



Ürogenital Sistem Tümörlerinde Moleküler Testlere Güncel Yaklaşım

Current Approach to the Molecular Tests in Urogenital Tumors

Duygu ENNELİ¹ , İbrahim KULAÇ² , Yasemin YUYUCU KARABULUT³ , Berrak GÜMÜŞKAYA ÖCAL⁴ ,
Yasemin ÖZLÜK⁵ , Yüksel ÜRÜN⁶ , Çağatay ARSLAN⁷ , Demir Kürşat YILDIZ⁸

¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

⁴Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Bilkent Şehir Hastanesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁵İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁶Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁷İzmir Ekonomi Üniversitesi, Medical Point İzmir Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Bölümü, İzmir, Türkiye

⁸Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye

Bu derleme, Patoloji Dernekleri Federasyonu Üropatoloji Çalışma Grubu adına yazarlar tarafından oluşturulan rehber temel alınarak hazırlanmıştır.

ÖZET

Moleküler patolojideki gelişmeler, ürogenital sistem tümörlerinin tanısal, prognostik ve prediktif değerlendirilmesinde önemli ilerlemeler sağlamıştır. Patoloji Dernekleri Federasyonu Üropatoloji Çalışma Grubu tarafından hazırlanan bu derlemenin amacı, ürogenital sistem tümörlerinde kullanılan güncel moleküler testlerin; doğru, güvenilir ve standardize biçimde uygulanabilmesi için günlük pratiğe yönelik bir rehber oluşturmaktır. Prostat kanserinde, özellikle BRCA1/2, ATM gibi homolog rekombinasyon onarım genlerindeki değişiklikler, MMR/MSI durumu ve tümör mutasyon yükü analizi tedavi belirlenmesinde önem taşımaktadır. Ürotelyal karsinomlarda; FGFR, HER2, PD-L1 ve MMR/MSI başlıca prediktif biyobelirteçler arasında yer almaktadır. Böbrek tümörlerinde moleküler testler; tanı, sınıflandırma ve herediter yatkınlığın değerlendirilmesine katkı sağlamaktadır. Testis germ hücreli tümörlerinde izokromozom 12p analizi tanısal değer taşıırken, penil skuamöz hücreli karsinomlarda HPV testi ve p16 immünohistokimyası önemlidir. Bu moleküler testlerin etkin kullanımı için; uygulanma endikasyonları, uygun ve yeterli tümör dokusunun seçimi, nükleik asit kalitesinin korunması açısından preanalitik süreçlerin standardize edilmesi ve dokunun akılcı kullanımı temel noktalardır. Sonuçların uygun şekilde raporlanması ve multidisipliner bir yaklaşım ile yorumlanması da bu sürecin önemli basamaklarını oluşturmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Ürogenital tümörler, İmmünohistokimyasal inceleme, FISH, PCR, NGS

ABSTRACT

Advances in molecular pathology have led to significant improvements in the diagnostic, prognostic, and predictive evaluation of tumors of the genitourinary system. This review, prepared by the Uropathology Working Group of the Federation of Pathology Societies, aims to provide a practical guide for the accurate, reliable, and standardized implementation of current molecular tests used in genitourinary tumors. In prostate cancer, alterations in homologous recombination repair genes, particularly BRCA1/2 and ATM, as well as MMR/MSI status and tumor mutational burden analysis, play an important role in treatment selection. In urothelial carcinomas, FGFR, HER2, PD-L1, and MMR/MSI are the main predictive biomarkers. Molecular testing of renal tumors contributes to diagnosis, tumor classification, and the assessment of hereditary predisposition. In testicular germ cell tumors, isochromosome 12p analysis is of diagnostic value; HPV testing and p16 immunohistochemistry are important in penile squamous cell carcinomas. For the effective use of these molecular tests, appropriate indications, selection of adequate tumor tissue, standardization of preanalytical processes to preserve nucleic acid quality, and rational use of tissue are key considerations. Appropriate reporting of results and their interpretation within a multidisciplinary approach are also important components of this process.

Keywords: Urogenital tumors, Molecular tests, Immunohistochemistry, FISH, PCR, NGS

(J Curr Pathol. 2026;10(2):57-78)

Geliş Tarihi : 27.08.2026 Kabul Tarihi : 02.09.2026

İletişim: Duygu Enneli

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı,
Ankara, Türkiye

E-posta: duygu.kankaya@gmail.com



1. GİRİŞ ve KAPSAM

Moleküler testler, tümörlerin genetik profillerini belirleyerek, hastalığın seyrini ve en uygun tedavi stratejilerini belirlemeye yardımcı olabilir.

Bu bilgiler, kişiselleştirilmiş etkili tedavi yaklaşımlarını mümkün kılar. Son yıllarda yaşanan gelişmeler ile özellikle böbrek tümörleri sınıflamasında moleküler belirteçlerin önemi daha iyi anlaşılmıştır. Bunun yanında prostatik adenokarsinomlar ve ürotelyal karsinomlarda (ÜK) kullanıma giren hedefe yönelik tedavilerin etkinliğini öngörmek amacıyla prediktif testler rutin patoloji pratiği içerisinde yer almaktadır. Ürogenital sistem tümörleri moleküler özellikleri bakımından büyük değişkenlik göstermektedir ve her organa ait tümörler için değerlendirilmesi gerekli belirteçler farklılık gösterir. Bu nedenle tüm bu testler, başta organ özelinde ve sonrasında tümör özelinde ele alınmalıdır.

Bu derleme, patoloğlar, ürologlar, onkologlar ve ürogenital sistem tümörleri ile ilgilenen tüm klinik branşlara yönelik olarak Patoloji Dernekleri Federasyonu Üropatoloji Çalışma Grubu tarafından hazırlanmış bir moleküler test rehberini temel almaktadır.

Derlemede öncelikle moleküler testler konusunda genel yaklaşım gözden geçirilmekte, daha sonra böbrek, mesane, prostat, testis ve penis tümörlerinde uygulanmakta olan moleküler testler güncel literatür bilgileri ışığında ayrı ayrı ele alınmaktadır.

2. MULTİDİSİPLİNER YAKLAŞIMIN ÖNEMİ

Ürogenital sistem tümörlerinin tanı ve tedavisi multidisipliner bir yaklaşım gerektirir. Üroloji, medikal onkoloji, radyoloji, radyasyon onkolojisi ve patoloji gibi farklı branşların bir arada ve uyumlu çalışması, hastaların en doğru tanı ve tedavi planına ulaşmasını sağlar. Bu işbirliği, hastaların prognozunu iyileştirmenin yanı sıra, kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine de olanak tanır. Her disiplinin sağladığı benzersiz katkılar sayesinde, tümörün biyolojik özelliklerinin anlaşılması, optimal cerrahi müdahaleler, doğru görüntüleme teknikleri ve etkili onkolojik tedavi stratejileri mümkün hâle gelmektedir. Bu nedenle, multidisipliner yaklaşım, diğer hastalıklarda olduğu gibi modern tıpta ürogenital sistem tümörlerinin yönetiminde de vazgeçilmez bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır.

3. MOLEKÜLER TESTLER İÇİN ÖRNEKLEM SIRASINDA YETERLİ DOKU ELDESİNE İLİŞKİN YAKLAŞIMLAR

3.1. Tanıya Etki Eden Faktörler

Patoloji bölümünde incelenen tümörlü dokunun moleküler testler için korunması ana hedeftir. Tedavi seçiminde, tanı için kullanılan immünohistokimya (IHK) çalışmaları kadar moleküler testler de önemlidir. Bu nedenle sınırlı tanısal IHK pa-

neli uygulanmalı ve geride kalan materyalin moleküler testler için de yeterli olması gözetilmelidir.

Hastaya ait birden fazla örnek varsa *en güncel ve yeterli* olan tercih edilmelidir (DNA ve RNA daha iyi korunmuş olacaktır). Metastatik hastalık varlığında öncelik metastazdan yapılmış olan biyopsiye verilmelidir. Metastazdan alınan biyopsi yoksa ya da moleküler testler için yetersiz ise primer odak biyopsisi kullanılabilir.

Tümör hücrelerinin en çok olduğu, nekrozun ve otolizin olmadığı parafin blok seçilmeli ve mümkünse tümör hücrelerinin yoğun olduğu alan işaretlenip sadece o alan çalışmaya alınmalıdır.

İnflamasyon, ısı artefaktı ve nekrotik alanları bulunmayan ya da mümkün olduğunca az bulunan örnekler seçilmelidir.

3.2. Materyalin Kalitesi ve Miktarı

Doku parçalarının ayrı parafin bloklara ayrılması ve sıg yüzeyli olması; her bir doku parçasının ayrı olarak incelenmesini, belirli moleküler ya da yardımcı testler için dokunun en verimli şekilde kullanımını sağlar.

Parafin blokta dokunun büyüklüğüne dikkat ederek ilk tanı için minimal kesit alınmalıdır.

Blokların yeniden kesilme sıklığı en aza indirilmelidir. İdeal olarak, tüm ek testler için kesitler aynı oturumda alınmalıdır.

3.3. Dokular ve Sitolojik Örneklerin Patoloji Laboratuvarına İletilmesi ve Dikkat Edilmesi Gereken Unsurlar

Kor biyopsiler, endoskopik biyopsiler, insizyonel ya da ek-sizyonel biyopsiler yanı sıra hücre blokları ve sitolojik yayma preparatlar da moleküler çalışmalar için uygundur.

Biyopsi örnekleri 30 dakikadan daha kısa bir zamanda uygun fiksatife konulmalı ve fiksatife konulduğu süre istem kağıdında ve raporda belirtilmelidir. Yapılacak analizler üzerinde etkisi bulunabileceğinden soğuk iske mi zamanını kaydetmek değerli olabilir.

Doku örnekleri için uygun fiksatif %10 nötral tamponlu formalıdır.

Parafine gömülmeden önce geçen fiksasyon süresi materyalin hacmine bağlı olarak değişir, ancak fiksatif miktarı materyalin en az 10 katı olmalıdır. Küçük biyopsi örnekleri (endoskopik, iğne veya kor biyopsi) için fiksasyon en az 6 saat olmalı ve 18 saati geçmemelidir. Büyük doku örneklerinde (tümör rezeksiyonu, lenf nodu eksizyonu, vb.) fiksasyon süresi en az 12 saat olmalı ve bu süre 48 saati geçmemelidir.

Moleküler testlerin uygulanacağı örneklerde, dokulara uygulanacak diğer işlemlerden kaçınılmalıdır (Örneğin asidik veya ağır metal içeren fiksatifler veya asit dekalsifiye edici solüsyonlar).

Kemikteki metastatik tümörlerde mutasyon analizi asit dekalsifikasyonu nedeniyle problem oluşturmaktadır. Mutlaka kemik dekalsifikasyon işlemi uygulanacak ise etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) solüsyonu ile işlem yapılabilir. Kemik biyopsi örneklerinde moleküler testler gerekebileceğinden, alınan kemik materyalinin muhtemel tümör de içeren yumuşak kısımları dekalsifikasyon işlemi yapılmadan ayrı bloklararak parafin takibine alınabilir. Materyal taze iken ve henüz fiksateye konulmadan pozitif şarjlı lamalar ile dokundurma preparatlar hazırlanmalı, yeterli tümör hücresi içerdikleri boyanıp incelenerek anlaşıldıktan sonra bunlara moleküler testler uygulanmalıdır.

Taze doku örnekleri, moleküler analizlerde daha yüksek kalitede nükleik asit sağlama potansiyeline sahiptir. Ancak bu örneklerin hızlı bir şekilde işleme alınma zorunluluğu ve patoloji laboratuvarlarında doku tanısının öncelikli hedef olması gibi nedenler kullanımlarını sınırlamaktadır. Öte yandan, tümöre doğrudan erişimin güç olduğu durumlarda; kan ve beyin omurilik sıvısı (BOS) gibi sıvı örnekleri, moleküler analizler açısından alternatif bir materyal kaynağı olarak değerlendirilebilir.

3.4. Moleküler Testlerin Yapılacağı Örneklerin Seçimi

Tüm tümör moleküler testleri analizinin patoloğ tarafından yapılması gereklidir. Moleküler testler için kullanılacak kesitlerin seçiminde tümörün yapısı, sitolojisi ve örnek kalitesi değerlendirilmelidir. Patologlar, mevcut örneklerin biyobelirteçlere ait moleküler testler için yeterli olup olmadığını belirlemek amacıyla bu örneklerin içerdikleri kanser hücresi miktarını, doku korunma düzeyini, nükleik asit kalite ve kantitesini değerlendirmelidir.

Her örnek tümör içeriği yönünden değerlendirilmeli ve gerektiğinde tümör hücrelerinin zenginleştirilmesi amacıyla mikrodiseksiyon/ makrodiseksiyon yapılmalıdır.

Moleküler testin az sayıda tümör hücresi içeren örnekte yapılması zorunlu olduğunda, tümör hücre azlığının sonucu olabilecek kısıtlılıklara ilişkin raporda bilgilendirme yapılmalı ve gerekli uyarılarda bulunulmalıdır. Pozitif sonuçlar her zaman değerli olmakla birlikte, negatif sonuçlar da dikkatli bir şekilde yorumlanmalı ve testin geçersiz olma olasılığı da akıldan tutulmalıdır.

Test için tümör miktarı/tümör hücre sayısı her laboratuvar ve kullanılan yöntem için teyit edilmelidir. Floresan in-situ hibridizasyon (FISH) testi için en az 50-100 canlı hücre gereklidir. Kullanılan platforma göre değişebilmekle birlikte mutasyon analizi için, Yeni Nesil Dizileme (NGS)'de %10 ila %20, Sanger dizilemede %30 ila %40 arasında değişen minimum tümör hücre oranı gereklidir.

Moleküler testler için yeterli tümör hücresi olmadığı durumda, hasta için zaman kaybı oluşmadan hekim bilgilendirilmelidir.

3.5. Moleküler Testler İçin Materyallerin Başka Laboratuvara Sevk Edilmesi

Moleküler testlerin yapılması için örneğin başka bir laboratuvara sevk gerektiğinde, az miktarda tümör hücresi içeren örnekler problem yaratabilir. Kısıtlı sayıda kesit gönderilmesi halinde tüm moleküler incelemeler için yeterli materyal sağlanamamış olur. Ayrıca kesit kalınlığının uygun olmaması veya kesitin pozitif yüklü lam üzerine alınmamış olması gibi problemlerle karşılaşılabilir.

Laboratuvarlar, dokuların tükenme riskine karşı önlem olarak parafin bloklarla birlikte önceden kesilmiş slaytları da göndererek, mevcut diğer materyal üzerinden moleküler testlerin zamanında tamamlanmasını sağlayabilir.

Dokunun yeterli olmadığı durumlarda boyalı kesitler üzerindeki doku kazınarak veya soldurularak moleküler testler için çalışma denenebilir.

Üropatolojide konsültasyon isteği ve başka laboratuvarlara sevk, tıbbi süreçlerin kritik bir parçasıdır. Konsültasyon; nadir ve karmaşık vakaların tanısının konulması, deneyim gerektiren alt tiplendirme için ikinci bir görüşe ihtiyaç duyulması, hastalığın tanı, prognoz ve takibine yönelik bazı immünohistokimyasal ve/veya moleküler testlerin ilk merkezde yapılabilme imkânının olmaması gibi durumlarda gerekli olabilir.

Bu amaçla gerçekleştirilen konsültasyonlarda; hastanın demografik bilgileri, tıbbi öyküsü, hangi ön tanımlarla sevk edildiği, yapılan ya da yapılması planlanan moleküler testler gibi bilgilere mutlaka yer verilmelidir. Bu süreçte zamanlama gözetilmeli; moleküler yöntemlerin histomorfolojik incelemelere kıyasla görece yavaş ilerlediği dikkate alınarak, morfolojik tanı süreci gereksiz yere uzatılmamalıdır. Ayrıca, örneğin gönderildiği merkezde uygulanacak test yöntemleri göz önünde bulundurularak, doku örneğinin gereksiz testlerle tükenmesinin önüne geçilmelidir.

3.6. İntraoperatif Konsültasyon (Frozen İnceleme) Materyalinde Moleküler Testlerin Uygulanması

Gerekli durumlarda intraoperatif inceleme sırasında hazırlanan yayma preparatlar kazınarak üzerindeki hücrelerden nükleik asit elde edilebilir ve izole edilen bu nükleik asit ile tüm ihtiyaç duyulan moleküler testler gerçekleştirilebilir.

4. PROSTAT KANSERİ İÇİN MOLEKÜLER TEST REHBERİ

4.1. Moleküler Testlerin Prostat Kanseri Klinik Yönetimindeki Rolü

Prostat kanseri denildiğinde akla öncelikle prostatik adenokarsinom gelir ve bu tümör, prostat malignitelerinin büyük bir bölümünü oluşturur. Prostatik adenokarsinom, erkeklerde en sık görülen malignitelerden biri olup, ABD'de erkeklerde görülen tüm kanser vakalarının yaklaşık %20'sini oluşturmaktadır. Prostat kanseri, biyolojik açıdan heterojen bir tümör-

dür. Bazı tümörler oldukça yavaş seyirli olup hastanın yaşam süresini etkilemezken, bazıları ileri derecede agresif seyir gösterebilir. Tanı ve tedavi süreçlerinde moleküler biyobelirteçlerin kullanımı, hastalığın yönetiminde önemli değişikliklere yol açmıştır (1).

