinom

Hücre tipi ve prediktif biyobelirteçler

EGFR mutasyonları ve ALK rearanjmanları

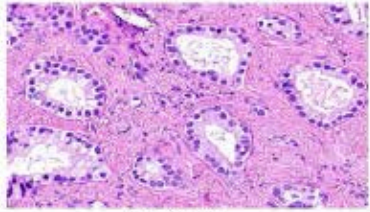
- Küçük hücreli karsinomlar
Karsinoid tümörler
Büyük hücreli nöroendokrin karsinomlarda
 - **Müsinöz adenokarsinomlarda YOK**
 - Skuamöz hücreli karsinomların %1'inden azında bildirilmiştir:
(yanlış tanı – adenoskuamöz karsinom – psödoskuamöz morfolojide adenokarsinom)
- YOK

Sonuç olarak, tüm non-skuamöz tümörlere (özellikle evre III ve IV)

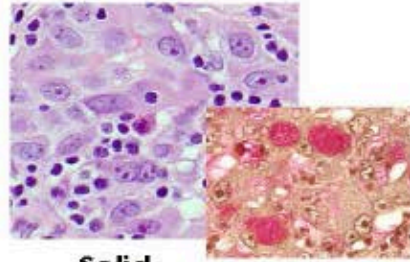
EGFR ve ALK testi yapılmalıdır.

- Mikst olabilir (adenoskuamöz, adeno/küçük hücreli)
- Az differansiye tümörler (büyük hücreli karsinomlar, sarkomatoid karsinomlar, KHDAK-NOS)
- Adenokarsinom alt tiplerinin yararlı olduğu teyit edilmemiştir.

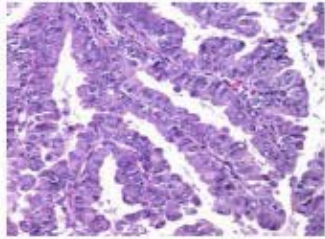
Morfoloji genetik ,anormalliğin yapısına dair ipuçları sağlayabilir



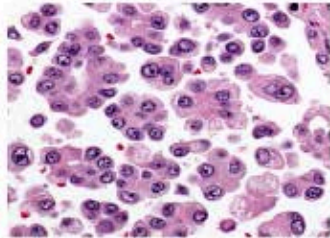
Acinar



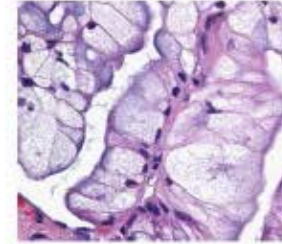
Solid



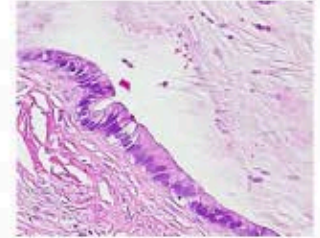
Papillary



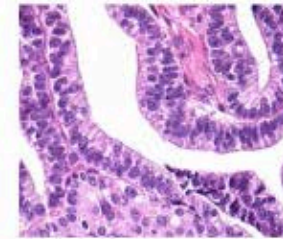
Micropapillary



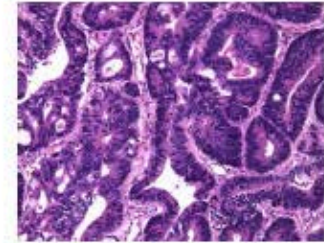
Mucinous



Colloid



Fetal



Enteric

Lepidic pattern	EGFR mutations
Papillary pattern	BRAF mutations
Signet- ring cells	ALK translocations
Extracellular mucin	KRAS mutations

Yatabe Y et al. *Am J Surg Pathol* 2005; 29:633-639
Yousem SA et al. *Am J Surg Pathol* 2008; 32:1317-1321
Yoshida A et al. *Am J Surg Pathol* 2011; 35:1226-1234
Travis WD et al. *J Thorac Oncol* 2011; 6: 244-285
Travis WD et al. *Arch Pathol Lab Med* 2012; 136:1-23

Ne zaman EGFR mutasyonu ve ALK gen rearranjmanı test edilmeli?

- İleri evredeki hastalar için EGFR mutasyon testi ALK rearranjman testi hemen tanı sırasında istenmelidir.
- Daha düşük evreli hastalar için tümör nüksünde/ progresyonunda da test edilebilir.
- Evre I, II, III hastalarda EGFR ve ALK testinin tanı sırasında yapılması desteklenmelidir. Ancak son karar patalog-onkolog takımına bırakılmalıdır.
- Onkolog, mutasyon testi olmadan EGFR ve ALK inhibitör tedavisini başlatmamalı,
- Hızlı cevap verilmeli
- EGFR ve ALK test sonuçları 2 hafta (10 iş günü içinde verilmelidir.)

EGFR mutasyon testi

- EGFR testi için **EGFR mutasyon analizi (sekanslama ya da PCR)** önerilmektedir.
- FISH ve İHK, EGFR testi için önerilmemektedir.
- EGFR L858R mutant spesifik rabbit antikor yeterli DNA örneği olmadığında kullanılabilir. Ancak prospektif testler gereklidir.

ALK testi

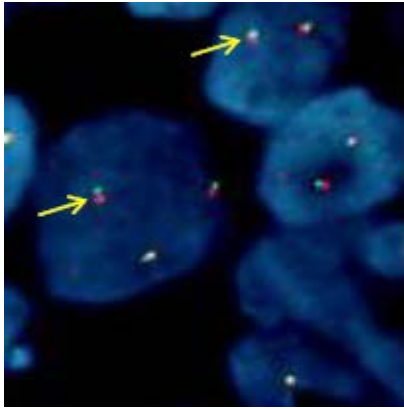
ESMO 2014

CAP/IASLC/AMP 2013

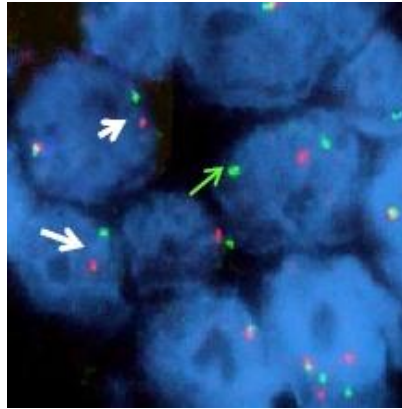
- ALK testi için dual break-apart FISH probu uygulanmalıdır.
- İmmünohistokimya, eğer dikkatlice valide edildiyse FISH yapılacak materyalin seçimi için kullanılabilir.
- RT-PCR ın FISH yöntemi yerine kullanılması önerilmez.