Germline genetik testler: Metastatik, bölgesel lenf nodu pozitif, yüksek riskli lokalize prostat kanseri olan hastalarda, aile öyküsü bulunan, kalıtsal prostat kanseri sendromu şüphesi olan hastalarda *germline* genetik testlerin yapılması önerilmektedir (2,3). Bu testlerin; *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *PALB2*, *CHEK2*, *HOXB13*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* ve *PMS2* genlerini kapsamı gereklidir. Bu testler yalnızca hastanın tedavi seçeneklerini belirlemek açısından değil, aynı zamanda ailesel kanser riski değerlendirmeleri ve klinik araştırmalara uygunluğun belirlenmesi açısından da önemlidir.

Somatik tümör testleri: Özellikle metastatik hastalık durumunda tedavi planlamasında kullanılmak üzere önerilmektedir. Bu testler şunlardır:

- Homolog rekombinasyon onarım (HRR) gen mutasyonları (özellikle *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*): “Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP)” inhibitör tedavisi için hasta seçiminde özellikle *BRCA1* ve *BRCA2* kaybının, diğer HRR gen değişikliklerine kıyasla PARP inhibitör tedavisine yanıtla daha fazla ilişkili olabileceği bilinmektedir (2).
- Mikrosatellit instabilitesi (MSI) / “Mismatch repair (MMR)” eksikliği (dMMR) testi ve tümör mutasyon yükü (TMB) analizi: İmmünoterapi için hasta seçiminde uygulanmaktadır.

Likit Biyopsi: Metastatik hastalıkta, biyopsinin mümkün olmadığı veya riskli olduğu durumlarda likit biyopsilerle elde

edilebilen dolaşımdaki serbest tümör DNA’sı (ctDNA) moleküler testler için tercih edilebilir (2).

4.2. Moleküler Testlerin Uygulanması

Prostatik adenokarsinomlarda kullanılabilecek moleküler testler, kullanılan teknik ya da zamanlama açısından bazı ana başlıklar altında incelenebilir. Bu derlemede testler teknik özelliklerine göre gruplanarak incelenecektir. İzlenecek algoritma Şekil 1’de yer almaktadır.

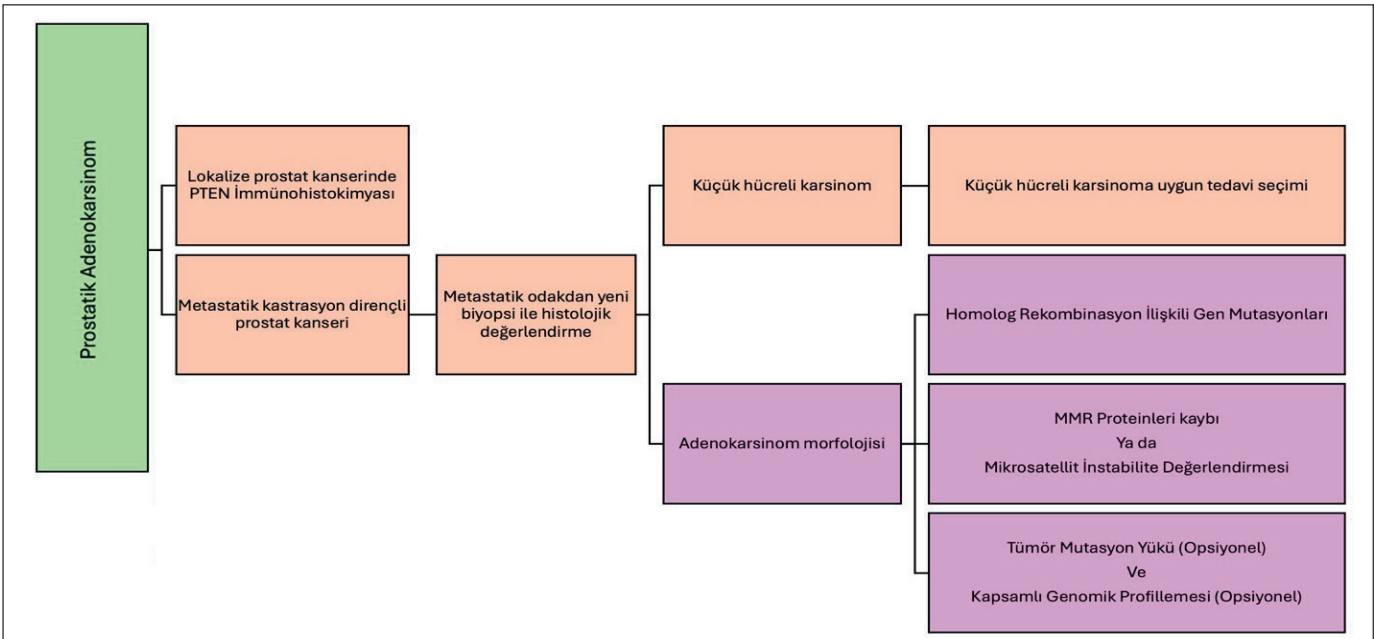
4.2.1. İHK Tabanlı Testler

4.2.1.1. PTEN İHK İncelemesi

PTEN geni, prostat kanseri progresyonunda önemli bir role sahiptir ve genellikle yüksek dereceli tümörlerde genomik kaybı izlenir. Bu genomik kayıp, İHK ile tümör hücrelerinde boyanma kaybı şeklinde dolaylı olarak gösterilebilir. PTEN İHK incelemesi, özellikle biyopsilerde yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi (PİN) ile intraduktal karsinomun ayırımında yararlı olabilir. Ayrıca çeşitli çalışmalar, iğne biyopsilerinde düşük dereceli tümörlerde saptanan PTEN kaybının, cerrahi rezeksiyon materyalinde histolojik derece artışı ile ilişkili olduğunu göstermiştir (4).

4.2.1.2. Hatalı Eşleşme Tamir Yolağı (“Mismatch Repair/ MMR”) Değerlendirmesi

Prostatik adenokarsinomların küçük bir kısmı MMR proteinlerinde kayıp ve buna bağlı olarak MSI gösterir. Özellikle kastrasyona dirençli metastatik prostat kanseri (mKDPK) olgularında, MSI’nin dolaylı göstergesi olan MMR protein kayıpları, İHK ile hızlı ve kolay şekilde saptanabilir. Bu amaçla MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2 proteinlerine yönelik antikorlar kul-



Şekil 1: Prostat kanserinde izlenecek moleküler test algoritması.

lanılarak uygulanan IHC çalışması önemli ölçüde yol gösterici olabilir. dMMR gösteren tümörlerin immünoterapiye daha iyi yanıt verdiği bilinmektedir.

4.2.2. Genomik ve Transkriptomik Analizler

4.2.2.1. Androjen Receptör (AR) Alterasyonları

Bazı prostat kanserleri AR'nin farklı "splice" varyantlarını içerebilir. Dolaşımdaki tümör hücrelerinde (CTC) saptanan AR-V7 ("androgen receptor splice variant 7") yeni nesil anti-androjen tedavilerden Enzalutamid ve Abirateron'a direnç ile ilişkili bulunmuştur (5). Her ne kadar henüz tüm klinik kılavuzlarda yer almamış olsa da, bu tedavilerin uygulanmasının planlandığı hastalarda CTC'de AR-V7 varlığının araştırılması önerilmektedir.

4.2.2.2. Homolog Kombinasyon Tamir (HRR) Yolağı Genleri Mutasyonları

Başta BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2 ve PALB2 olmak üzere, HRR yolağında görev alan genlerde (ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDK12, CHEK1, CHEK2, FANCL, PALB2, PPP2R2A, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAD54L) mutasyon gösteren mKDPK olguları, PARP inhibitörlerine duyarlılık gösterebilir (6). Bu tedavi, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır. Tercihen metastaz odağından alınmış yeni bir biyopsi örneğinde yapılacak genomik analiz ile söz konusu mutasyonların varlığı araştırılabilir. Primer tümör dahil olmak üzere herhangi bir doku örneği elde edilemediği durumlarda ise, HRR yolağındaki gen mutasyonları ctDNA üzerinden de değerlendirilebilir. Bu analiz için en uygun yöntem NGS olmakla birlikte, NGS büyük delesyon ve inersiyonları saptamada yetersiz kalabilir. Bu nedenle herhangi bir genetik alterasyon saptanmayan örnekler, "multiplex ligation-dependent probe amplification" (MLPA) gibi tamamlayıcı yöntemlerle de değerlendirilmelidir.

4.2.2.3. Mikrosatellit İnstabilite (MSI) Analizi

mKDPK olgularında MMR IHC ya da MSI değerlendirmesi önerilmektedir. Bu amaçla, tercihen yeni bir metastaz odağından alınmış biyopsi örneğinde, bu mümkün değilse primer tümör dokusu ya da ctDNA üzerinden mikrosatellit bölgeler analiz edilerek tümörün MSI durumu hakkında yorum yapılabilir. Doku bazlı analizlerde PCR tabanlı testler ya da NGS yöntemi kullanılabilir. ctDNA örneklerinde ise yalnızca NGS yöntemi kullanılabilir. Tedavi rehberleri, IHC ile dMMR ya da moleküler yöntemlerle MSI saptanan tümörlerde immünoterapi kullanımını önermektedir.

4.2.2.4. TMB ve Kapsamlı Genomik Profilleme

"National Comprehensive Cancer Network (NCCN)" rehberlerinde mKDPK hastalarında TMB incelemesi ve Kapsamlı Genomik Profilleme (CGP) önerilmektedir. Tercihen yeni ortaya çıkmış bir metastatik odaktan alınacak biyopside bu testler yapılabilir. TMB'nin yüksek çıkması durumunda immünoterapi ajanlarının (özellikle Pembrolizumab) kullanımı gündeme gelebilir. CGP sonucu elde edilen veriler doğrultusunda, hedef-

lenebilir bir varyant saptanması hâlinde tedavi modifikasyonu yapılabilir.

TMB; bir tümörde DNA'nın kodlanan bölgelerinde megabaz başına saptanan non-sinonim mutasyonlardır ve XX mut/Mb şeklinde gösterilir. FDA, TMB'si 10 mut/Mb ve üzeri olan solid tümörlerde Pembrolizumab (anti PD-1 ajan) kullanımını onaylamıştır. Her ne kadar 10 mut/Mb bir sınır değeri olarak belirtilse de TMB sonucunu sağlayan pek çok farklı NGS paneli ve bu panellerden elde edilen verileri inceleyerek hesaplama yapan çeşitli algoritmalar bulunmaktadır. Laboratuvarlar, en az 1 megabaz uzunluğunda bir sekanslama kapsamı kullanarak TMB skoru vermektedir. Ayrıca, TMB hesabı için ideal yaklaşım; hastaya ait normal DNA ve tümör DNA'sının sekanslamasının eş zamanlı yapılması ve germline varyantlar dışlanarak sonuca ulaşılmasıdır. Ancak, yalnızca tümör sekanslaması ile analiz yapıp sık görülen popülasyon polimorfizmleri hariç tutularak da TMB skoru belirlenebilir.

Tüm laboratuvarlar, kullandıkları panel ve algoritmaların TMB hesaplaması için valide edildiğinden emin olmalı ve gerekirse kendi validasyonlarını gerçekleştirmelidir.

5. MESANE KANSERİ İÇİN MOLEKÜLER TEST REHBERİ

5.1. Moleküler Testlerin Mesane Kanser Klinik Yönetimindeki Rolü

Mesane kanserinde moleküler test endikasyonları şunlardır:

- Yüksek riskli, kasa invaziv olmayan mesane kanseri (K1-OMK) vakalarında rekürrens veya tedavi yanıtını öngörmek için,
- Kasa invaziv mesane kanseri (KIMK) hastalarında, neoadjuvan veya adjuvan tedavi planlaması için,
- Metastatik veya lokal ileri evre mesane kanserinde tedavi kararı aşamasında.

Mesane kanserinde uygulanan moleküler testler şunlardır:

- FGFR testi: Terapötik belirteç olarak önemlidir.
- HER2 testi: Prognostik ve terapötik önemi vardır.
- PD-L1 testi: İmmünoterapi yanıtı açısından önem taşır.
- MSI/MMR durumu ve Tümör Mutasyon Yüklü (TMB): İleri evre hastalarda immünoterapi kararı için önemlidir.

Mesane kanserinde likit biyopsi kullanımı:

- Metastatik veya rekürren hastalık durumunda doku örneği yetersizse ctDNA, analiz için kullanılabilir.
- Tedaviye direnç gelişiminde direnç mekanizmalarını değerlendirmek amacıyla kullanılabilir.

5.2. Moleküler Testlerin Uygulanması

5.2.1. TERT Promoter Mutasyon Analizi

TERT geni, 5p15.33 kromozomunda (chr5:1,253,147-1,295,069) yer almaktadır ve 41.923 baz çiftinden oluşan 16

ekzon içermektedir. TERT, telomeraz RNA komponenti (TERC) ile birlikte çalışarak, telomer replikasyonunda görev alan bir telomeraz alt birimini kodlar. Telomeraz, 5'-TTAGGG-3' tekrar dizisini telomer uçlarına ekleyerek telomerlerin uzunluğunu korur ve böylece hücreyi ölümsüzleştirir.

TERT promotor mutasyonları, non-invaziv erken evre ve düşük histolojik dereceli olanlar da dahil olmak üzere, ÜK'nin büyük kısmında (%60-80) görülmektedir. ÜK histolojik alt tiplerinde veya mesane skuamöz hücreli karsinomunda (SHK) görülebilir. Üst üriner kanal ÜK'da görülme sıklığı mesaneye göre biraz daha düşüktür (%40-70).

Reaktif ürotelyal proliferasyonlar gibi ürotelyal neoplazinin benign taklitçileri bu mutasyonları bulundurmamış, TERT promotor mutasyon analizi; ürotelyal karsinomu benign taklitçilerinden ayırmada ("nested" ÜK ile proliferatif sistit ayırıcı tanısı, non-invaziv papiller neoplazi ile polipoid sistit ayırıcı tanısı vs.) yüksek tanısal değere sahiptir. Rutin uygulamada yer almayan, ancak seçili vakalarda nadiren başvuru bir moleküler testtir.

Ayrıca mesane kanseri hastalarının takibinde idrarda araştırılan bir biyobelirteç olarak da kullanılabilir veya primeri bilinmeyen kanserlerde ürotelyal orijini göstermede fayda sağlayabilir. Spesifitesi yüksek, sensitivitesi %60-80 oranındadır. TERT promotor mutasyonları henüz tedavi hedefi değildir.

- TERT promotor mutasyonları genellikle kodlamayan nokta mutasyonları şeklindedir ve sıklıkla transkripsiyon başlangıç noktasından itibaren -124 ve -146 baz çifti uzaklıkta iki bölgede görülen C>T transversiyon mutasyonlarıdır: TERT -124 C>T (C228T) ve TERT -146 C>T (C250T) (7). Bu mutasyonlardan -124 konumundaki daha yaygındır.

Yukarıdaki sık görülen "hot spot" mutasyonlara göre çok daha nadir görülen mutasyonlar ve görülme sıklıkları şunlardır: A161C (%3), C242T + C243T (%0,15), C158A (%0,8), C228A (%0,5), G149T (%0,5), C250T + C242T + C243T (%0,25), G245A (%0,25), T198G (%0,25), C193T (%0,25), C190T + C184T (%0,25).

TERT promotor mutasyon testi, formalinle fikse edilmiş, parafin gömülü (FFPE) dokularda, idrar hücrelerinde, idrar veya plazmadaki hücre dışı serbest DNA'da (cfDNA) yapılabilir. PCR bazlı yöntemler (Sanger sekanslama, Real-time PCR), NGS bu mutasyonların tespiti için kullanılabilir.

5.2.2. İmmünoterapi İçin Hasta Seçimi

5.2.2.1. PD-L1 Testi

Mesane ve üst üriner sistem kaynaklı ÜK'ların, özellikle ileri evrede olanlarında, immün kontrol noktası inhibitörleri (ICI) önemli bir tedavi seçeneği hâlini almıştır. Ancak bunlar yüksek maliyeti ve önemli yan etkileri olan ilaçlardır. Hastaların ancak bir kısmı (%25) tedaviden fayda görebilmektedir. Uygun hastanın belirlenebilmesi bu nedenle önemlidir. PD-L1 testi, MSI/MMR testi, TMB ve ÜK moleküler alt tipi gibi değer-

lendirmeler; ICI tedavisine yanıt verme olasılığı olan hastaları öngörmeye kullanılan belirteçler arasındadır.

PD-L1 testinde, tümör hücreleri ve/veya immün hücrelerde IHK yöntemi ile PD-L1 ekspresyonu değerlendirilmektedir. PD-L1 bir transmembran proteindir. Dendritik hücreler, makrofajlar, T ve B lenfositler, mast hücreleri gibi hematopoetik hücreler yanı sıra, endotel, epitel hücreleri ve tümör hücrelerinde eksprese edilir. Tümör hücreleri, yüzeylerindeki PD-L1 ile, regülatör T hücrelerinin yüzeyindeki PD-1'e bağlanır ve T hücresi aktivasyonunu inhibe eder. Normalde sağlıklı hücrelerin immün yanıtın korunması için gerekli olan bu mekanizma, tümör hücreleri tarafından immün sistemden kaçış için kullanılır. ICI ile tedavide amaç, hastanın immün sistemini tümör hücrelerine karşı yeniden etkin hâle getirmektir.

PD-L1 ekspresyonu ile tümörün tedaviye yanıtı sıklıkla korelasyon gösterir. Ancak PD-L1 negatif bazı ÜK hastalarının da tedaviden fayda görebildiği bilinmektedir.

ÜK hastalarında ICI tedavisinin yeri ve PD-L1 testi endikasyonu:

- Sisplatin tedavisine uygun olmayan, lokal ileri veya metastatik ÜK hastalarında, yüksek PD-L1 ekspresyonu varlığında, birinci basamak tedavide ICI'nin kullanımı, 2018 yılında FDA ve Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından onaylanmıştır.
- Platin bazlı kemoterapi tedavisi almış ve progresyon gelişmemiş hastalarda, Avelumab idame tedavisinin genel sağkalım (OS) ve progresyonsuz sağkalımda (PFS) anlamlı katkı sağladığı görülmüş, bu hastaların idame tedavisinde ICI kullanımı PD-L1 son ürotelyal karsinomundan bağımsız olarak onaylanmıştır. Ülkemizde, bu endikasyon kapsamında verilen Avelumab idame tedavisi, Sosyal Güvenlik Kurumu tarafından yalnızca PD-L1 testinin pozitif olması (eşik değer belirtilmeksizin) koşuluyla geri ödenmektedir (Şekil 2).

Lokal ileri/metastatik ÜK hastalarında FDA ve EMA tarafından onaylı beş ICI ajanı olan Anti-PD-L1 (Durvalumab, Atezolizumab ve Avelumab) ve anti-PD-1 (Nivolumab, Pembrolizumab) piyasada kullanımdadır (Tablo I).

Her bir farmasötik ilaç için valide edilmiş PD-L1 klonları, boyama platformları ve ekspresyon skorlama yöntemleri bulunmaktadır. FDA tarafından onaylanmış dört PD-L1 IHK testi vardır ve bunların her biri farklı PD-L1 antikör klonu (22C3, 28-8, SP263, SP142) kullanılarak, iki farklı IHK platformunda (Dako ve Ventana), belirli bir skorlama sistemine göre uygulanmaktadır. PD-L1 testlerinin farklı immünoterapi rejimlerine bağlı olarak eşik değerleri değişebilir.

IHK incelemede ideal yaklaşım, hastaya verilecek farmasötik ajana uygun PD-L1 klonu, boyama platformu ve skorlama yönteminin kullanılmasıdır. Ancak bu düzeneğin kurulması yüksek maliyet gerektirdiğinden her zaman uygulanamayabilir. Literatürdeki ÜK PD-L1 testlerini karşılaştıran çalışmalar,

LOKAL İLERİ / METASTATİK ÜK Birinci basamak tedavide kullanımı: Anti-PD-L1 (Atezolizumab) Anti-PD-1 (Pembrolizumab) A. Hasta Sisplatin içeren KT'ye uygun değil + PD-L1 pozitif * * Atezolizumab için pozitiflik IC ≥ %5, Pembrolizumab için pozitiflik CPS ≥ 10 B. Herhangi bir platin içeren KT'ye uygun olmayan hastalar (PD-L1'den bağımsız) İkinci basamak tedavide kullanımı: Anti-PD-L1 (Durvalumab, Atezolizumab ve Avelumab) Anti-PD-1 (Nivolumab, Pembrolizumab) Platin içeren KT sırasında veya sonrasında progresyon gelişen (PD-L1'den bağımsız) İdame tedavide kullanımı: Platin bazlı KT tedavisi almış ve progresyon gelişmemiş hastalarda Avelumab idame tedavisi (PD-L1'den bağımsız) Atezolizumab- IC ≥ %5 Pembrolizumab- CPS ≥ 10	NMIBC - Bacillus Calmette-Guérin (BCG) tedavisine yanıtız - Yüksek riskli, Karsinoma in situ (CIS) olan - Sistektomiye uygun değil ya da hasta istemiyor
--	--

Türkiye'de BAVENCIO (Avelumab) ruhsatı (2019-)
Rezeke edilemeyen lokal ileri veya metastatik, 1. basamak platin bazlı kemoterapiyi takiben hastalığı progresyon göstermemiş, **PD-L1 pozitif*** ürotelyal karsinoma idame tedavisinde monoterapi olarak endikedir.
*PD-L1 pozitifliği için bir eşik değer belirtilmemiştir.

Şekil 2: Ürotelyal karsinom tedavisinde FDA ve EMA onaylı immün kontrol noktası inhibitörlerinin kullanım endikasyonları ve PD-L1 testinin rolü. **FDA:** Food and Drug Administration, **EMA:** European Medicines Agency, **ÜK:** Ürotelyal karsinom, **KT:** Kemoterapi, **KİMK:** Kasa invaziv mesane kanseri, **KİOMK:** Kasa invaziv olmayan mesane kanseri, **BCG:** Bacillus Calmette-Guérin, **CIS:** Karsinoma in-situ

Tablo I: FDA ve EMA tarafından onaylı immünoterapötik ilaçlar ve ilişkili PD-L1 testleri.

Klon	Üretici	Platform	Skorlama Yöntemi	Eşlikçi İlaç
22C3 pharmDx	Agilent, Dako	Dako Autostainer Link 48	TPS veya CPS	Pembrolizumab
28-8	Agilent, Dako	Dako Autostainer Link 48	TPS	Nivolumab
73-10	Agilent, Dako	Dako Autostainer Link 48	-	Avelumab
SP142	Ventana	BenchMark Ultra	IC	Atezolizumab
SP263	Ventana	BenchMark Ultra	ÜK için TC ve IC	Durvalumab

FDA: Food and Drug Administration, **EMA:** European Medicines Agency, **ÜK:** Ürotelyal karsinom, **TPS:** Tümör proporsiyon skoru, **TC:** Tümör hücre skoru, **CPS:** Kombine pozitif skor, **IC:** Immün hücre skoru.

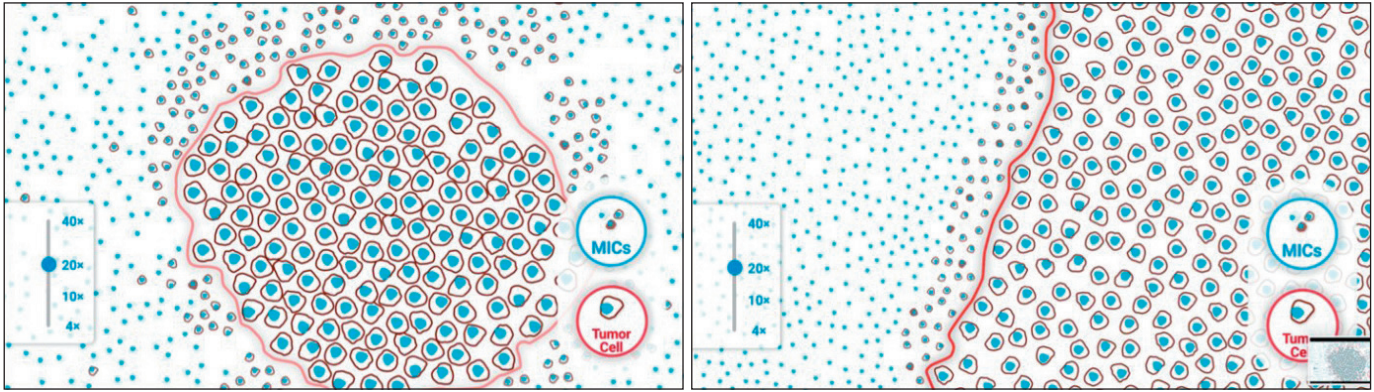
PD-L1 test platformlarının konkordans gösterdiğini; Dako 22C3, Dako 28-8, Ventana SP142 ve Ventana SP263 arasında anlamlı düzeyde uyumluluk bulunduğunu (%80-90) ortaya koymuştur. Çalışmaların neredeyse tamamı, SP142 testinin PD-L1 pozitif tümör hücre oranını belirlemede diğerlerine göre daha zayıf olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, tümör hücrelerini değerlendirmeye dahil eden tümör proporsiyon skoru (TPS) veya kombine pozitif skor (CPS) skorlamalarında, Ventana SP142 testinin kullanımı önerilmemektedir.

5.2.2.1.1. PD-L1 Ekspresyon Değerlendirmesi, Skorlama Yöntemleri ve Raporlama (Şekil 3-7).

PD-L1 ekspresyonunu değerlendirirken üç temel skorlama yöntemi kullanılır. Aynı bloktan alınmış H-E kesit ile birlikte değerlendirme yapılmalıdır.

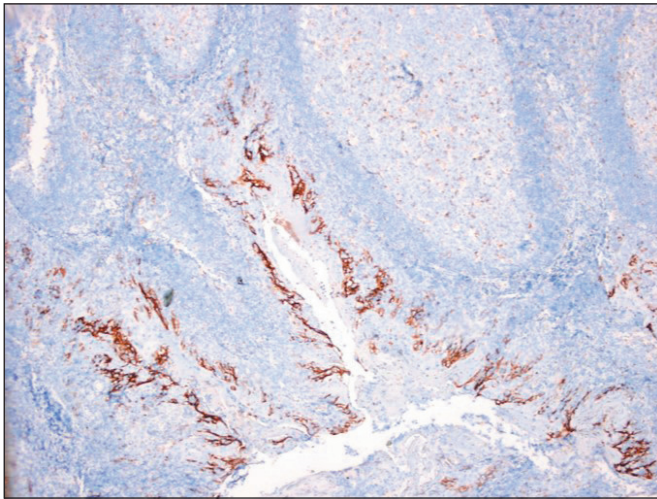
TPS (TC) = $\frac{\text{PD-L1 POZİTİF CANLI TÜMÖR HÜCRELERİ}}{\text{TOTAL CANLI TÜMÖR HÜCRESİ}} \times 100$
CPS = $\frac{\text{PD-L1 POZİTİF TÜMÖR HÜCRELERİ ve İMMÜN HÜCRELER}}{\text{TOTAL CANLI TÜMÖR HÜCRESİ}} \times 100$
IC = $\frac{\text{PD-L1 POZİTİF İMMÜN HÜCRELER}}{\text{TÜMÖR ALANI}} \times 100$

Şekil 3: PD-L1 ekspresyonu skorlama yöntemleri.
TPS: Tümör proporsiyon skoru, **TC:** Tümör hücre skoru, **CPS:** Kombine pozitif skor, **IC:** Immün hücre skoru



Şekil 4: PD-L1 değerlendirmesine dahil edilecek immün hücrelerin belirlenmesi (x20 kuralı).

Tümör alanı içerisindeki mononükleer inflamatuvar hücreler değerlendirmeye alınır. x20'lik büyütme alanında tümör alanı küçükse ortaya alınır, tümör alanı büyükse, tümör-stroma interfaz hattı ortaya alınır ve bu büyütme alanında kalan tümör içindeki ve çevresindeki immün hücreler değerlendirmeye dahil edilir (x20 kuralı).

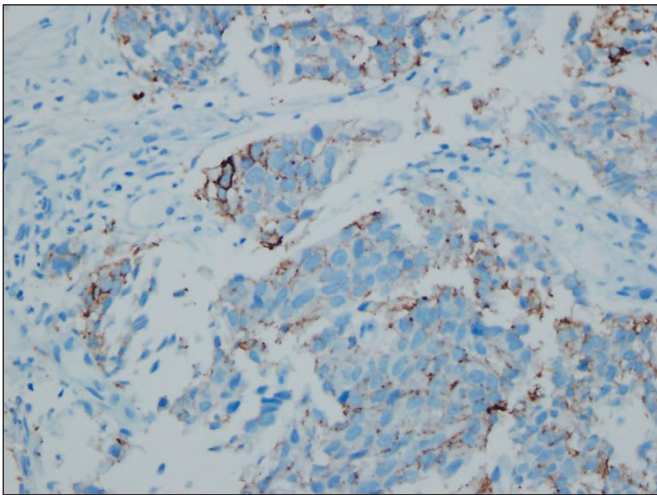


Şekil 5: Kontrol dokusunda (tonsil) epitel hücrelerinde membranöz, immün hücrelerde sitoplazmik boyanma (Anti-SP263, Ventana).

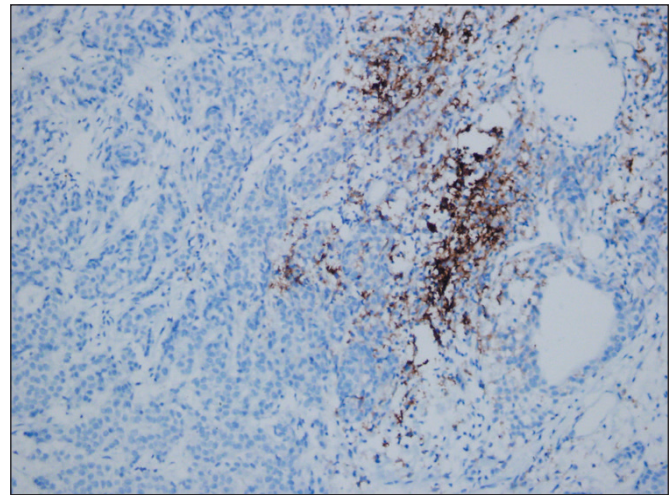
Nekrotik alanların belirlenmesi, tümör - immün hücre ayrımı (özellikle makrofajlardaki kuvvetli membranöz boyanmalar, tümör hücre pozitifliği ile karışabilir), immün hücre tiplerinin ayrımı gibi noktalarda H-E kesitten destek alınmalıdır.

Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu (TPS – Tümör Proporsiyon Skoru):

1. TPS değerlendirmesinde, tümör hücrelerinden PD-L1 pozitif olanların yüzdesi belirlenir.
2. Tümör hücrelerinde herhangi şiddette, komplet/parsiyel, lineer membranöz boyanma ($\pm$ granüler boyanma) esas alınır.
3. Tümör hücrelerindeki granüler sitoplazmik boyanmalar, yabancı cisim tipi dev hücrelerde membranöz boyanmalar, ürotelyal karsinoma in-situ (ÜKIS) alanında ya da normal epiteldeki boyanmalar değerlendirme dışı bırakılmalıdır.



Şekil 6: Tümör hücrelerinde membranöz lineer-granüler pozitif immünreaktivite (Anti-22C3, Ventana).



Şekil 7: İmmün hücrelerde sitoplazmik pozitiflik (Anti-22C3, Ventana).

Tablo II: Kesitte total tümör hücre sayısının belirlenmesi (Tümör hücrelerinin boyutlarının uniform olduğu ve bir tümör hücresi çapının yaklaşık 20mm olduğu kabul edilerek).

20'lik mercek alanı		22'lik mercek alanı		Dijital slayt (20 inç monitör)	
Objektif	Tahmini tümör hücre sayısı	Objektif	Tahmini tümör hücre sayısı	Objektif	Tahmini tümör hücre sayısı
4x (5mm)	60000	4x (5,5mm)	70200	4x	39300
10x (2mm)	10000	10x (2,2mm)	12000	10x	6550
20x (1mm)	2500	20x (1,1mm)	3000	20x	1750
40x (0,5mm)	600	40x (0,55mm)	720	40x	-

Mikroskop alanında görülen tümör hücre sayısını tahmin etmek için aşağıdaki tabloda gösterildiği gibi bir değerlendirme yardımcı olabilir. Tümör hücre boyutlarının uniform olduğu ve bir tümör hücresi çapının yaklaşık 20mm olduğu kabul edildiğinde, kullanılan mikroskopun oküler merceğinin çapının 20 ya da 22 olmasına göre tümör hücre sayısı tahmin edilebilir (Tablo II). Tümörün hücreden zengin ya da fakir olması, monomorfik/pleomorfik olması gibi kriterler de göz önünde bulundurulmalıdır.

Belirgin pleomorfizm gösteren tümörlerde yukarıda verilen tablo verileri yine kullanılabilir, ancak aşağıdaki gibi bir formülasyon oluşturulur. Bunun için öncelikle bir lenfositin nükleus çapı (yaklaşık 8 mm'dir) referans alınarak tümör hücresinin ortalama çapı belirlenir.

4x büyütmede genel değerlendirme ve tahminde bulunma aşamasından sonra, 10x ile yüzde değer belirlenir. 20x ile zayıf şiddetteki boyanmalar daha net olarak görülür. Küçük büyütmede negatif bulunan tüm alanlar 20x ile de taranmalı ve negatif olduğundan emin olunmalıdır.

Değerlendiren patoloğun deneyimine göre üç farklı değerlendirme metodundan biri tercih edilebilir: *Hücre sayımına dayanan yapılandırılmış skorlama, eşik değer odaklı skorlama ve endikasyon spesifik referanslara göre skorlama.*

Kombine Pozitif Skor (CPS):

1. CPS, tümör hücreleri ve mononükleer inflamatuvar hücrelerdeki (lenfositler ve makrofajlar) PD-L1 pozitifliğini birlikte değerlendiren bir skorlama yöntemidir.
2. Değerlendirme için doku çatısı korunmuş tümör alanı içerisinde, en az 100 canlı tümör hücresi bulunmalıdır.
3. CPS değerlendirmesinde TPS'den farklı olarak ÜKIS alanı ya da yüksek dereceli papiller ÜK alanı da değerlendirme-ye dahil edilir.