ALK testi

Vysis *ALK* break-apart
FISH probu

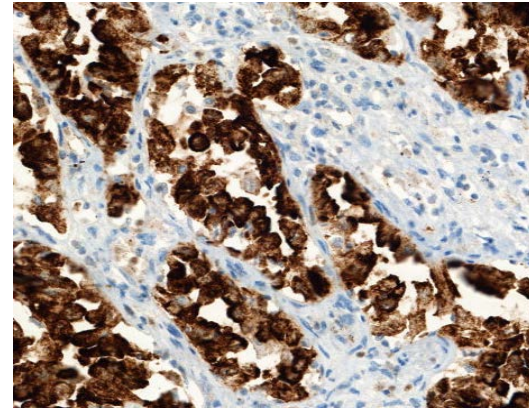


ALK rearanjmanı
negatif

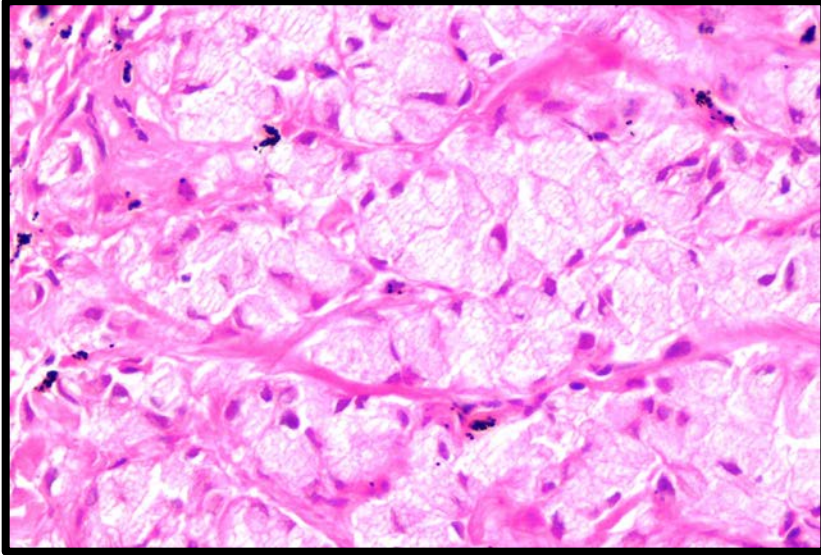
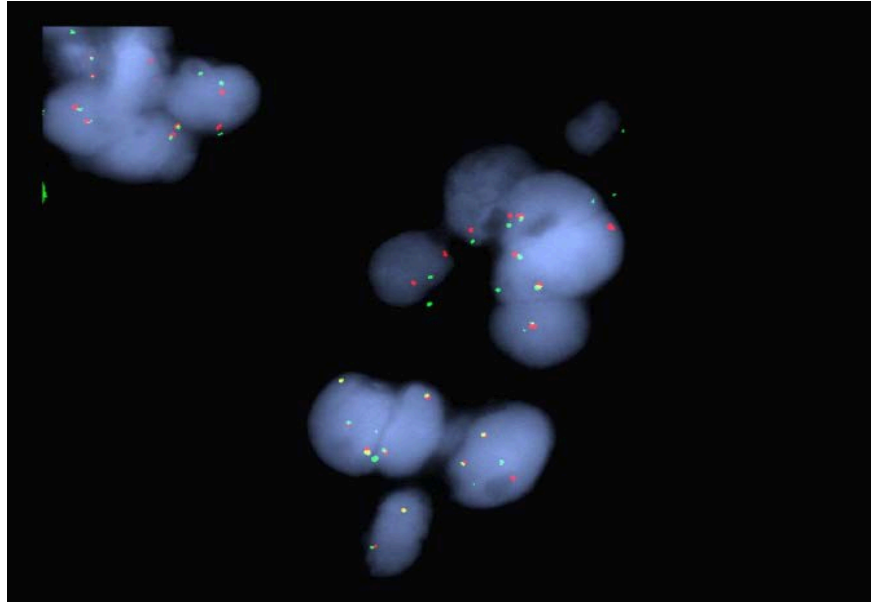