4. CPS için ideal büyütme 20x'dir.

5. Tümör hücrelerinde herhangi şiddette parsiyel ya da komplet membranöz, mononükleer immün hücrelerde (lenfosit, makrofaj) herhangi şiddette membranöz ve/veya sitoplazmik boyanma dikkate alınır.
6. Nötrofil, eozinofil ve plazma hücreleri skorlamaya dahil edilmez. Benign hücreler, stromal hücreler, nekrotik hücreler ve hücre debrisleri değerlendirme dışı bırakılır.
7. Tümör alanı içerisindeki mononükleer inflamatuvar hücreler değerlendirmeye alınır. Basit bir ifade ile tümör ile aynı x20'lik büyütme alanına sığabilen immün hücreler değerlendirmeye dahil edilmelidir. Ülser ve diğer olası patolojiler ile ilişkili inflamatuvar hücreler, BCG ilişkili granülom yapısındaki pozitiflikler dışlanmalıdır (Tablo III).
8. Hesaplamalarda sonuç 100'den fazla çıkabilir; ancak skor en fazla 100 olabilir.
9. Skorlar tam sayı olmalıdır. Örneğin 1,5 ise 2'ye yuvarlanır; 2,3 ise 2'ye yuvarlanır. Ancak 0,5 ise 1'e yuvarlanmaz, skor 0'dır.
10. CPS ≥ 10 olan hastalar, belirli immünoterapi ajanları için uygun aday olarak değerlendirilebilir.

İmmün Hücreler için PD-L1 Ekspresyonu

(IC – İmmün hücre skoru):

1. PD-L1 pozitif immün hücre alanının tüm tümör alanındaki yüzdesi hesaplanır.
2. %5 ve üzeri IC skoru, immünoterapi için uygun hasta seçimini destekleyebilir.

Tüm invaziv tümör alanı değerlendirilir. Tek tek dağılan ya da agregatlar hâlindeki immün hücrelerin ne oranda bir alanı

Toplam canlı tümör hücre sayısı	=	Alandaki tümör hücre sellülaritesi (%)	x	Tahmini tümör hücre sayısı (Objektif büyütme düzeyine göre belirlenen tahmini hücre sayısı- (Tablo 3))	x	20µm
						Tümör hücresi ort. çapı (µm) (lenfosit nükleus çapı referans alınarak belirlenen)

Tablo III: Kombine pozitif skor (CPS) belirlenirken değerlendirmeye dahil etme ve hariç tutma kriterleri.

Değerlendirme kapsamında		Değerlendirme dışı
Tümör hücreleri	- x20'de ikna edici olan, herhangi bir şiddette parsiyel veya komplet membranöz boyanma gösteren sağlam tümör hücreleri - Yüksek dereceli PÜK veya CIS alanları	- Hiç boyanmayan veya sadece sitoplazmik boyanma gösteren tümör hücreleri - Nekrotik tümör alanları - Düşük dereceli PÜK alanlarındaki tümör hücreleri
İmmün hücreler	- x20'de ikna edici olan, herhangi bir şiddette membranöz ve/veya sitoplazmik boyanma gösteren tümör içerisinde veya tümöre hemen komşu stromada yer alan mononükleer inflamatuvar hücreler (lenfositler ve makrofajlar)	- Tümörle doğrudan ilişkisi olmayan, normal alanlarda ülser/erozyon alanları çevresinde yer alan pozitif mononükleer inflamatuvar hücreler - BCG ilişkili granülom yapısındaki pozitiflik - Nötrofiller, eozinofiller ve plazma hücreleri
Diğer hücreler	- Değerlendirme dışı	- Normal hücreler, stromal hücreler (fibroblastlar da dahil), nekrotik hücreler, sellüler debris

PÜK: Papiller ürotelyal karsinoma, CIS: Karsinoma in-situ

kapladığı belirlenir. Nekroz alanı ve lamina propriadaki tümör dışı lenfoid agregatlar dahil edilmez. Lenf nodu metastazlarında değerlendirme yaparken zemindeki lenfoid parankim değerlendirmeyi güçleştirir.

ÜK'da hangi skorlama yöntemi öncelikli tercih edilmelidir?

Çalışmalar, ÜK'da PD-L1 skorlama yöntemlerinden özellikle CPS'nin daha yüksek oranda pozitiflik saptayabildiği yönündedir. Bu bulgu, CPS'nin, doğası gereği TPS ve IC'ye kıyasla daha geniş bir hücre popülasyonunu —tümör hücreleriyle birlikte immün hücreleri de— hesaplama dahil etmesiyle ilişkilidir. Bu nedenle ÜK'larda PD-L1 test raporlamasında CPS değerlendirme sonucuna mutlaka yer verilmesi önerilir. Özellikle, yukarıda belirtildiği gibi, immünoterapi idame tedavisi için FDA ve EMA'nın PD-L1 testi pozitifliğini ön koşul görmediği ve PD-L1 pozitiflik ön koşulunun ülkemize özgü ilaç ruhsatı sebepli bir limitasyon olduğu gerçeği göz önünde bulundurulduğunda, daha fazla hastanın tedaviden fayda görebilmesi için, skorlama yöntemi seçimi özellikle önem kazanmaktadır (8).

PD-L1 test sonucu raporlanırken, çalışılan materyalin ne olduğu, hangi antikorun ve platformun kullanıldığı, değerlendirme yöntemi ve sonuçlarının açıkça belirtilmesi gerekmektedir.

Materyal tipi (Biyopsi veya rezeksiyon / Primer veya metastaz / Doku veya hücre bloğu), değerlendirilebilir hücre sayısı, yöntem (Klon, platform, protokol), skorlama (Tanımı ve sonucu: TPS, CPS, IC) raporda yer almalıdır.

PD-L1 ekspresyonunun eşik değerin altında kaldığı durumlarda, farklı yöntemlerle değerlendirme tekrarlanmalıdır (başka kesitten boyanın tekrarı veya tekrar değerlendirme yapma gibi seçenekler mutlaka denenmelidir).

PD-L1 test sonucu raporlanırken, PD-L1 skoru belirtilmeli; ancak pozitif/negatif şeklinde bir ifade kullanılmamalıdır. Eşik değerlerin zaman içinde veya farmasötik ajana göre değişebildiği veya ilaç ruhsatlarının/geri ödeme kriterlerinin güncellenmediği gerçeğinden yola çıkılarak, hastaların tedavi seçene-

ğinden faydalanamamasına yol açabilecek, kısıtlama getirecek pozitif-negatif gibi kesin beyanlardan kaçınılmalıdır.

5.2.2.2. Mismatch Repair (MMR) / Mikrosatellit İstabilite (MSI) Testi

MSI; immünoterapiye yanıtı öngören güçlü bir biyobelirteç olarak kabul edilir ve MMRd olarak tanımlanan, MSH2 ("mutS homologue 2"), MSH6 ("mutS homologue 6"), PMS2 ("postmeiotic segregation increased 2"), MLH1 ("mutL homologue 1") gibi DNA MMR genlerindeki patojenik kalıtsal veya sporadik mutasyonlar, epigenetik silinme (en sık MLH1 promotor metilasyonu) gibi değişikliklerin sonucudur. DNA'daki hataların (nükleotid eşleşme hataları, insersiyon, delesyon gibi) düzeltilemediği MMRd durumu, mutasyonların birikmesine neden olur ve neoantijenler oluşur. Tümörde neoantijenlerin artışı daha kuvvetli bir antitümöral bağışıklık yanıtına sebep olur ve bu da "Programlanmış hücre ölümü reseptörü-1/ligand 1 (PD-1/L1)" hedefli ICI tedavisine daha iyi bir yanıt alınmasını sağlar. MMRd durumu DNA'daki tekrar eden mikrosatellit bölgelerinde uzunluk değişikliklerine (nükleotid kayıp ve kazanımları nedeniyle), bunun sonucu olarak da MSI'ne neden olur. Tümörde MMRd veya yüksek MSI (MSI-Y) durumu, ICI tedavisine uygun hasta belirlenmesinde prediktif değere sahiptir.

2017 yılında, FDA, daha önce tedavi almış ve alternatif tedavi seçeneği bulunmayan MMRd/MSI-Y pozitif, rezektabl olmayan / metastatik solid tümörlerin tedavisi için Pembrolizumab'ı (anti PD-1 ilaç) onaylamıştır. Bu, FDA'nın, doku veya tümörün olduğu yerden bağımsız ("tissue/site-agnostic") ilk onayıdır. MMRd ve MSI-Y olan metastatik ürener sistem kanserlerinin, ICI tedavisine objektif yanıt oranları %50–%90 arasında bildirilmiştir.

MMRd/MSI-Y durumu, mesane ÜK'da %1-2, üst ürener kanal ÜK'da ise %3 gibi düşük bir oranda izlenmektedir. Lokalize hastalıkta, metastatik olanlara göre MMRd/MSI-Y insidansı daha yüksektir. Ancak başka tedavi seçeneği olmayan hastalar için MMRd/MSI-Y durumunun değerlendirilmesi, küçük bir

hasta grubunda da olsa, tedavi alternatifi yaratmak açısından önemli fayda sağlayabilir.

MMRd durumunu belirlemede IHK incelemesi ile MLH1, MSH2, PMS2 ve MSH6 proteinlerinin nükleer ekspresyonunun araştırılması altın standarttır.

MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2 genleri; MMR mekanizmasının temel komponentleridir. Bu genlerin kodladığı MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2 proteinleri, iki ayrı heterodimer kompleks şeklinde işlev görür: MLH1–PMS2, MSH2–MSH6.

MLH1 ve MSH2, heterodimer komplekslerinin zorunlu eşleridir. PMS2, yalnızca MLH1 ile; MSH6, yalnızca MSH2 ile heterodimer oluşturabilir. Ancak, MLH1 ve MSH2 diğer bazı MMR proteinleriyle de (MSH3, MLH3, PMS1 gibi) heterodimer oluşturabilir. Bu nedenle; MLH1 ve MSH2’de meydana gelen mutasyonlar, genellikle hem mutasyona uğramış proteinin hem de onun eşi olan PMS2 ve MSH6’nın proteolitik yıkımı ile sonuçlanır. Buna karşılık, PMS2 veya MSH6’daki mutasyonlar, primer eşin proteolitik yıkımına yol açmayabilir (alternatif eşleri olduğundan).

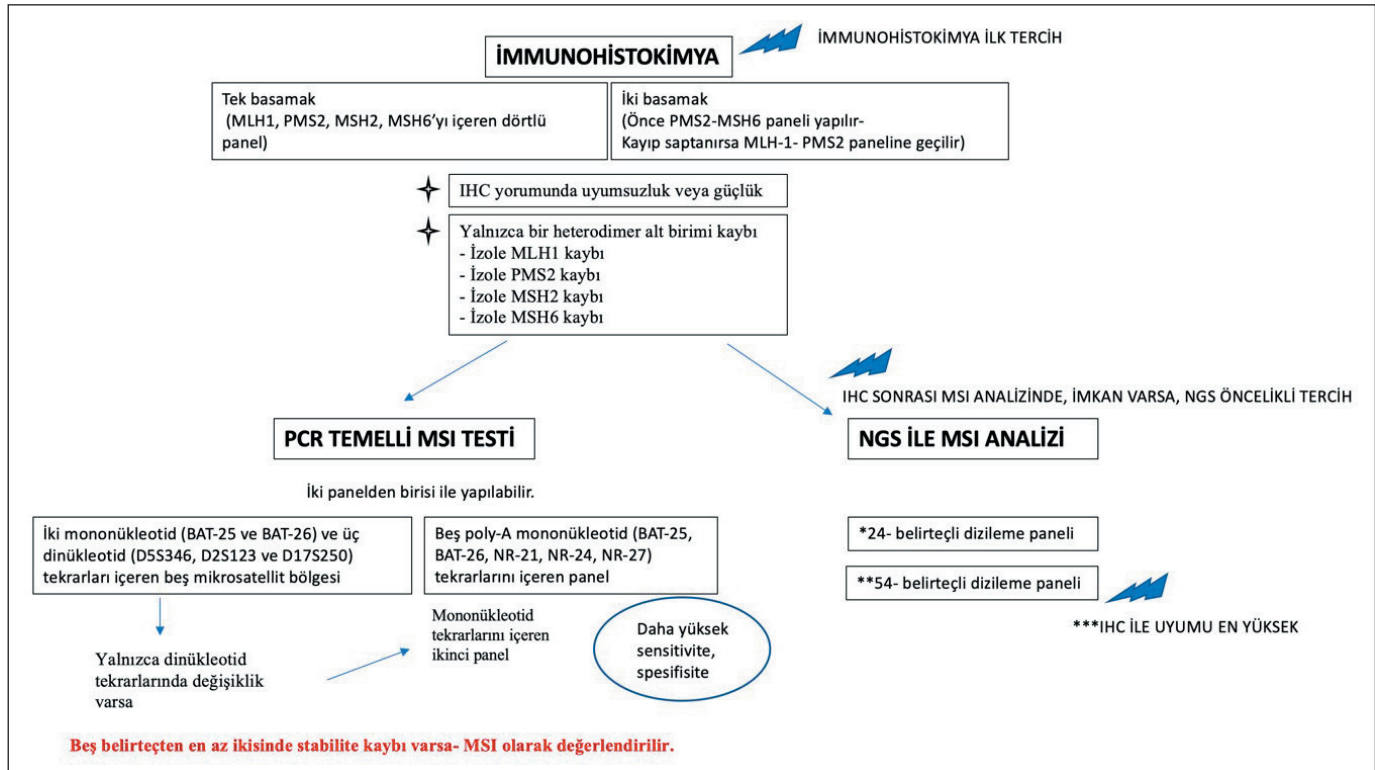
Normal hücrelerde, DNA MMR mekanizması, replikasyon sırasındaki hataları MSH2/MSH6 kompleksi aracılığıyla tanıyıp; MLH1/PMS2 kompleksi aracılığıyla onararak genom bütünlüğünü sağlar. MMRd durumunda, DNA replikasyon hatalarının onarılamaması, mikrosatellit bölgelerinde uzunluk değişikliklerine neden olur.

IHK ile MMRd değerlendirmesi zaman ve maliyet avantajı nedeniyle genellikle ilk tercih edilen yöntemdir (Şekil 8). İmmünohistokimyasal olarak, tümör hücrelerinde dört ana MMR proteininden (MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2) biri ya da daha fazlasının nükleer kaybı durumu MMRd olarak isimlendirilir. Bu panel, başlangıçta kolorektal karsinom için geliştirilmiştir; ancak mesane ÜK dahil olmak üzere diğer solid tümörlerde de MMRd durumunun tespiti için kullanılmaktadır.

Üst üriner kanal ÜK ile mesane ÜK arasında MMR protein kaybı açısından farklılık gözlemlenmiştir. Üst üriner kanal ÜK’da en sık kaybedilen ya da değişime uğrayan MMR proteinleri ve/veya genleri (hem somatik hem de germline düzeyde) MSH2 ve MSH6 iken, mesane ÜK’da bu kadar belirgin bir eğilim yoktur. Bu durum, %90 oranında MLH1 ve MSH2 gen kaybı ile ilişkili olan MMRd kolorektal kanserler ile farklılık oluşturmaktadır.

IHK yönteminin sınırlı kalabildiği durumlar vardır. Teknik (başta doku fiksasyon problemi olmak üzere preanalitik etkenler) veya biyolojik (gen fonksiyonunu bozan ancak protein ifadesinin korunduğu, MMR “missense” mutasyonları) nedenlerden ötürü, MMR onarım sisteminin gerçek durumunu yansıtmayan pozitif ya da negatif boyanma sonuçları verebilmektedir.

Değerlendirme sırasında, normal mukoza, lenfositler veya stromal hücreler gibi internal kontrolün pozitif olması zorunludur. Nükleer boyanma spesifik kabul edilir ve sitoplazmik,



Şekil 8: Ürotelyal karsinomda dMMR/MSI testi algoritması.

noktasal (dot-like) ya da perinükleer boyanma gibi boyanma paternleri değerlendirmeye alınmaz.

Pozitif boyanma ile birlikte işlevsel ya da işlevsiz MMR aktivitesine yol açabilecek diğer biyolojik nedenler, PMS2 veya MSH6 eksikliği olup, bunların diğer sekonder MMR partnerleri (örneğin MSH3'ün MSH6 yerine, MLH3 ya da PMS1'in PMS2 yerine geçmesi) tarafından telafi edilmesiyle ilgilidir.

Sonuçta, dört antikorun (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) birlikte ya da sırasıyla kullanılması ve İHK sonuçlarının yorumunda şüphe duyulan durumlarda MSI-PCR testine geçilmesi gerekmektedir. PMS2/MSH6 ile yapılan iki antikorla tarama yöntemi, maliyet-etkin bir alternatif olarak düşünülebilir; ancak bunlarda kayıp saptanması hâlinde ikinci basamak olarak MLH1/PMS2 incelemesine geçilir. Böylece ilk basamakta kayıp bulunan proteinin heterodimer eşi değerlendirilir ve eşinin de kaybı durumu MMRd olarak değerlendirilir. Eşinin kaybı yoksa; yani heterodimer alt birimlerinden sadece birinin kaybı varsa, MSI-PCR gibi doğrulayıcı testlere geçilmesi gerekir. İzole PMS2 veya MSH6 protein ekspresyon kaybı olan olgular, bu genlerde somatik varyantları taşıyor olabilir.