ALK rearanjmanı
pozitif

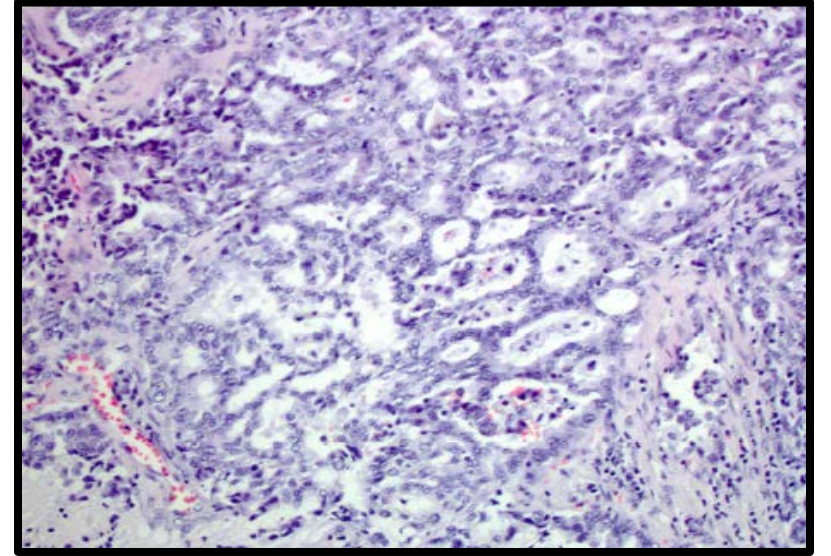
VENTANA anti-ALK (D5F3)
primer antikoru



ALK protein ekspresyonu
pozitif



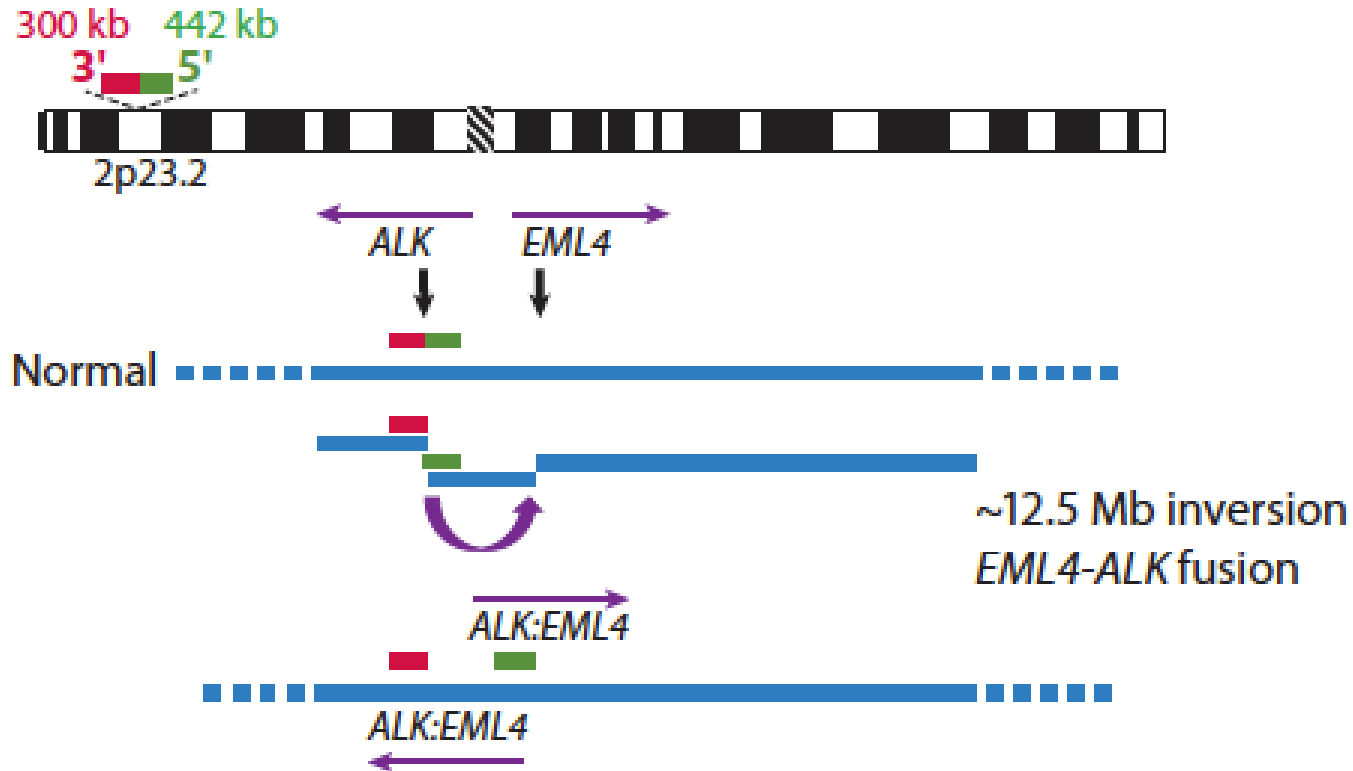
Bol miktarda taşlı yüzük hücreleri



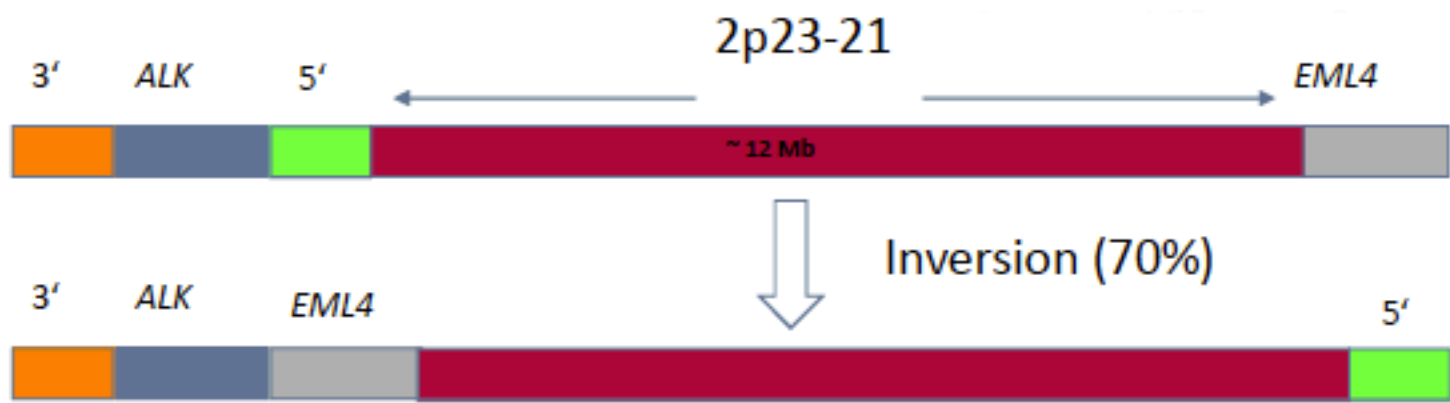
Müsinöz kribriform patern

ALK - FISH Break-apart probu (Vysis-Abbot, Kreatech, Zytovision-Zytolight)

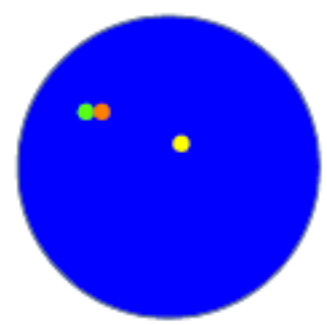
Füzyon partnerine (EML4, TGF, KIF5B) bakılmaksızın tüm rearanjmantları saptayabilir.



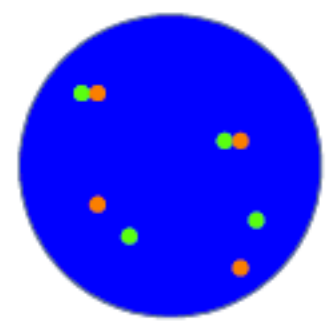
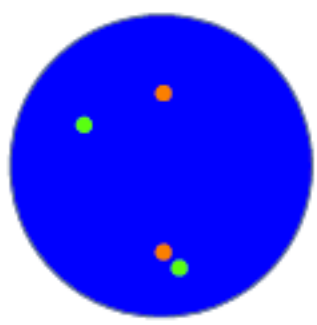
Vysis LSI ALK Break Apart FISH Probe Kit (Abbott Molecular)



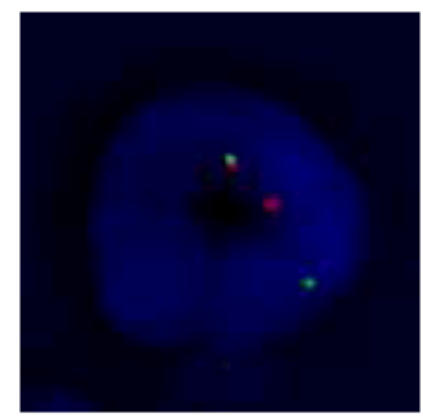
Gene Fusion



Negative



Positive (break-apart - inversion)

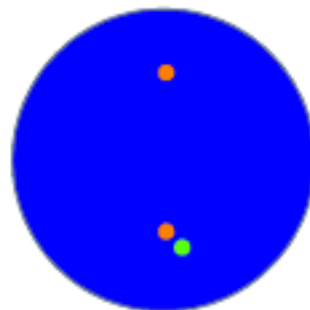




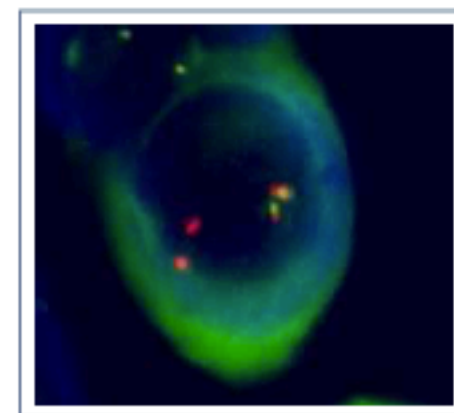
Gene Fusion



Negative



Positive (isolated red signal)



4 μm kalınlıkta, FFPE kesit

Hedef alan değerlendirilebilir durumda en az 50 hücre içermeli

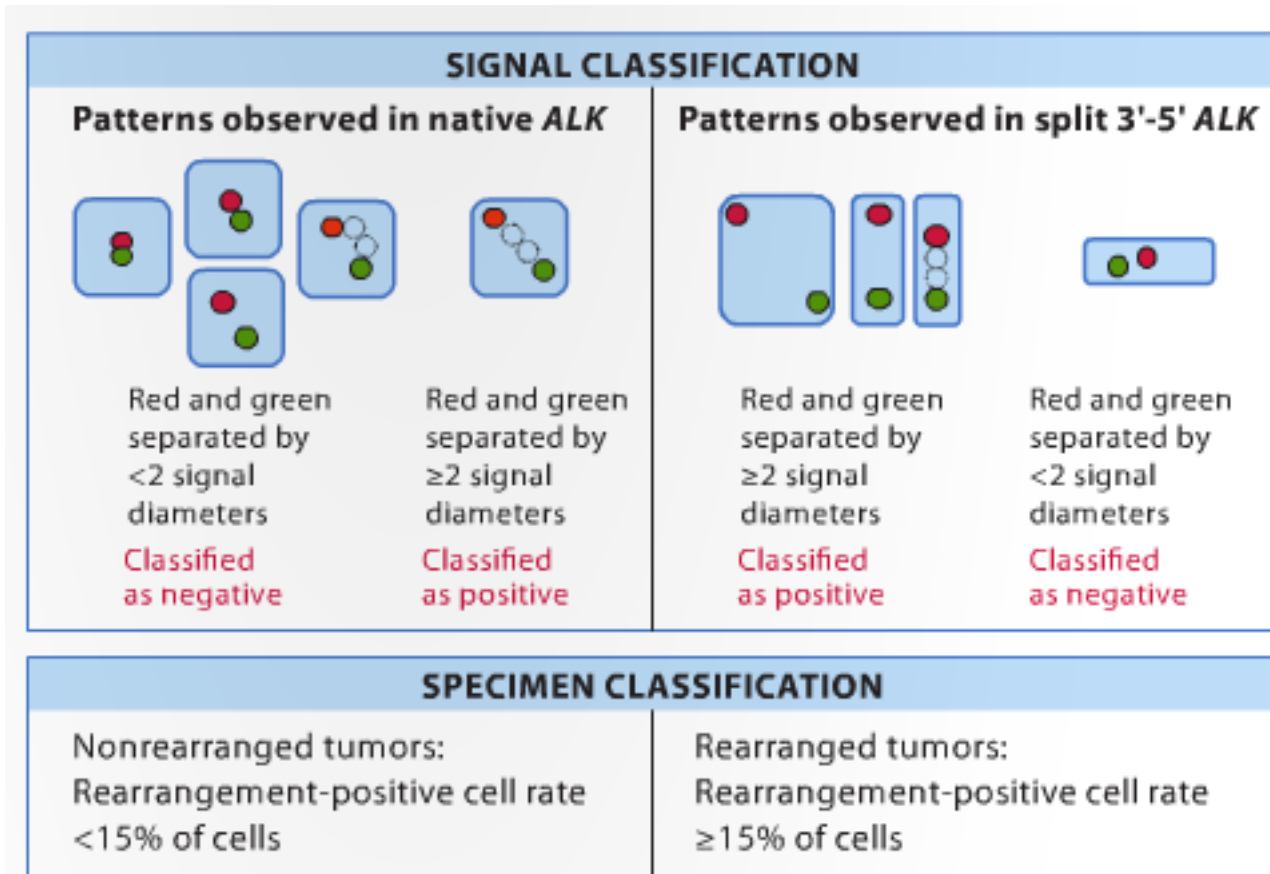
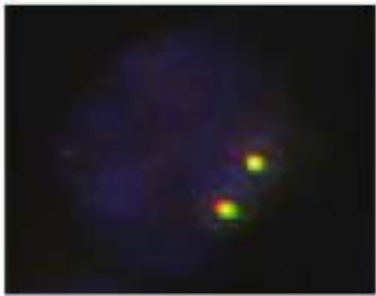
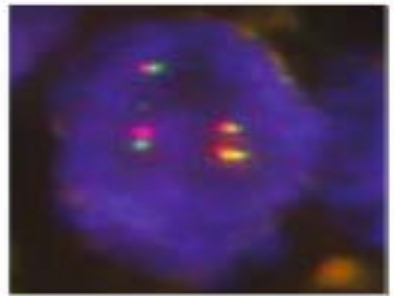
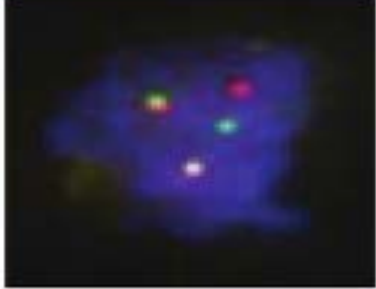
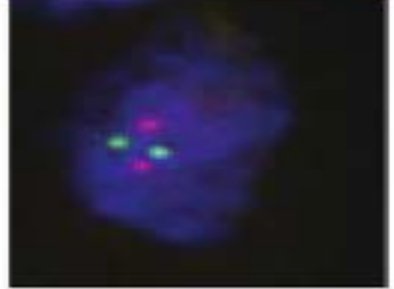
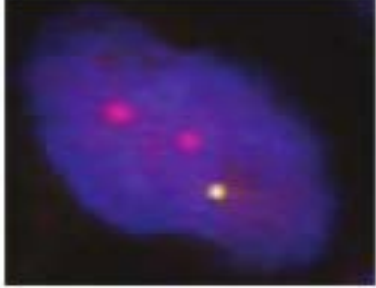
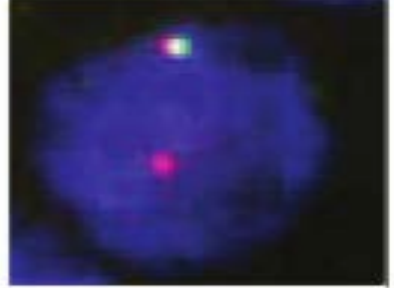
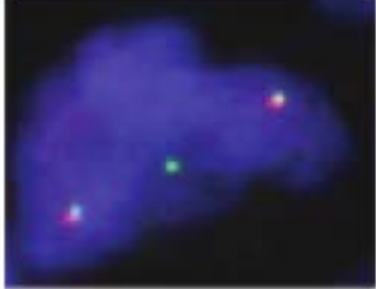
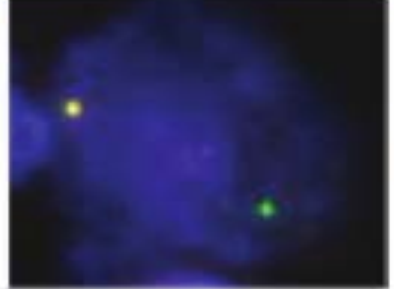


Figure 6. Signal patterns in lung tumor nuclei hybridized with ALK break-apart FISH.