Bu bulgular; İHK incelemesinde, dört MMR proteininin hepsinin değerlendirilmesinin önemini ortaya koymaktadır. Dört antikorun aynı anda ya da iki basamak hâlinde değerlendirilmesi kararı merkez tarafından belirlenebilir.

İHK, biyopsi veya cerrahi spesmenlerde uygulanabilir. Biyopside yapılması fiksasyon probleminin daha az olması, cerrahi spesmenin tercih edilmesi ise özellikle MSH6 incelemesinde daha sık karşılaşılan boyanma heterojenitesi problemi konusunda daha doğru sonuç vermesi gibi avantajlar sağlar.

MSI moleküler testi, İHK yorumunda uyumsuzluk/güçlük olduğunda veya yalnızca bir heterodimer alt biriminin kaybı (örneğin yalnızca MLH1 veya yalnızca PMS2, her ikisi değil) durumunda endikedir.

MSI testi için, PCR tabanlı moleküler test veya NGS yöntemi uygulanabilir. Kolorektal kanserlerde bu basamak için PCR tabanlı moleküler test öncelikle tercih edilmektedir ve kolorektal kanserler için standardize edilmiş bir panel olan Promega MSI testi yaygın olarak uygulanmaktadır. Lynch sendromuna bağlı kolorektal kanser hastalarının tanımlanmasında yaygın olarak kullanılan beş MSI belirtecini (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 ve MONO-27) içerir. Kolorektal kanser grubu için geliştirilmiş olan bu panel, ÜK da dahil olmak üzere, diğer solid tümörlerde de kullanılmaktadır, ancak kolorektal dışı kanserlerde MMRd tespit etmede İHK kadar iyi sonuç veremeyebilir.

MSI-PCR testinde iki farklı panel seçeneği bulunmaktadır.

- Panel 1 (Bethesda paneli): İki mononükleotid (BAT-25 ve BAT-26) ve üç dinükleotid (D5S346, D2S123, D17S250) tekrarları içeren beş mikrosatellit bölgesi değerlendirilir.

- Panel 2: Beş poly-A mononükleotid (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24, MONO-27) tekrarlarını içerir.

Beş poly-A içeren panel (Promega MSI testi), daha yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğu için önerilen paneldir. MSI, beş belirteçten en az ikisinde stabilite kaybı olarak tanımlanır. Sadece bir lokusta değişikliğin izlendiği düşük mikrosatellit instabilitesi (MSI-D) durumunun klinik ve biyolojik sonuçları belirsizdir.

Eğer yalnızca dinükleotid tekrarlarında değişiklik gözlenirse, mononükleotid tekrarları içeren ikincil bir panel (örneğin BAT40) ile test yapılmalıdır.

Lynch sendromu ile ilişkili ÜK'dan oluşan küçük bir kohortta Promega MSI testinin uygulandığı bir çalışmada, tümörlerin yalnızca %23'ünün MSI-Y olduğu, buna karşın %90'ının İHK ile MMR proteini kaybı gösterdiği tespit edilmiştir (9). Bu durum, ÜK'da PCR MSI analizinin uygun bir yöntem olmayabileceğini düşündürmektedir.

NGS yönteminin başlıca avantajı, MSI analizi yanısıra TMB değerlendirmesine de olanak tanınması ve çok sayıda mikrosatellit / genin aynı anda dizilenmesini sağladığından immünoterapi dışındaki tedaviler için de hedef olabilecek değişikliklerin tanımlanabilmesidir.

NGS incelemesinin sadece mononükleotid tekrarlarında değil, iki ila altı bazdan oluşan ve/veya karmaşık mikrosatellitleri içeren daha geniş mikrosatellit dizilerinde yapılması, şu anda bilinen MMRd mekanizmaları yanısıra, yeni DNA onarım bozukluklarının ortaya çıkarılmasına katkı sağlayabilir.

NGS tabanlı MSI analizinde iki farklı MSI belirteç seti geliştirilmiştir. Birisi kolorektal kanser için geliştirilmiş 24 belirteçlik panel (10), diğeri ise "konstitüsyonel MMR eksikliği sendromu" olan bireylerin normal (neoplastik olmayan) kan örneklerinin tüm genom dizilemesinden türetilmiş 54 MSI belirteçli paneldir (11). Lynch sendromu ile ilişkili ürotelyal kanserlerde yapılan bir çalışmada, İHK ile %88,7 oranında MMRd saptanmıştır. Farklı MSI moleküler test yöntemlerinin (Promega MSI testi, 24 ve 54 belirteçli NGS panelleri) İHK ile uyumu karşılaştırıldığında; Promega testi %70,6, 24-belirteçli dizileme paneli %87,5 ve 54-belirteçli dizileme paneli ise %90,3 oranında uyum göstermiştir. İHK ile 54-belirteçli panel arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu çalışmanın sonucuna göre, ÜK'da MMRd/MSI analizi için İHK ile birlikte 54-belirteçli dizileme panelinin daha yüksek doğruluk gösterdiği belirlenmiştir (12).

Kanser yatkınlık sendromu olan Lynch sendromu; *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* veya *PMS2* MMR genlerindeki patojenik germline varyasyonlardan kaynaklanmaktadır. Lynch sendromunda kolorektal ve endometriyal kanser yüksek riski yanı sıra, hem üst (üreter ve renal pelvis) hem de alt (mesane) üriner sistem ÜK gelişme riski artar. ÜK'ler, bu popülasyonda en sık görülen üçüncü kanser türüdür. En yüksek ÜK riski, *MSH2* geninde patojenik germline mutasyon içeren hastalarda görülür; bu

hastalarda 70 yaşına kadar olan kümülatif risk oranları, üst üriner sistem kanseri (üreter ve renal pelvis) için %5,8–6,9, mesane kanseri için ise %2,6–12,3'tür. MLH1 ve MSH6 patojenik varyantı taşıyanlarda sırasıyla kanser gelişme risk oranı azalır.

NCCN kılavuzlarında, germline MMR gen değişiklikleri saptanan bireylerde, aile öyküsü yoksa, ÜK gelişimi açısından rutin takip önerilmemektedir.

5.2.2.3. Moleküler Subtiplendirme

Tümörün moleküler profillemesi, nüks/ progresyon riski ve tedavi yanıtı açısından daha ileri bir risk stratifikasyonu sağlayabilmektedir. Moleküler olarak heterojen tümörler olan ÜK'lar için de gen ekspresyon profiline dayalı çeşitli moleküler sınıflandırmalar geliştirilmiştir. 2019 yılında KIMK'leri için altı moleküler alt tipten oluşan bir konsensüs sınıflaması oluşturulmuştur: Lüminal papiller, Lüminal-spesifiye edilmemiş, Lüminal-kararsız, Stroma-zengin, Bazal/skuamöz, Nöroendokrin benzeri. Lüminal-kararsız, Bazal/skuamöz ve Nöroendokrin benzeri alt grupların, diğerlerine göre daha kötü sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (13). Bazal/skuamöz tümörlerin, yüksek EGFR ekspresyonu nedeniyle, antiEGFR tedavilerden, immünoterapiden ve neoadjuvant kemoterapiden; Lüminal papiller alt tipteki ÜK'ların ise sıklıkla barındırdığı FGFR3 gen anormallikleri nedeniyle, anti FGFR tedaviden fayda gördüğü anlaşılmıştır. Nöroendokrin benzeri karsinomların tedavisi ise kemoterapi kombinasyonlarına dayanmaktadır; ancak bazı olgular ICI tedavisine de yanıt vermektedir.

Ancak ÜK moleküler sınıflaması rutin uygulamaya girememiştir. Etkinliğinin henüz prospektif olarak doğrulanmamış olması, intratümöral genetik heterojenite nedeniyle tümörün belirli bir moleküler kategoriye alınabilmesinin zorluğu, mo-

leküler alt tipinin belirlenmesi için kullanılan moleküler testlerin yüksek maliyeti gibi sebepler moleküler alt tiplendirmenin rutin uygulamaya girmesini zorlaştırmaktadır (14).

5.2.3. Hedeflenmiş Tedavi İçin Uygun Hasta Seçimi

5.2.3.1. FGFR Testi

Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörü (FGFR), dört transmembran reseptörden (FGFR1–4) oluşan bir tirozin kinaz reseptör ailesidir. PI3K-AKT, PKC ve Ras/MAPK yollarının indüksiyonu yoluyla hücrel proliferasyonu ve anjiyogenezi uyarır. Dolayısıyla anormal FGFR sinyalizasyonu; kanser hücreleri proliferasyonunu ve anjiyogenezi uyarak tümör gelişimine katkıda bulunur (15).

Çeşitli kanser türlerinde FGFR değişiklikleri gözlenmiştir ve bu değişiklikler en yaygın olarak ÜK'de (%32 oranında) görülmektedir. KLOMK'de %70, KIMK'de ise %10-15 oranında izlenmektedir. ÜK'lerde en sık rastlanan FGFR değişiklikleri; sırasıyla mutasyonlar (%18,3), gen amplifikasyonları (%8,7) ve translokasyonlardır (%7,1) (16).

Erdafitinib, FGFR (FGFR1-4) tirozin kinaz inhibitörüdür. Lokal ilerlemiş veya metastatik, platin bazlı kemoterapiye dirençli ve FGFR2/3 mutasyon veya füzyonu taşıyan ÜK'lerin tedavisinde kullanımı FDA tarafından yakın zamanda onaylanmıştır. Bu ilaca yanıt oranı yaklaşık %40 olarak bildirilmiş ve immünoterapi sonrası bu oranın %59'a kadar çıktığı gözlemlenmiştir (17). Özellikle mesane ÜK'nun Lüminal papiller moleküler alt tipinin, FGFR3 gen değişiklikleri açısından zengin olduğu ve Erdafitinib'e yüksek düzeyde yanıt verdiği bildirilmektedir.

Kanser dokusunda tespit edilen FGFR2/3 genlerine ait aşağıdaki "hot spot" değişiklikler FGFR inhibitör tedavisine duyarlılık açısından öngörü sağlar (Şekil 9).



Şekil 9: Anti FGFR tedavisi için uygun hasta seçimi.

SNV: Tek nükleotid varyantı, CNV: Kopya sayısı varyasyonu, RT-PCR: Ters Transkripsiyon- Polimeraz Zincir Reaksiyonu, ctDNA: Dolaşımdaki tümör DNA'sı.

FGFR3 geninde nokta mutasyonları: Ekzon 7'de- p.S249C (c.746C > G), p.R248C (c.742C > T) ve Ekzon 10'da- p.G370C (c.1108G > T), p.Y373C (c.1118A > G) mutasyonlarıdır.

Füzyonlar: *FGFR3::TACC3* v1, *FGFR3::TACC3* v3

Daha az sıklıkta görülen değişiklikler: *FGFR3::BAIAP2L1*, *FGFR2::BICC1*, *FGFR2::CASP7*

Yukarıdaki genetik değişiklikler arasında özellikle *FGFR3* mutasyonlarını içeren ÜK'ların anti *FGFR* tedavisine iyi yanıt verdiği gösterilmiştir.

Bunlar dışında çok daha nadir görülen ve klinik önemi henüz belirsiz olan *FGFR* gen değişiklikleri de raporlanmıştır. Ancak klinik önemleri henüz bilinmediğinden, bu değişiklikler Erdafitinib tedavisine uygun hasta belirleme sürecine dahil edilmemektedir.

Çalışmalarda aynı hastanın primer tümörü ile metastatik lezyonu arasında *FGFR3* değişikliği açısından %26 oranında uyumsuzluk tespit edilmiştir. Bu nedenle *FGFR* testinin mümkünse tedavi öncesinde alınmış en güncel tümör örneğinden yapılması önemli bir noktadır (Şekil 9).

FGFR3 ve *TACC3*, kromozom 4p16 üzerinde birbirine çok yakın mesafede olan genler olduğundan, FISH bu füzyonun teşhisi için sağlıklı bir yöntem olmayabilir. Bu nedenle RNA tabanlı dizileme (RNAseq), *FGFR* füzyonlarını teşhis etmek için öncelikli tercih olmalıdır.

5.2.3.2. HER-2 Testi

HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) geni tirozin kinaz reseptör proteini kodlar ve hücre proliferasyonunu uyaran sinyal iletim yollarını düzenler. HER2 protein overekspresyonu, karsinogenez ve tümör progresyonuna doğrudan katkı sağlar ve sıklıkla temel mekanizması gen amplifikasyonudur. Ancak ÜK'da yapılan çalışmalar; polizomi 17, nokta mutasyonları, translokasyonlar veya transkripsiyonel yukarı düzenlenme ("upregulation") gibi diğer mekanizmaların daha sık olarak HER2 protein overekspresyonuna zemin hazırladığını, gen amplifikasyonunun ise daha nadir bir sebep olduğunu göstermiştir.

Tüm bu mekanizmalardan bağımsız olarak, mesane ÜK da dahil, HER2 overekspresyonu gösteren, rezeksiyonu mümkün olmayan ya da metastatik solid tümörlerde anti-HER2 tedavi FDA tarafından onaylanmıştır. ÜK'lar, HER2 overekspresyonunun sık görüldüğü tümörler arasındadır. Bu özellik, özellikle lümenal moleküler profile sahip üst üriner sistem ÜK'da mesane tümörlerine göre daha belirgin olabilir.

HER2 hedefli tedaviler 2 çeşittir:

1. Anti HER2 tedaviler (Trastuzumab ve pertuzumab gibi monoklonal antikorlar ve Apatinib, Neratinib, Lapatinib gibi tirozin kinaz inhibitörleri): Bu tedavilerin ÜK'da başarı oranı meme ve mide kanseri kadar yüksek değildir. HER2 overekspresyonu gösteren hastalara (IHK skoru +3

olan veya IHK skoru +2 olup, HER2-ISH pozitif olanlar) uygulanır.

2. Antikor ilaç konjugat tedavisi: Ürotelyal karsinomada umut verici yeni tedavi seçeneklerinden birisidir. HER2 skoru 0 veya +1 olan olgular, anti HER2 tedavi için uygun aday değildir. Ancak IHK skoru +1 olan olgular (Düşük HER2 skoru gösteren), hatta skor 0 olanlar da, belli bir oranda antikor ilaç konjugat tedavisinden fayda görebilmektedir (18, 19).

HER2 testi için uygun dokunun belirlenmesi:

ÜK'da HER2 ekspresyonunun yüksek oranda heterojenite göstermesi önemli bir problemdir. Bu nedenle, HER2 testi, mümkünse, biyopsi/transüretal rezeksiyon materyali yerine sistektomi materyalinde uygulanmalı ve histolojik alt tipler de dikkate alınarak testin yapılacağı blok belirlenmelidir.

HER2 testinin uygulanması ve değerlendirilmesi:

HER2 değerlendirmesi için mesane kanseri özelinde uluslararası standart bir test yöntemi veya yorumlama kriteri henüz yoktur. Mide karsinomu için oluşturulmuş HER2 testi rehberinin kullanımı önerilmektedir (20) (Şekil 10).

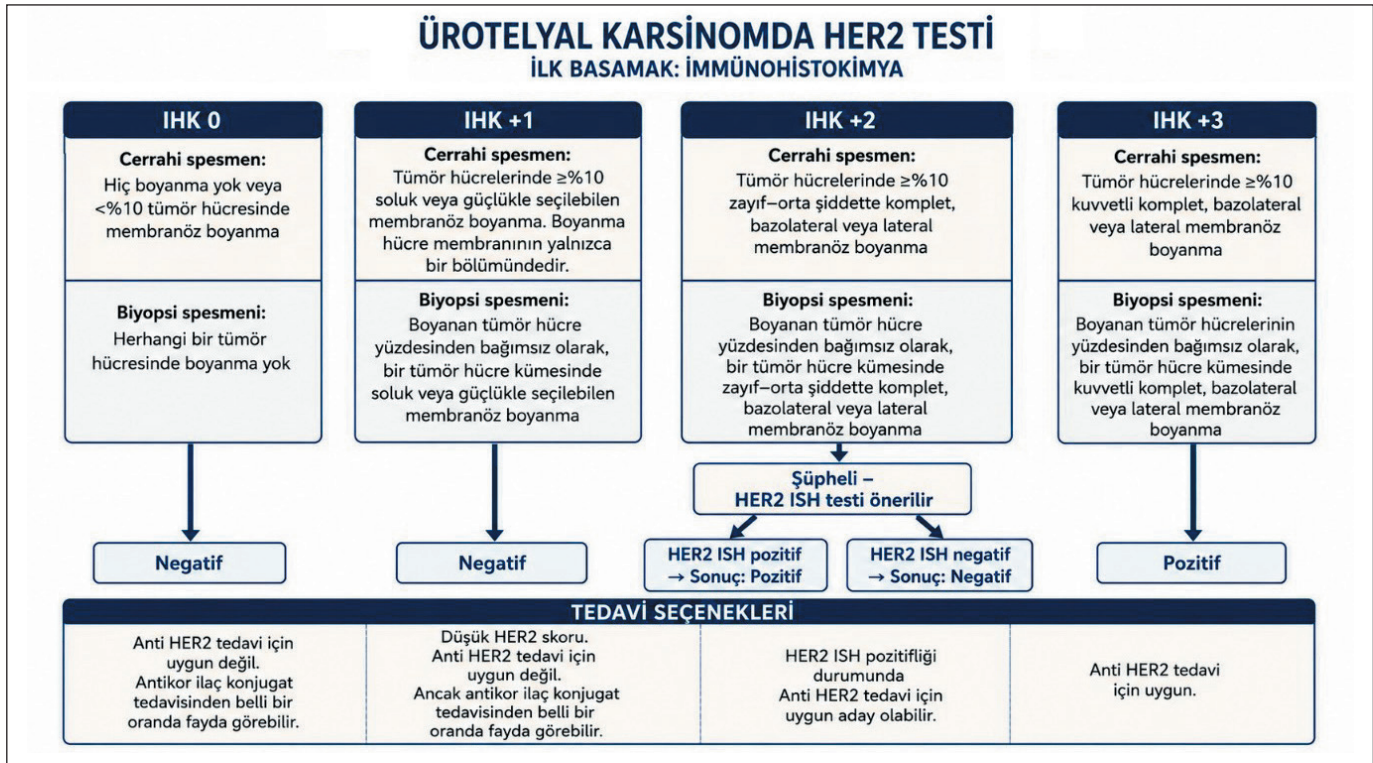
Mesane kanserinde HER2 overekspresyonu alternatif mekanizmaları arasında mutasyonlar %12 oranında görülür ve S310F ve S310Y mutasyonları en sık görülenlerdir. HER2 gen mutasyonu ile anti HER2 tedavilerin etkinliği arasındaki ilişki henüz netlik kazanmamıştır.