<p>A. Fused</p>		
<p>B. Split</p>		
<p>C. Isolated 3' ALK</p>		
<p>D. Isolated 5' ALK</p>		

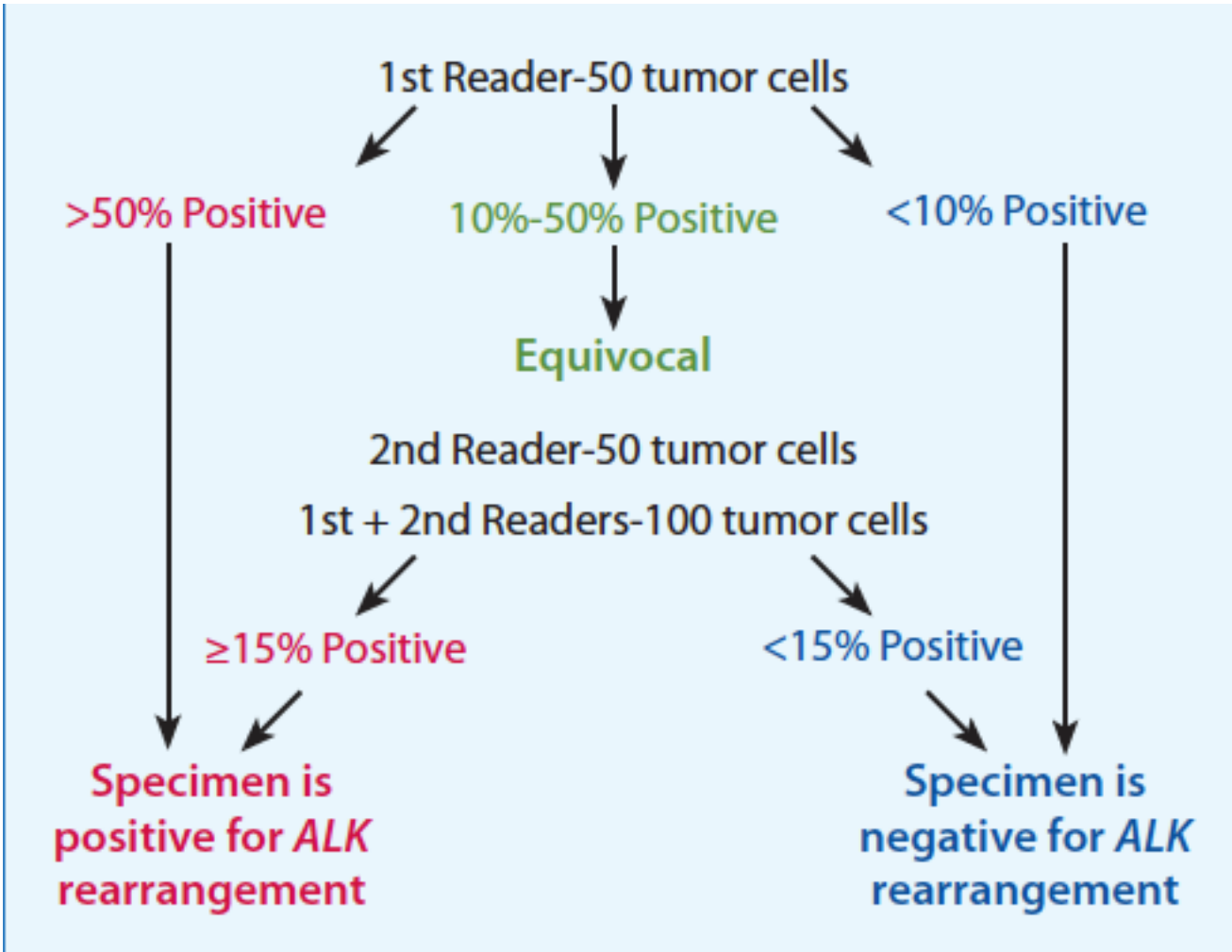
NEGATİF

POZİTİF

POZİTİF

NEGATİF

Figure 7. Tumor cell classification based on the ALK signal pattern on FISH



ALK FISH: Zorluklar

- Deneyim: Morfolojide ve FISH'de
- Pahalı
 - Problar
 - Floresan mikroskop
- Cut-off
 - Borderline FISH sonuçları
 - Subjektif
- FISH ile saptanamayan nadir kompleks ALK rearranjmanları
- %10 başarısızlık oranı
 - Uygun olmayan fiksasyon
 - İyi korunmamış hücreler
 - Yetersiz tümör hücreliliği