6. BÖBREK KANSERİ İÇİN MOLEKÜLER TESTLER

6.1. Moleküler Testlerin Böbrek Kanserlerinin Klinik Yönetimindeki Rolü

Moleküler incelemeler, çok sayıda alt tipi barındıran renal hücreli karsinom (RHK) hakkındaki anlayışımızı ve bu kanserlerin yönetimini köklü bir şekilde değiştirmiştir. Geleneksel histopatolojik sınıflandırma klinik açıdan önemli bilgiler verse de, moleküler analiz tümör biyolojisini daha ayrıntılı şekilde anlamamızı sağlar. Böylece daha doğru tanısal yaklaşım ve prognoz öngörüsü sağlarken, hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine de katkıda bulunur. Spesifik moleküler değişiklikleri belirleyerek, bir tümörün nasıl davranacağı ve tedaviye nasıl yanıt vereceği hakkında öngörülerde bulunabilmek mümkün olabilmektedir. Kapsamlı moleküler incelemeler, RHK'ların sınıflandırmasına önemli değişiklikler getirmiştir.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 5. baskıya (2022) kadar papiller RHK'nın tip 1 ve tip 2 olarak tiplendirilmesi önerilmekteydi ve rutin patoloji pratiğinde zorluk yaşanan bir uygulamaydı. Kanser genom atlas projesi (TCGA) kapsamında saptanan bulgularla, Tip 2 olarak değerlendirilmekte olan papiller RHK'ların moleküler olarak heterojen olduğu ve birden fazla RHK alt tipini kapsayan şemsiye bir tanımlama olduğu fark edilerek, PRHK alt tiplendirmesi terk edildi. DSÖ 5. baskı (2022) ile morfolojik özelliklerine göre tanımlanan RHK alt



Şekil 10: HER2 hedefli tedaviler için uygun hasta belirlenmesi.

IHK: Immunohistokimya, ISH: In-situ hibridizasyon.

tipleri yanı sıra, moleküler özelliklerine göre tanımlanan yeni RHK alt tipleri de sınıflamaya eklenmiştir. Genomik incelemelerin hızla ilerlemesiyle birlikte, her geçen gün yeni RHK alt tipleri tanımlanmakta ve RHK sınıflaması giderek genişlemektedir.

Bu gelişmelere paralel olarak, onkositik renal neoplaziler grubunda da, onkositom, eozinofilik tip kromofob RHK gibi önceden yer alan histolojik alt tiplerin yanına eozinofilik solid kistik RHK (ESK RHK), düşük dereceli onkositik tümör (LOT) ve eozinofilik vakuole tümör (EVT) gibi yeni histolojik alt tipler eklenmiştir.

Moleküler değişikliklerin büyük kısmının IHK yansıması/ ipuçlarının olması ve ilgili antikorların laboratuvarlarımızda teminini sağlamamız histolojik tiplendirmede önem taşımakla birlikte, IHK çalışmalarının yeterli olmadığı ve moleküler inceleme gerektiren durumlar da nadir değildir (21).

6.2. Tanısal Yaklaşım İçin Yapılan Moleküler Testler (Şekil 11,12): Moleküler olarak Tanımlanmış RHK Alt Tiplerinin Belirlenmesi

6.2.1. TFE3-Rearanje RHK

Genç erişkin, pediatrik yaş grubunda daha sık görülmektedir. Morfolojik öne çıkan özellikleri: Baskın olarak papiller yapılanma gösteren, geniş hacimli "berrak"/soluk sitoplazmalı hücreler, belirgin nükleol, psammomatöz kalsifikasyonlardır.

IHK incelemede EMA ve keratin ile ekspresyon kaybı, TFE3(+) (diffüz, kuvvetli nükleer ekspresyon), GPNMB (+), Katepsin K, HMB45, MelanA +/- saptanmaktadır.

Moleküler test olarak TFE3 gen rearanjmanı uygulanabilir.

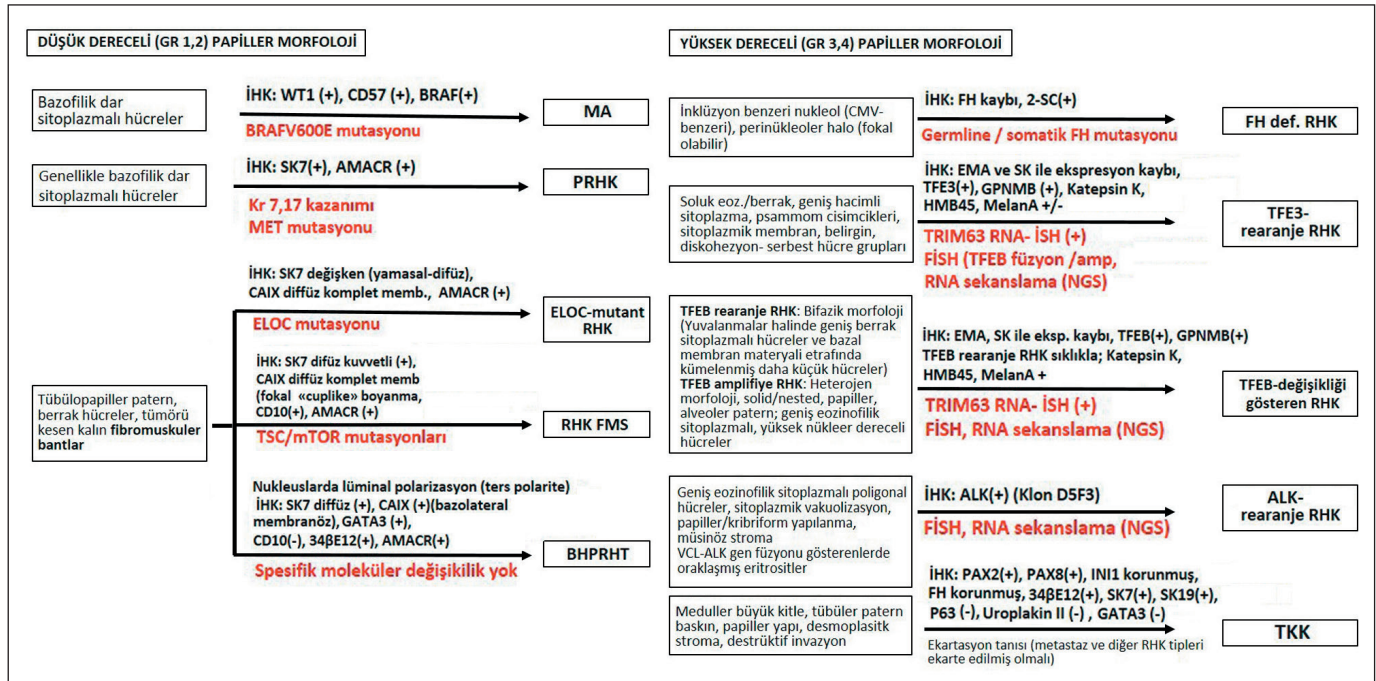
- TFE3 break-apart FISH. TFE3 geninde (Xp11.2) kırılmayı gösterir; füzyon partnerinden bağımsız olarak rearanjmanı saptar. Ancak translokasyonun partner genini belirlemez.
- RNA füzyon paneli (NGS tabanlı): TFE3'ün füzyon partnerini de (ör. SFPQ, ASPSCR1, NONO, RBM10, MED15, KHSRP vb.) tanımlar.

6.2.2. TFEB Değişikliği Gösteren RHK (TFEB Rearanjmanı Gösteren RHK ve TFEB Amplifikasyonu Gösteren RHK)

6.2.2.1. TFEB Rearanjmanı Gösteren RHK

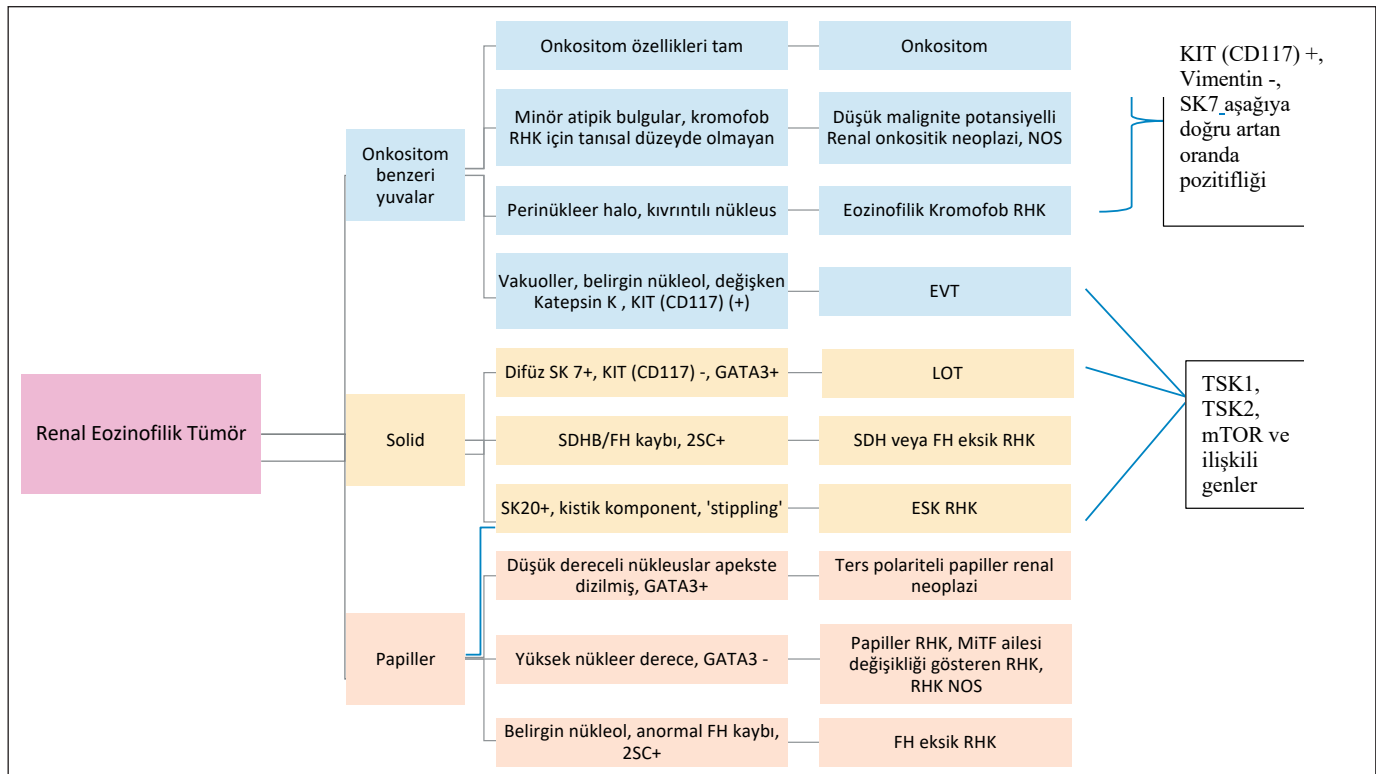
Morfolojik öne çıkan özelliği bifazik morfolojidir (Yuvalanmalar halinde geniş berrak sitoplazmalı hücreler ve bazal membran materyali etrafında kümelenmiş daha küçük hücreler).

IHK incelemede EMA, sitokeratin (SK) ile ekspresyon kaybı, TFEB (+), GPNMB (+), sıklıkla Katepsin K, HMB45, MelanA + reaksiyon görülür.



Şekil 11: Papiller morfolojideki renal tümörlerde algoritmik tanısal yaklaşım.

İHK: İmmünohistokimya, **MA:** Metanefrik adenoma, **PRHK:** Papiller Renal Hücreli Karsinom, **RHK FMS:** Fibromyomatöz stroma içeren Renal Hücreli Karsinom, **CCPRCT:** Berrak hücreli papiller renal hücreli tümör, **FH def. RHK:** Fumarat Hidrataz eksikliği gösteren Renal Hücreli Karsinom, **CDC:** Toplayıcı kanal karsinomu.



Şekil 12: Eozinofilik renal tümörlerin ayırıcı tanısına yönelik algoritmik yaklaşım.

RHK: Renal hücreli karsinoma, **EVT:** Eozinofilik vakuollü tümör, **LOT:** Düşük dereceli onkositik tümör, **ESK RHK:** Eozinofilik solid ve kistik renal hücreli karsinoma, **NOS:** spesifiye edilemeyen (24).

Moleküler testler:

- TFEB break-apart FISH: TFEB geninde rearanjmanı gösterir. Tanı koydurucudur.
- RNA füzyon paneli (NGS): Rearranjmanın partner genini de (ör. MALAT1-TFEB, CLTC-TFEB, ACTB-TFEB vb.) belirler.

6.2.2.2. TFEB Amplifikasyonu Gösteren RHK

Öne çıkan morfolojik özellikleri; heterojen morfoloji, solid/nested, papiller, alveoler patern; geniş eozinofilik sitoplazmalı, yüksek nükleer dereceli hücrelerdir.

IHK incelemede EMA, SK ile ekspresyon kaybı, TFEB (+), GPNMB (+), Katepsin K +/-, HMB45 +/-, MelanA +/-, yaygın CK20 pozitifliği olabilir.

Moleküler test FISH ile *TFEB* gen amplifikasyonunun değerlendirilmesidir.

TRIM63 RNA ISH: "Break-apart" FISH analizleri, çeşitli nedenlerle, belirsiz ("equivocal") veya yanlış negatif sonuçlara yol açabilir. FISH sonuçları negatif olsa bile, *TFE3*- ve *TFEB*-değişikliği gösteren RHK için güçlü morfolojik şüphe bulunan olgularda, *TRIM63* RNA ISH testinin eklenmesi tanısal doğruluğu artırmaktadır (22).

6.2.3. ELOC (TCEB1) Mutasyonu Gösteren RHK

Morfolojik öne çıkan özellikleri; tübülöpapiller patern, berrak hücreler, tümörü kesen kalın fibromusküler bantlardır.

IHK incelemede SK7 değişken (yamasal-difüz), karbonik anhidraz IX (CAIX) diffüz komplet membranöz, AMACR (+) reaksiyon gösterir.

Moleküler test NGS ile ELOC (TCEB1) geninde somatik patojenik mutasyonun gösterilmesidir. Sıklıkla missense mutasyon görülür (ör. p.Tyr79Cys, p.Tyr79Ser vb.). Von Hippel-Lindau (VHL) geninde mutasyon bulunmaması (VHL-wild type) tanıyı destekler.

6.2.4. Fumarat Hidrataz (FH) Eksikliği Gösteren RHK

Morfolojik öne çıkan özellikleri; çeşitli yapısal paternler (papiller, solid, tubulokistik, kribriiform), inklüzyon benzeri makronükleol (CMV-benzeri), perinükleoler halo (fokal olabilir).

IHK incelemede FH kaybı, 2-suksinosistein (2-SC) (+) reaksiyon görülür. Nadiren, FH mutasyonu olsa da, disfonksiyonel protein artıkları tümörlerde fokal veya yamasal FH boyanmasına sebep olabilir. 2-SC'nin de IHK panelinde yer alması bu nedenle önemlidir.

Moleküler test NGS ile germline / somatik FH mutasyonunun gösterilmesidir.

Bu RHK tipi ilk olarak, herediter leiomyomatozis ve renal hücreli karsinom sendromu ile ilişkili olarak, germline FH gen de-

ğişikliğinin bulunduğu ve kutanöz, uterin leiomyomların eşlik ettiği klinik bir tabloda tanımlanmıştır. Daha sonra, sendromun bir parçası olmayan, somatik FH mutasyonu taşıyan sporadik olgular da bildirilmiştir.