ALK İmmünohistokimya

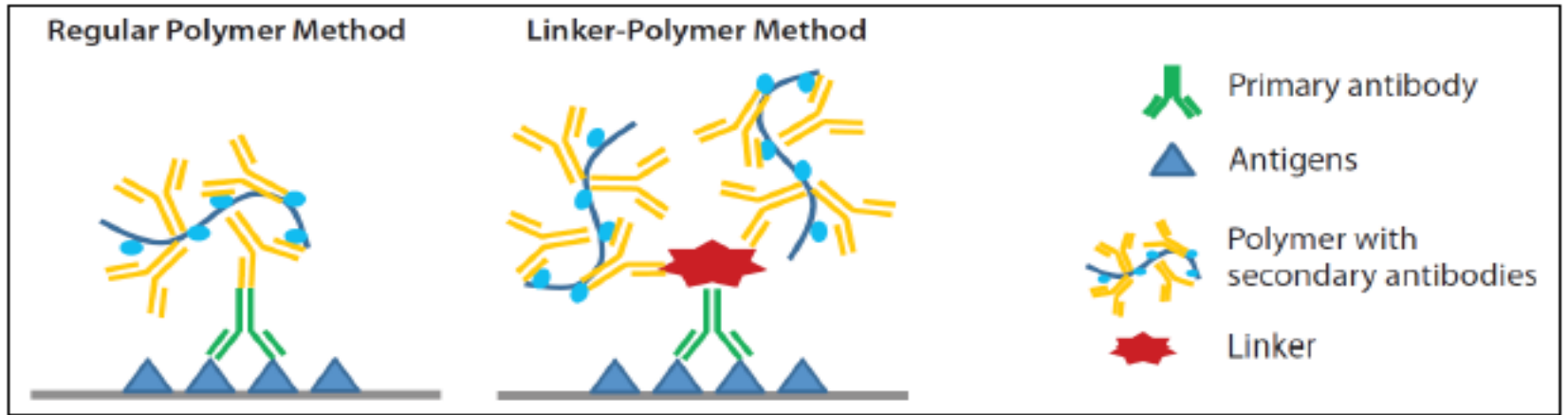
- Hızlı ve göreceli olarak daha ucuz
- Işık mikroskopunda değerlendirme
- Daha az hücrede değerlendirme
- BAP FISH probu ile saptanamayan Krizotinibe duyarlı, nadir rearanjmanları saptayabilir (N. Peled , JTO 2012)
- FISH ile kombinasyonu
 - yanlış pozitif ve negatif vakalar
 - Borderline vakaların çözümünde

Table 1. Commercially Available Antibodies for IHC to Detect ALK Protein Expression

Clone	Clone Type	Isotype	Immunogen
ALK1	Mouse monoclonal	IgG3, kappa	Amino acids 1359–1460 of the full length human ALK protein, corresponding to amino acids 419–520 of the chimeric NPM-ALK protein
5A4	Mouse monoclonal	IgG1	C-terminus of the NPM-ALK transcript (419-520 amino acids)
D5F3	Rabbit monoclonal	Not available	Carboxyl terminus of human ALK
Anti-ALK	Rabbit monoclonal	IgG	Recombinant protein representing amino acids 426-528 of human ALK

ALK İmmünohistokimya

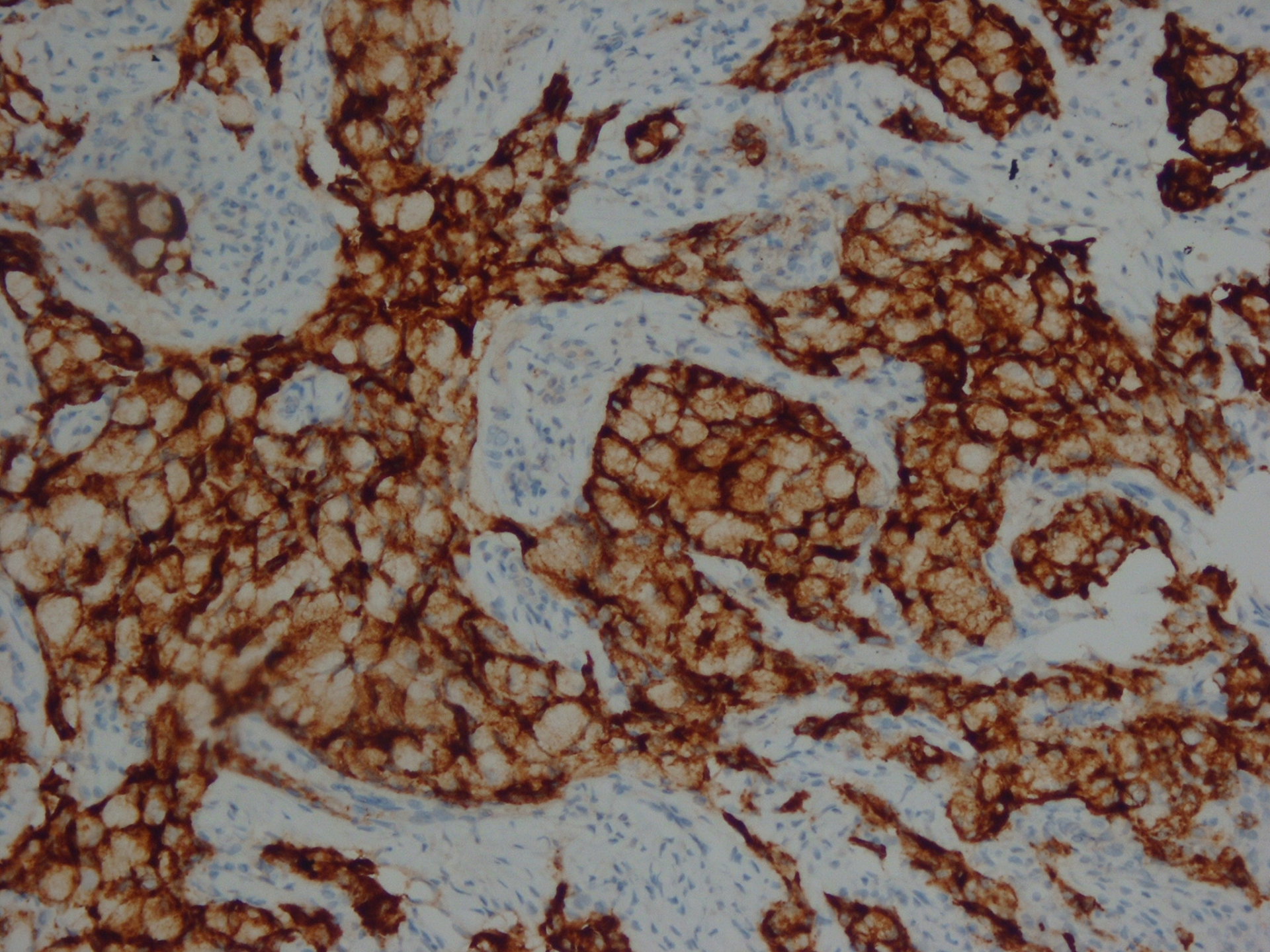
- Oldukça sensitif ALK spesifik antikorlar
 - 5A4 mAb (Novocastra, Leica)
 - D5F3 mAb (Cell Signaling, Ventana)
- Çeşitli gelişmiş deteksiyon sistemleri



ALK Testing Atlas, IASLC 2013

Otomatik immünboyama cihazları

- Bond-Max (Leica Biosystems)
- Benckmark (Ventana)



Sensitif ALK IHC ve FISH arasında uyum ve doğruluk oranı yüksek

TABLE 1. ALK IHC vs. ALK FISH for All Readers and Overall

Reader (<i>n</i> Evaluable)		FISH+	FISH-	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)	Accuracy (95% CI)																																																																		
Reader 1 (<i>n</i> = 97)	IHC+	39	2	91 (78–96)	96 (88–99)	94 (87–97)																																																																		
	IHC-	4	52				Reader 2 (<i>n</i> = 99)	IHC+	39	2	89 (76–95)	96 (88–99)	93 (86–97)	IHC-	5	53	Reader 3 (<i>n</i> = 99)	IHC+	39	2	89 (76–95)	96 (88–99)	93 (86–97)	IHC-	5	53	Reader 4 (<i>n</i> = 99)	IHC+	42	3	93 (82–98)	94 (85–99)	94 (87–97)	IHC-	3	51	Reader 5 (<i>n</i> = 99)	IHC+	39	3	87 (74–94)	94 (85–98)	91 (84–95)	IHC-	6	51	Reader 6 (<i>n</i> = 97)	IHC+	40	3	91 (79–96)	94 (85–98)	93 (86–97)	IHC-	4	50	Reader 7 (<i>n</i> = 97)	IHC+	40	3	91 (79–96)	94 (85–98)	93 (86–97)	IHC-	4	50	Overall (<i>n</i> = 687)	IHC+	278	18	90 (80–98)	95 (89–99)
Reader 2 (<i>n</i> = 99)	IHC+	39	2	89 (76–95)	96 (88–99)	93 (86–97)																																																																		
	IHC-	5	53				Reader 3 (<i>n</i> = 99)	IHC+	39	2	89 (76–95)	96 (88–99)	93 (86–97)	IHC-	5	53	Reader 4 (<i>n</i> = 99)	IHC+	42	3	93 (82–98)	94 (85–99)	94 (87–97)	IHC-	3	51	Reader 5 (<i>n</i> = 99)	IHC+	39	3	87 (74–94)	94 (85–98)	91 (84–95)	IHC-	6	51	Reader 6 (<i>n</i> = 97)	IHC+	40	3	91 (79–96)	94 (85–98)	93 (86–97)	IHC-	4	50	Reader 7 (<i>n</i> = 97)	IHC+	40	3	91 (79–96)	94 (85–98)	93 (86–97)	IHC-	4	50	Overall (<i>n</i> = 687)	IHC+	278	18	90 (80–98)	95 (89–99)	93 (88–97)	IHC-	31	360						
Reader 3 (<i>n</i> = 99)	IHC+	39	2	89 (76–95)	96 (88–99)	93 (86–97)																																																																		
	IHC-	5	53				Reader 4 (<i>n</i> = 99)	IHC+	42	3	93 (82–98)	94 (85–99)	94 (87–97)	IHC-	3	51	Reader 5 (<i>n</i> = 99)	IHC+	39	3	87 (74–94)	94 (85–98)	91 (84–95)	IHC-	6	51	Reader 6 (<i>n</i> = 97)	IHC+	40	3	91 (79–96)	94 (85–98)	93 (86–97)	IHC-	4	50	Reader 7 (<i>n</i> = 97)	IHC+	40	3	91 (79–96)	94 (85–98)	93 (86–97)	IHC-	4	50	Overall (<i>n</i> = 687)	IHC+	278	18	90 (80–98)	95 (89–99)	93 (88–97)	IHC-	31	360																
Reader 4 (<i>n</i> = 99)	IHC+	42	3	93 (82–98)	94 (85–99)	94 (87–97)																																																																		
	IHC-	3	51				Reader 5 (<i>n</i> = 99)	IHC+	39	3	87 (74–94)	94 (85–98)	91 (84–95)	IHC-	6	51	Reader 6 (<i>n</i> = 97)	IHC+	40	3	91 (79–96)	94 (85–98)	93 (86–97)	IHC-	4	50	Reader 7 (<i>n</i> = 97)	IHC+	40	3	91 (79–96)	94 (85–98)	93 (86–97)	IHC-	4	50	Overall (<i>n</i> = 687)	IHC+	278	18	90 (80–98)	95 (89–99)	93 (88–97)	IHC-	31	360																										
Reader 5 (<i>n</i> = 99)	IHC+	39	3	87 (74–94)	94 (85–98)	91 (84–95)																																																																		
	IHC-	6	51				Reader 6 (<i>n</i> = 97)	IHC+	40	3	91 (79–96)	94 (85–98)	93 (86–97)	IHC-	4	50	Reader 7 (<i>n</i> = 97)	IHC+	40	3	91 (79–96)	94 (85–98)	93 (86–97)	IHC-	4	50	Overall (<i>n</i> = 687)	IHC+	278	18	90 (80–98)	95 (89–99)	93 (88–97)	IHC-	31	360																																				
Reader 6 (<i>n</i> = 97)	IHC+	40	3	91 (79–96)	94 (85–98)	93 (86–97)																																																																		
	IHC-	4	50				Reader 7 (<i>n</i> = 97)	IHC+	40	3	91 (79–96)	94 (85–98)	93 (86–97)	IHC-	4	50	Overall (<i>n</i> = 687)	IHC+	278	18	90 (80–98)	95 (89–99)	93 (88–97)	IHC-	31	360																																														
Reader 7 (<i>n</i> = 97)	IHC+	40	3	91 (79–96)	94 (85–98)	93 (86–97)																																																																		
	IHC-	4	50				Overall (<i>n</i> = 687)	IHC+	278	18	90 (80–98)	95 (89–99)	93 (88–97)	IHC-	31	360																																																								
Overall (<i>n</i> = 687)	IHC+	278	18	90 (80–98)	95 (89–99)	93 (88–97)																																																																		
	IHC-	31	360																																																																					

ALK, anaplastic lymphoma kinase; IHC, immunohistochemistry; FISH, fluorescence in situ hybridization; CI, confidence interval.

ALK Test Raporunda

Materyal tipi: Parafine gömülü doku
Neoplastik hücre oranı: %40

ALK FISH TEST

Method: Vysis ALK break apart FISH Probe (Abbott Molecular)

SONUÇ:

Analiz yapılan nukleus sayısı: 65

ALK REARRANJMAN ORANI: %82

ALK REARRANJMANI SAPTANMIŞTIR

NOT:

ALK rearranjmanı bulunan hastalar ALK inhibitör tedavisinden yüksek oranda yarar sağlayabilmektedir

Akciğer kanserlerinde KRAS mutasyonları

- Akciğer adenokarsinomlarının %30'unda,
- Sigara içenlerde,
- Müsiniz adenokarsinom, mikropapiller adenokarsinomda sık
- EGFR ve KRAS mutasyonu birbirini dışlayan (mutually exclusive) mutasyonlardır.

KRAS mutasyonu

- KRAS mutasyon varlığı kötü prognostik belirteç
- KRAS mutasyonlu hastalar adjuvan kemoterapiden yararlanımları düşüktür.
- **EGFR TKI reseptörlerine direnç**

KRAS mutasyonu

- KRAS mutasyon varlığı TKI tedavisi vermek için engel **olmadığından rutin olarak KHDAK da KRAS mutasyon testi önerilmemektedir.**
- Ancak bazen KRAS mutasyon varlığı **diğer mutasyonları dışlamak için** kullanılabilmektedir.