6.2.5. Süksinat Dehidrojenaz (SDH) Eksikliği Gösteren RHK

Öne çıkan morfolojik özellikleri; solid, nested, tübüler/alveoler patern, soluk eozinofilik sekret içeren kistler, genellikle düşük nükleer dereceli, soluk eozinofilik, berrak sitoplazmalı hücreler, sitoplazmik inklüzyonlardır. Eozinofilik tip kromofob RHK, onkositom gibi eozinofilik/onkositik tümörlerin ayırıcı tanısına girer.

IHK incelemede CD117(-), CK7(-) reaksiyon, SDHB kaybı saptanır.

Moleküler test germline / somatik SDH mutasyonu (Sıklıkla SDHB) incelemesidir. Büyük kısmı germline SDHB mutasyonu ile karakterli "herediter SDH eksikliği gösteren tümör sendromu" ilişkili görülür.

6.2.6. ALK- Rearranje RHK

Öne çıkan morfolojik özellikleri; geniş eozinofilik sitoplazmalı poligonal hücreler, sitoplazmik vakuolizasyon, solid, papiller/kribriiform yapılanma, müsinöz stroma varlığıdır. VCL-ALK gen füzyonu gösterenlerde oraklaşmış eritrositler görülür.

IHK incelemede ALK (+) (Klon D5F3) reaksiyon izlenir.

Moleküler test FISH (Break-Apart FISH probu) ile ALK geninde (2P23 lokusu) kırılma sinyalinin görülmesidir. Ancak bu yöntem partner geni tanımlamaz. RNA tabanlı NGS (Fusion Panel) Rearranjmanın partner genini de belirler (ör. VCL, TPM3, STRN, EML4, HOOK1, HSP90B1 vb.).

6.2.7. SMARCB1 eksikliği Gösteren RHK

Öne çıkan morfolojik özellikleri; renal medulla merkezli olmasıdır. Baskın olarak orak hücre anomalisi olan genç hastalarda görülür. Mikst yapısal patern (kordonlar, yuvalar, glandüler, tübülöpapiller vs.), pleomorfik, büyük hiperkromatik nükleuslu, belirgin nükleol içeren, eozinofilik hücreler, rabdoid morfoloji olabilir. Sık mitoz, nekroz, desmoplastik stroma, infiltratif sınırlar izlenmektedir.

IHK incelemede; %50 OCT3/4 (+) reaksiyon, SMARCB1 (INI1) kaybı görülür.

Moleküler test; NGS (DNA tabanlı panel) ile SMARCB1 geninde mutasyon, delesyon veya heterozigosite kaybı (LOH) saptanır.

Renal medüller karsinom ile benzer morfolojide, ancak hemoglobinopatinin eşlik etmediği nadir olgular da bildirilmiştir. Bu tümörler, "medüller fenotipli sınıflandırılmamış renal hücreli karsinom" olarak isimlendirilmektedir.

6.3. Kalıtsal Sendromlarla İlişkili Olguları Belirlemek İçin Yapılan Moleküler Testler

Genç yaşta prezantasyon (<46 yaş), bilateralite/multifokalite, aynı böbrekte birden fazla histolojik tipte RHK, ailede RHK hikâyesi gibi durumlarda hastaya herediter sendromlar açısından germline genetik test ve genetik danışmanlık önerilmelidir.

Böbrek tümörleri ilişkili herediter sendromlar:

- Herediter tüberoza sklerozis kompleks (TSK) sendromu: *TSK1/TSK2* genlerinde germline mutasyon
- VHL sendromu: *VHL* geninde (3p25.3) germline mutasyon
- Herediter leiomyomatozis ve RHK sendromu (HLRHK): *FH* germline mutasyonu
- Herediter SDH-eksikliği sendromu: SDH kompleksini kodlayan genlerdeki germline mutasyonlar. En sık *SDHB* mutasyonu görülür; *SDHA*, *SDHC* ve *SDHD* mutasyonları daha nadirdir.
- *Rabdoid tümör predispozisyon sendromu*: *SMARCB1 (IN1)* veya *SMARCA4 (BRG1)* genlerinde germline mutasyon
- *Birt-Hogg-Dubé*: *FLCN* geninde patojenik varyant. Sıklıkla ekzon 11 veya 14'de (örneğin c.1285dupC en sık varyant).
- *BAP1-tümör predispozisyon sendromu*: Germline *BAP1* mutasyonu
- *Herediter papiller RHK (PRHK)*: Germline *MET* mutasyonu

6.4. Prognostik Moleküler Testler

BAP1, *PBRM1*, *SETD2* mutasyonları: Berrak hücreli RHK'de prognostik belirteç olarak önem taşır.

6.5. Terapötik Yaklaşım İçin Yapılan Moleküler Testler

Böbrek karsinomları genel olarak hedeflenebilir alterasyonlar bakımından fakirdir. Ancak bazı spesifik alt tiplerde belli mutasyonlar sık görülmektedir. Örneğin papiller RHK'lerde *MET* mutasyonları izlenebilir. Ayrıca TSK/mTOR yolağı mutasyonu özellikle metastatik evrede MTOR inhibitörü kullanımı açısından önemli bir bulgudur. Bunun yanında germline *VHL* mutasyonu sahibi hastalarda lokalize hastalık varlığında HIF2a inhibitörü kullanımı endikedir (23).

Papiller morfolojideki böbrek tümörlerinde algoritmik yaklaşım Şekil 11'de, eozinofilik morfolojiye sahip tümörlere yaklaşım ise Şekil 12'de özetlenmiştir.

7. TESTİS NEOPLAZİLERİ İÇİN MOLEKÜLER TESTLER

Testis tümörleri; başta germ hücreli tümörler (TGHT) olmak üzere, çok çeşitli tümörleri barındırır (Tablo IV). Bu tümörle-

rin moleküler genetiği ve biyolojisinin anlaşılmasında büyük ilerlemeler kaydedilmiştir; ancak bu gelişmelerin yalnızca sınırlı bir kısmı günlük rutin uygulamalara aktarılabilmektedir. Bu gecikme büyük olasılıkla nadir görülmeleri ve genel olarak iyi prognoza sahip olmalarından kaynaklanmaktadır.

TGHT, testis parankiminde daha kolay tanı alabilirken, metastatik odakta önemli tanı güçlüklerine neden olabilmektedir. TGHT, morfolojik özellikleri bakımından "seminomlar" ve "non-seminomatöz tümörler" olarak iki ana grup altında incelenir. Non-seminomatöz tümör grubunda başlıca yolk sak tümör, embriyonal karsinom ve teratom yer almaktadır. Yolk sak tümör ve teratomun, germ hücreli neoplazi in-situ (GHNIS) ilişkili gelişen post-pubertal ve GHNIS ilişkisi olmayan pre-pubertal formu bulunmaktadır. Prepubertal formlar daha ziyade testise sınırlı ve benign davranışlı iken; post-pubertal TGHT'ler malign seyir gösterir. Bu nedenle prepubertal / post-pubertal TGHT ayırıcı tanısı kritiktir.

Post-pubertal tüm TGHT, klasik olarak izokromozom 12p (i(12p)) değişikliği gösterir. İzokromozom 12p; 12. kromozom kısa (p) kolunun iki kopyasının bulunması ve uzun kolunun (q) kaybedilmesi şeklindeki genetik değişikliği ifade eder. Bir erkek hastada metastatik bir TGHT şüphesi varken klinik ve histolojik özellikler tanısal yeterlilik sağlamıyorsa, (F)ISH ile i(12p) incelemesi ayırıcı tanıda yardımcı olur. Prepubertal TGHT'lerin (teratom ve yolk sak tümör), postpubertal gruptan ayrımında da bu test önemli bir yere sahiptir (25, 26).

7.1. Moleküler Testlerin TGHT Klinik Yönetimindeki Rolü

7.1.1. Tanısal/Prognostik Amaçlı

İzokromozom i(12p) analizi: Özellikle somatik diferansiasyon gösteren metastatik tümörlerde, tümörün TGHT kökenini doğrulamak için uygulanır. GHNIS ile ilişkili olan ve olmayan TGHT'lerin ayrımında tanısal değer taşır. Bu analiz için en sık (F)ISH yöntemi kullanılmaktadır. SNP dizileme (array), qPCR, NGS, metilasyon dizileme yöntemleri (450K veya EPIC platformları) gibi yöntemler de uygulanabilir.

Tüm kromozom 9 kazanımı: Spermatositik tümör için karakteristik bir bulgudur. Spermatositik tümör tanısının doğrulanması ve seminoma ile ayırıcı tanısında yardımcı olur.

miR-371a-3p incelemesi: GHNIS ilişkili veya ilişkisi olmayan teratoma dışı tüm malign TGHT'lerin saptanmasında yardımcı olur (GHNIS ilişkili olmayan yolk sak tümör de dahil olmak üzere). Hem dokuda, hem de sıvı biyopsilerinde (serum, plazma, BOS vs) tesbit edilebildiğinden, TGHT malign komponentlerinin belirlenmesinde sıvı biyopsisinde de saptanabilen moleküler biyobelirteç olarak öne çıkar.

7.1.2. Tedavi Yanıtı İlişkili

p53 mutasyonu ve genomik MDM2 amplifikasyonu, GHNIS ilişkili TGHT'de tedavi direnci ile ilişkili olarak öne çıkan moleküler değişikliklerdir.

Tablo IV: Dünya Sağlık Örgütü 2021 Sınıflamasına göre testis tümörleri.

Germ Hücreli Neoplazi İn-Situ'dan Köken Alan Germ Hücreli Tümörler	<i>Non-invaziv germ hücreli neoplazi</i>	Germ hücreli neoplazi in-situ İntratubuler germ hücreli neoplazi özel formları Gonadoblastom
	<i>Germinom tümör ailesi</i>	Seminom
	<i>Non-seminomatöz germ hücreli tümörler</i>	Embriyonel karsinom Yolk sak tümörü, postpubertal tip Koryokarsinom Plasental yerleşimli trofoblastik tümör Epitelioid trofoblastik tümör Kistik trofoblastik tümör Teratom, postpubertal tip Somatik tip malignite içeren teratom
	<i>Mikst germ hücreli tümörler</i>	Mikst germ hücreli tümörler
Germ Hücreli Neoplazi İn-situ İlişkili Olmayan Germ Hücreli Tümörler	<i>Bilinmeyen tipteki germ hücreli tümörler</i>	Regrese olmuş germ hücreli tümörler
		Spermatositik tümör Teratom, prepubertal tip Yolk sak tümörü, prepubertal tip Testiküler nöroendokrin tümör, prepubertal tip Mikst teratom ve yolk sak tümörü, prepubertal tip
	<i>Leydig hücreli tümör</i>	Leydig hücreli tümör
	<i>Sertoli hücreli tümörler</i>	Sertoli hücreli tümör Büyük hücreli kalsifiye Sertoli hücreli tümör
Testis Seks Kord Stromal Tümörleri	<i>Granüloza hücreli tümörler</i>	Erişkin tip granüloza hücreli tümör Juvenil granüloza hücreli tümör
	<i>Fibroma-tekoma tümör ailesi</i>	Fibroma-tekoma grubundaki tümörler
	<i>Mikst ve diğer seks kord stromal tümörleri</i>	Mikst seks kord stromal tümör Taşı yüzük hücreli stromal tümör Miyoid gonadal stromal tümör Tanımlanamayan seks kord stromal tümör (NOS)

MSI/MMR Durumu, TMB Değerlendirmesi

Platin-tabanlı kemoterapiye dirençli, metastaz/relaps gösteren GHNIS-ilişkili TGHT'de, immünoterapi uygunluğu açısından nadiren yapılabilir (27, 28).

7.2. Moleküler testlerin Testis Seks Kord Stromal Tümörlerinin Klinik Yönetimindeki Rolü

Seks kord stromal tümörler, testiste daha nadiren görülen tümör grubudur. Başta Leydig hücreli tümör, Sertoli hücreli tümör, Granüloza hücreli tümörler ve çok daha nadiren görülen fibroma-tekoma bu grupta yer alır.

7.2.1. Leydig Hücreli Tümörler

Leydig hücreli tümörlerin üçte birinde *MDM2* ve *CDK4* amplifikasyonları görülebilir. Bu değişiklikler uygun panel kullanılarak NGS yöntemi ile gösterilebilir. Bunun yanında uygun

problar kullanılarak yapılacak FISH çalışmasında da bu değişiklikler saptanabilir.

7.2.2. Sertoli Hücreli Tümörler

Sertoli hücreli tümörler testisin nadir tümörlerindendir. Bu tümörlerin önemli bir kısmı β -katenin proteinini kodlayan *CTNNB1* gen mutasyonlarını içerir ve %40 kadarında da X kromozomunda kazanım izlenir. *CTNNB1* mutasyonları NGS panelleri ile gösterilir. X kromozomu kazanımını göstermek için dizilim tabanlı teknolojilerin kullanımı düşünülebilir.

7.2.3. Granüloza Hücreli Tümörler

Erişkin tip granüloza hücreli tümörler testiste oldukça nadiren izlenirler. Bu tümörlerde *FOXL2* mutasyonlarının gösterilmesi tanısal anlamda destekleyicidir. *FOXL2* mutasyonlarını göstermek için Sanger dizileme ya da NGS yöntemleri tercih edilebilir.

8. PENİS KANSERİNDE MOLEKÜLER TESTLERİN ROLÜ

Penil kanserler, sıklıkla skuamöz hücre orijinli olan nadir tümörlerdir. Yaklaşık %40'ı insan papilloma virüs (HPV) enfeksiyonu ile ilişkilidir ve en yaygın serotip HPV16'dır.

Penil SHK; HPV ilişkili (HPV-pozitif) veya HPV'den bağımsız (HPV-negatif) olarak gelişebilir. HPV ilişkili grupta daha düşük progresyon ve daha iyi kanser spesifik sağkalım görülmesi nedeniyle, tümör HPV durumunun belirlenmesi önemlidir.

HPV ilişkili penil kanserler, sıklıkla basaloid, "warty", berrak hücreli veya lenfoepitelyoma-benzeri karsinom gibi histolojik alt tiplerde ortaya çıkarken; HPV bağımsız olanlar, klasik tip, papiller, verrüköz veya sarkomatoid karsinoma morfolojisinde görülme eğilimindedir.

HPV varlığını saptamada güvenilir, pratik ve kolay ulaşılabilir olması açısından ilk basamak İHK yöntemi ile p16^{INK4a} incelemesidir (29, 30).

8.1. HPV Testi

8.1.1. İHK ile p16 "Overekspresyon" Değerlendirmesi

p16 proteini bir siklin bağımlı kinaz inhibitörüdür ve retinoblastoma (Rb) proteinini fosforile ederek hücre siklusunu uyaran siklin-bağımlı kinazları (CDK) inaktive etmek yoluyla hücre döngüsünde düzenleyici rol oynar. HPV ilişkili neoplazilerde, HPV kaynaklı E7 onkoproteini ile Rb'un inaktive olması, p16 proteininin aşırı ekspresyonuna neden olur. İHK ile tümörde kuvvetli blok tarzında sitoplazmik ve nükleer pozitiflik görülmesi durumu p16 "overekspresyonu" anlamına gelir.

p16 İHK testinin; penil neoplazilerde %67 duyarlılık (%95 GA: %57–%75), %91 özgüllük (%95 GA: %88–%95) ile yüksek riskli HPV varlığını belirleyebildiği gösterilmiştir. HPV testi ve p16 İHK sonuçları yaklaşık %80 uyumluluk gösterir.

Yüksek riskli HPV pozitif olup, p16 İHK'sı negatif olan tümörlerde; (a) onkojenik olmayan, eşzamanlı ya da geçici bir HPV enfeksiyonu olasılığı ya da (b) p16INK4a geninin heterozigotite kaybı veya promotör hipermetilasyonu yoluyla inaktivasyonu uyumsuzluk sebebi olabilir.

HPV ilişkisiz gelişen penil diferansiye PeİN olguları ile skuamöz hiperplazi gibi benign lezyonları ayırmada İHK ile Ki67 değerlendirmesi yardımcı olabilir. Ki-67, PeİN'de, skuamöz epitel bazal ve parabazal tabakasında pozitiflik gösterirken, skuamöz hiperplazide bazal hücrelerde seyrek boyanma gösterir veya negatiftir.

8.1.2. HPV'nin Moleküler Yöntemlerle Araştırılması

HPV'yi saptamaya yönelik moleküler testler 2 gruptur:

- HPV DNA testleri: Yüksek riskli HPV tiplerindeki L1 viral yüzey proteinini kodlayan DNA'yı saptayan testler.
- HPV RNA testleri: Yüksek riskli HPV tiplerinin E6/E7 proteinlerini kodlayan "messenger" RNA (mRNA)'yı tespit eden testler.

Bu testlerde PCR ve ISH teknikleri kullanılabilir. PCR öncelikle önerilen yöntemdir; ancak ISH da uygulanabilir. Farklı testler farklı avantajlar sunar (duyarlılık, özgüllük, uygulanabilirlik açısından) (Tablo V).

8.2. İmmünoterapi Verilecek Hastaların Belirlenmesinde TMB, MSI Durumunun Araştırılması ve PD-L1 Testi

Tıpkı tüm diğer solid tümörlerde olduğu gibi metastatik ve rezeksiyonu mümkün olmayan penil tümörlerde de immünoterapi kullanımı için bazı testler yapılabilmektedir. PD-L1 skoruması için bir standart olmamakla birlikte kombine pozitiflik skoru (yukarıda ÜK'da test detayları yer almaktadır) verilebilir. TMB ve MSI değerlendirmesinde ise diğer solid tümörler için geçerli olan kriterler penil tümörlerde de uygulanır.