ROS1 rearranmanı

- İnsülin reseptör ailesinin tirozin kinaz reseptörüdür.
- Füzyon partnerleri: CD74, SLC34A2/NaPi2b, and FIG
- Sigara içmemiş genç hastalarda sık
- İnsidans % 0,9-1,7; üçlü negatif hastalarda %7
- Akciğer adenokarsinomlarında, (özellikle EGFR/KRAS/ALK) negatif hastalarda rutin bakılması önerilmektedir.
- FISH testi ile bakılmalı
- İmmünohistokimya (D4D6) ?

KIF5B-RET rearranjmanı

- Tirozin kinaz reseptör RET hücre proliferasyonu, migrasyon ve differansiyasyonda rol oynar
- Genç ve sigara içmemiş hastalarda sık
- MEN tip 2 ve sporadik medüller kanser
- Radyasyon sonucu gelişen akciğer adenokarsinomlarında genetik bir mekanizma olarak ortaya çıkar.
- FISH testi

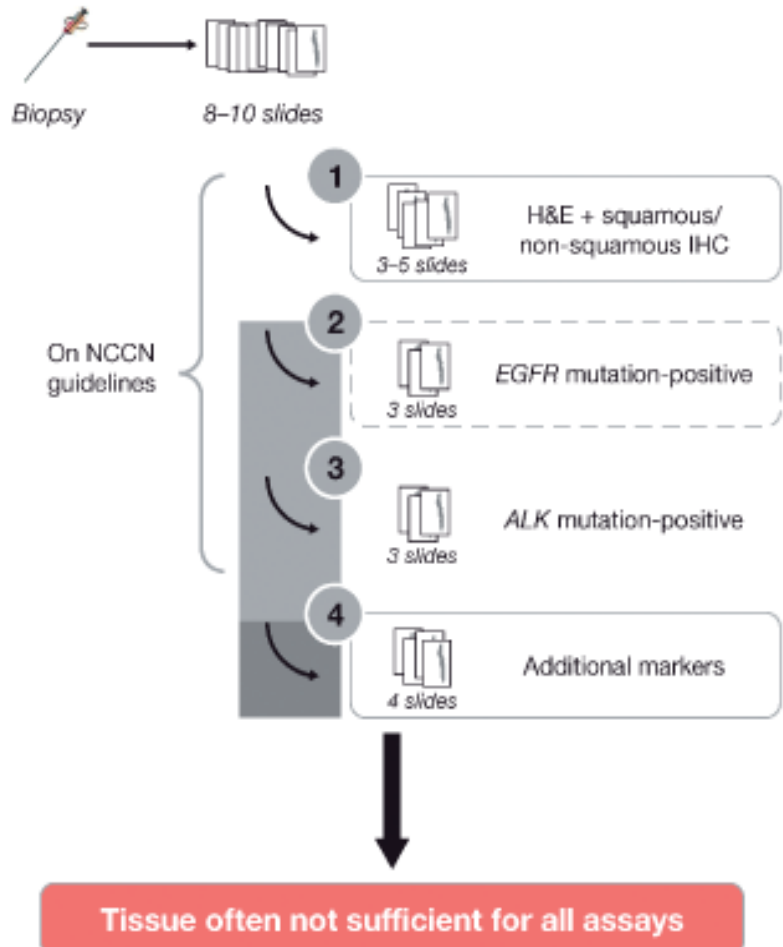
Her2 ve BRAF mutasyonu

- Bazı merkezlerde EGFR ve KRAS mutasyonu ile birlikte yapılmaktadır.
- Tedavide kullanılan ajanlar mevcut.

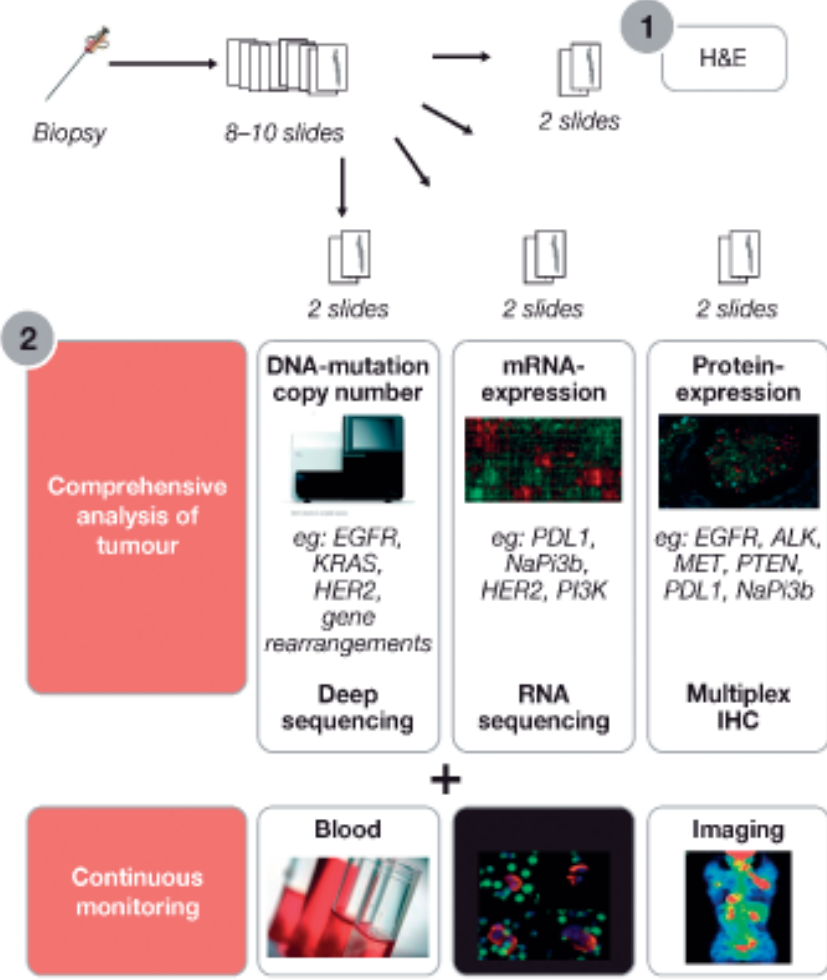
MET gen amplifikasyonu

- MET (mezenkimal-epitelyal transition) gen kopya sayısında artış
- KHDAK'da de novo MET amplifikasyonları nadir
- EGFR tirozin kinaz inhibitörüne dirençten sorumlu
- EGFR - TKI'lı hastaların %20 kadarı MET amplifikasyonu ile direnç geliştirir
- İmmünohistokimyasal boyama

Today: single assays, tissue limitations



Future: multiplex assays and monitoring



Teşekkürler