Tablo V. Penil neoplazilerde HPV moleküler test yöntemleri ve karşılaştırma.

Yöntem	Avantajları	Dezavantajları	Sensitivite (%)	Spesifisite (%)
HPV DNA PCR	HPV genotip bilgisi sağlar Yüksek duyarlılık FFPE dokularda uygulanabilir Kolay ve maliyeti düşük	Viral transkripsiyon hakkında bilgi vermez Kontaminasyon riski yüksektir (hem internal hem eksternal)	98	84
HPV DNA İSH	HPV DNA'sının in situ tespiti Yüksek özgüllük FFPE dokularda uygulanabilir	Düşük duyarlılık	85	88
E6/E7 mRNA RT-PCR	Yüksek duyarlılık ve özgüllük Araştırmalar için altın standart	Zaman alıcı, maliyetli FFPE dokularda uygun değil RNA kırılganlığı yüksek	97	100
E6/E7 mRNA İSH	Yüksek duyarlılık ve özgüllük FFPE dokularda uygulanabilir.	Maliyetli, zamanla RNA degradasyonu problemi	87-100	88-100

SONUÇ

Moleküler patolojideki gelişmeler, ürogenital sistem tümörlerinin tanı, sınıflandırma ve tedavi seçiminde giderek daha önemli bir rol oynamaktadır. Moleküler testlerin güvenilirliği; uygun materyal ve yöntem seçimi, dokunun akılcı kullanımı, preanalitik ve analitik süreçlerin standardizasyonu ve sonuçların doğru şekilde raporlanmasına bağlıdır. Sonuçların klinik bulgularla birlikte multidisipliner olarak değerlendirilmesi ve test algoritmalarının güncel gelişmeler doğrultusunda düzenli olarak gözden geçirilmesi önem taşımaktadır.

Bildirimler

Araştırma Desteği: Bu çalışma ile ilgili herhangi bir fon veya maddi destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması: Makalede yer alan yazarların bu derlemede yer alan ürünler konusunda herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Çalışmanın fikri veya tasarımı: DE, IK, YYK
Veri toplama: DE, IK, YYK, BGÖ, YÖ, YÜ, ÇA
Veri analizi ve yorumlama: DE, IK, YYK, BGÖ, YÖ, YÜ, ÇA
Makale taslağının hazırlanması: DE, IK, YYK, BGÖ, YÖ, YÜ, ÇA
Makalenin kritik revizyonu: DE, IK, DKY
Tüm yazarlar sonuçları gözden geçirmiş ve makalenin son hâlini onaylamıştır.

KAYNAKLAR

- Kulac I, Roudier MP, Haffner MC. Molecular pathology of prostate cancer. *Clin Lab Med* 2024;44:161-180. doi: 10.1016/j.cll.2023.08.003. PMID: 38821639
- Yu EY, Rumble RB, Agarwal N, Cheng HH, Eggen SE, Bitting RL, Beltran H, Giri VN, Spratt D, Mahal B, Lu K, Crispino T, Trabulsi EJ. Germline and somatic genomic testing for metastatic prostate cancer: ASCO Guideline. *J Clin Oncol* 2025;43:748-758. doi: 10.1200/JCO-24-02608. PMID: 39787437
- Spratt DE, Srinivas S, Adra N, Ahmed B, An Y, Bitting R, Chapin B, Cheng HH, Cho SY, D'Amico AV, Desai N, Dorff T, Eastham JA, Farrington TA, Gao X, Gupta S, Ippolito JE, Karnes RJ, Kishan AU, Kuettel MR, Lang JM, Lee D, Lotan T, McDonald A, Morgan TM, Pessoa R, Rais-Bahrami S, Roach M 3rd, Robin T, Rosenfeld S, Scarpato KR, Seibert T, Shabsigh A, Szmulewitz R, Teply BA, Tward J, Valicenti R, VanderWeele D, Wong JK, Kovach E, Freedman-Cass D. NCCN Guidelines insights: Prostate cancer, Version 5.2026. *J Natl Compr Canc Netw* 2026;24:140-149. doi: 10.6004/jnccn.2026.0023. PMID: 42134408
- Lotan TL, Carvalho FL, Peskoe SB, Hicks JL, Good J, Fedor H, Humphreys E, Han M, Platz EA, Squire JA, De Marzo AM, Berman DM. PTEN loss is associated with upgrading of prostate cancer from biopsy to radical prostatectomy. *Mod Pathol* 2015;28:128-137. doi: 10.1038/modpathol.2014.85. PMID: 24993522
- Antonarakis ES, Lu C, Wang H, Luber B, Nakazawa M, Roesser JC, Chen Y, Mohammad TA, Chen Y, Fedor HL, Lotan TL, Zheng Q, De Marzo AM, Isaacs JT, Isaacs WB, Nadal R, Paller CJ, Denmeade SR, Carducci MA, Eisenberger MA, Luo J. AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer. *N Engl J Med* 2014;371:1028-1038. doi: 10.1056/NEJMoa1315815. PMID: 25184630
- Bono J, Mateo J, Fizazi K, Saad F, Shore N, Sandhu S, Chi KN, Sartor O, Agarwal N, Olmos D, Thiery-Vuillemin A, Twardowski P, Mehra N, Goessl C, Kang J, Bургents J, Wu W, Kohlmann A, Adelman CA, Hussain M. Olaparib for metastatic castration-resistant prostate Cancer. *N Engl J Med* 2020;382:2091-2102. doi: 10.1056/NEJMoa1911440. PMID: 32343890
- Huang DS, Wang Z, He XJ, Diplas BH, Yang R, Killela PJ, Meng Q, Ye ZY, Wang W, Jiang XT, Xu L, He XL, Zhao ZS, Xu WJ, Wang HJ, Ma YY, Xia YJ, Li L, Zhang RX, Jin T, Zhao ZK, Xu J, Yu S, Wu F, Liang J, Wang S, Jiao Y, Yan H, Tao HQ. Recurrent TERT promoter mutations identified in a large-scale study of multiple tumour types are associated with increased TERT expression and telomerase activation. *Eur J Cancer* 2015;51:969-976. doi: 10.1016/j.ejca.2015.03.010. PMID: 25843513
- Paliogiannis P, Lobrano R, Bella MA, Fara A, Uras MG, Pinna MA, Tedde A, Madonia M, Zinellu A, Cossu A. PD-L1 immunohistochemical expression in bladder urothelial cancer with SP263, SP142 and 22C3 antibodies: A comparative study. *Ann Diagn Pathol* 2024;69:152267. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2024.152267. PMID: 38266544
- Joost P, Therkildsen C, Dominguez-Valentin M, Jönsson M, Nilbert M. Urinary tract cancer in Lynch syndrome; Increased risk in carriers of MSH2 mutations. *Urology* 2015;86:1212-1217. doi: 10.1016/j.urology.2015.08.018. PMID: 26385421
- Gallon R, Sheth H, Hayes C, Redford L, Alhilal G, O'Brien O, Spiewak H, Waltham A, McAnulty C, Izuogu OG, Arends MJ, Oniscu A, Alonso AM, Laguna SM, Borthwick GM, Santibanez-Koref M, Jackson MS, Burn J. Sequencing-based microsatellite instability testing using as few as six markers for high-throughput clinical diagnostics. *Hum Mutat* 2020;41:332-341. doi: 10.1002/humu.23906. PMID: 31471937
- Gallon R, Phelps R, Hayes C, Brugieres L, Guerrini-Rousseau L, Colas C, Muleris M, Ryan NAJ, Evans DG, Grice H, Jessop E, Kunzemann-Martinez A, Marshall L, Schamschula E, Oberhuber K, Azizi AA, Baris Feldman H, Beilken A, Brauer N, Brozou T, Dahan K, Demirsoy U, Florkin B, Foulkes W, Januszkiewicz-Lewandowska D, Jones KJ, Kratz CP, Lobitz S, Meade J, Nathrath M, Pander HJ, Perne C, Ragab I, Ripperger T, Rosenbaum T, Ruveda D, Sarosiek T, Sehested A, Spier I, Suerink M, Zimmermann SY, Zschocke J, Borthwick GM, Wimmer K, Burn J, Jackson MS, Santibanez-Koref M. Constitutional Microsatellite Instability, Genotype, and Phenotype Correlations in Constitutional Mismatch Repair Deficiency. *Gastroenterology* 2023;164:579-592. doi: 10.1053/j.gastro.2022.12.017. PMID: 36586540
- Rasmussen M, Sowter P, Gallon R, Durhuus JA, Hayes C, Andersen O, Nilbert M, Schejbel L, Høgdall E, Santibanez-Koref M, Jackson MS, Burn J, Therkildsen C. Mismatch repair deficiency testing in Lynch syndrome-associated urothelial tumors. *Front Oncol* 2023;13:1147591. doi: 10.3389/fonc.2023.1147591. PMID: 37143941

13. Kamoun A, de Reyniès A, Allory Y, Sjö Dahl G, Robertson AG, Seiler R, Hoadley KA, Groeneveld CS, Al-Ahmadie H, Choi W, Castro MAA, Fontugne J, Eriksson P, Mo Q, Kardos J, Zlotta A, Hartmann A, Dinney CP, Bellmunt J, Powles T, Malats N, Chan KS, Kim WY, McConkey DJ, Black PC, Dyrskjöt L, Höglund M, Lerner SP, Real FX, Radvanyi F; Bladder Cancer Molecular Taxonomy Group. A Consensus molecular classification of muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2020;77:420-433. doi: 10.1016/j.eururo.2019.09.006. PMID: 31563503
14. Lopez-Beltran A, Cimadamore A, Montironi R, Cheng L. Molecular pathology of urothelial carcinoma. *Hum Pathol* 2021;113:67-83. doi: 10.1016/j.humpath.2021.04.001. PMID: 33887300
15. Turner N, Grose R. Fibroblast growth factor signalling: from development to cancer. *Nat Rev Cancer* 2010;10:116-129. doi: 10.1038/nrc2780. PMID: 20094046
16. Helsten T, Elkin S, Arthur E, Tomson BN, Carter J, Kurzrock R. The FGFR landscape in cancer: Analysis of 4,853 tumors by next-generation sequencing. *Clin Cancer Res* 2016;22:259-267. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-3212. PMID: 26373574
17. Lloriot Y, Necchi A, Park SH, Garcia-Donas J, Huddart R, Burgess E, Fleming M, Rezazadeh A, Mellado B, Varlamov S, Joshi M, Duran I, Tagawa ST, Zakharia Y, Zhong B, Stuyckens K, Santiago-Walker A, De Porre P, O'Hagan A, Avadhani A, Siefker-Radtke AO; BLC2001 Study Group. Erdafitinib in locally advanced or metastatic urothelial carcinoma. *N Engl J Med* 2019;381:338-348. doi: 10.1056/NEJMoa1817323. PMID: 31340094
18. Yan X, Li J, Xu H, Liu Y, Zhou L, Li S, Wu X, Tang B, Chi Z, Cui C, Si L, Mao L, Lian B, Wang X, Duan R, Li C, Fang J, Guo J, Sheng X. Efficacy and safety of DV in HER2-negative and HER2-low locally advanced or metastatic urothelial carcinoma: Results of a phase 2 study. *Med* 2025;6:100637. doi: 10.1016/j.medj.2025.100637. PMID: 40112819
19. Sheng X, Wang L, He Z, Shi Y, Luo H, Han W, Yao X, Shi B, Liu J, Hu C, Liu Z, Guo H, Yu G, Ji Z, Ying J, Ling Y, Yu S, Hu Y, Guo J, Fang J, Zhou A, Guo J. Efficacy and safety of Disitamab Vedotin in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive locally advanced or metastatic urothelial carcinoma: A combined analysis of two phase II clinical trials. *J Clin Oncol* 2024;42:1391-1402. doi: 10.1200/JCO.22.02912. PMID: 37988648
20. Meric-Bernstam F, Makker V, Oaknin A, Oh DY, Banerjee S, González-Martín A, Jung KH, ugowska I, Manso L, Manzano A, Melichar B, Siena S, Stroyakovskiy D, Fielding A, Ma Y, Puvvada S, Shire N, Lee JY. Efficacy and safety of Trastuzumab Deruxtecan in patients with HER2-expressing solid tumors: Primary results from the DESTINY-PanTumor02 phase II trial. *J Clin Oncol* 2024;42(1):47-58. doi: 10.1200/JCO.23.02005. PMID: 37870536
21. M. H. Raspollini MR, Tan PH. Urinary and Male Genital Tumours. WHO Classification of Tumours. Geneva, Switzerland: WHO Press, 2022
22. Mannan R, Chen YB, Wang X, Zhang Y, Hosseini N, Sangoi AR, Acosta A, Williamson SR, Mahapatra S, Chinnaiyan AK, Hu J, Vaishampayan U, Shao L, Betz BL, Kim AS, Cao X, Su F, Wang R, Argani P, Brown N, Tickoo SK, Chinnaiyan AM, Reuter VE, Dhanasekaran SM, Mehra R. TRIM63 Overexpression in FISH-negative MiTF family altered renal cell carcinoma (MiTF RCC). *Mod Pathol* 2025;38:100873. doi: 10.1016/j.modpat.2025.100873. PMID: 40865922
23. Shepherd STC, Drake WM, Turajlic S. The road to systemic therapy in von Hippel-Lindau (VHL) disease: Are we there yet? *Eur J Cancer* 2023;182:15-22. doi: 10.1016/j.ejca.2022.12.011. PMID: 36708612
24. Mohanty SK, Lobo A, Jha S, Sangoi AR, Akgul M, Trpkov K, Hes O, Mehra R, Hirsch MS, Moch H, Smith SC, Shah RB, Cheng L, Amin MB, Epstein JI, Parwani AV, Delahunt B, Desai S, Przybycin CG, Manini C, Luthringer DJ, Sirohi D, Jain D, Midha D, Jain E, Maclean F, Giannico GA, Paner GP, Martignoni G, Al-Ahmadie HA, McKenney J, Srigley JR, Lopez JI, Kunju LP, Browning L, Aron M, Picken MM, Tretiakova M, Zhou M, Sable M, Kuroda N, Pattnaik N, Gupta NS, Rao P, Fine SW, Mishra P, Adhya AK, Kulkarni BN, Dixit M, Baisakh MR, Arora S, Sancheti S, Menon S, Wobker SE, Tickoo SK, Kaushal S, Soni S, Kandukuri S, Sharma S, Mitra S, Reuter VE, Malik V, Rao V, Chen YB, Williamson SR. Acceptance of emerging renal oncocytic neoplasms: a survey of urologic pathologists. *Virchows Arch* 2024;485:829-840. doi: 10.1007/s00428-024-03909-2. PMID: 39287823
25. Looijenga L., Van der Kwast T.H., Grignon D., Egevad L., Kristiansen G., Kao C.S., Idrees M.T. Report from the International Society of Urological Pathology (ISUP) Consultation Conference on molecular pathology of urogenital cancers: IV: Current and future utilization of molecular-genetic tests for testicular germ cell tumors. *Am J Surg Pathol* 2020;44:e66-e79. doi: 10.1097/PAS.0000000000001465. PMID: 32205480
26. Al-Obaidy KI, M. Chovanec M, Cheng L. Molecular characteristics of testicular germcell tumors: pathogenesis and mechanisms of therapy resistance. *Expert Rev Anticancer Ther* 2020;20:75-79. doi: 10.1080/14737140.2020.1717337. PMID: 31951790
27. Furtado LV, Bifulco C, Dolderer D, Hsiao SJ, Kipp BR, Lindeman NI, Ritterhouse LL, Temple-Smolkin RL, Zehir A, Nowak JA. Recommendations for tumor mutational burden assay validation and reporting: A joint consensus recommendation of the Association for Molecular Pathology, College of American Pathologists, and Society for Immunotherapy of Cancer. *J Mol Diagn* 2024;26:653-668. doi: 10.1016/j.jmoldx.2024.05.002. PMID: 38851389
28. Schumacher TN, Kesmir C, van Buuren MM. Biomarkers in cancer immunotherapy. *Cancer Cell* 2015;27:12-14. doi: 10.1016/j.ccell.2014.12.004. PMID: 25584891
29. Fernández-Nestosa MJ, Clavero O, Sánchez DF, Giannico GA, Lobatti A, Cañete-Portillo S, Velázquez EF, Alemany L, Muñoz N, de San José S, Bosch FX, Cubilla AL. Penile intraepithelial neoplasia: Distribution of subtypes, HPV genotypes and p16(INK4a) in 84 international cases. *Hum Pathol* 2023;131:1-8. doi: 10.1016/j.humpath.2022.11.006. PMID: 36427594
30. Canete-Portillo S, Velazquez EF, Kristiansen G, Egevad L, Grignon D, Chaux A, Cubilla AL Report From the International Society of Urological Pathology (ISUP) Consultation Conference on Molecular Pathology of Urogenital Cancers V: Recommendations on the use of immunohistochemical and molecular biomarkers in penile cancer. *Am J Surg Pathol* 2020;44:e80-e86. doi: 10.1097/PAS.0000000000001477. PMID: 32235153