

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

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Tülin Deniz YALTA

**UTERİN KARSİNOSARKOMLARIN MOLEKÜLER
ANALİZİ**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Ezgi GENÇ ERDOĞAN

EDİRNE-2019

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince destek ve katkılarını esirgemeyen ve tez çalışmamda özveri ile beni yönlendiren sayın hocam Prof. Dr. Tülin Deniz YALTA'ya, mesleki görgü, bilgi ve tecrübelerimi kazanmamda payları olan ve eğitime katkı sağlayan sayın hocalarım Prof. Dr. A. Kemal KUTLU, Prof. Dr. Filiz ÖZYILMAZ, Prof. Dr. Ufuk USTA, Doç. Dr. Fulya ÖZ PUYAN, Doç. Dr. Ebru TAŐTEKİN, Doç. Dr. Nuray CAN 'a, tezin teknik ve moleküler çalışmalarını yürüten, Moleküler Patoloji Laboratuvar Teknisyeni Erdinç ÖZER, Yüksek Kimyager Bora DEMİRKAN ve tezin arşiv aşamalarını yürüten, Lam Arşiv Sorumlusu Fatma FINDIK, Blok Arşiv Sorumlusu Erdinç ÇOBAN ve diğer değerli teknisyen arkadaşlarıma, istatistiksel değerlendirme aşamasında yardımcı olan Biyoistatistik AD.'dan Prof. Dr. Necdet SÜT'e ve asistanlık sürecim boyunca birlikte çalıştığım, zorlukları birlikte aşır, güzellikleri paylaşarak dosttan öte aile olduğumuz tüm değerli asistan ve çalışma arkadaşlarıma, her konuda yanımda olan çok değerli aileme ve sevgili eşime en içten duygularıyla teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	4
EMBRİYOLOJİ	4
ANATOMİ	5
HİSTOLOJİ	6
UTERUS TÜMÖRLERİ	11
UTERUSUN EPİTELYAL TÜMÖRLERİ	14
UTERUSUN MEZENKİMAL TÜMÖRLERİ	20
MİKST EPİTELYAL MEZENKİMAL TÜMÖRLER	21
KARSİNOSARKOM (MALİGN MİKST MÜLLERİAN TÜMÖR)	23
NEXT GENERATION SEQUANCING (YENİ NESİL SEKANSLAMA)	30
NEXT GENERATION SEQUANCING (YENİ NESİL SEKANSLAMA) ACTIONABLE INSIGHTS TÜMÖR GEN PANELİ	32
GEREÇ VE YÖNTEMLER	41
BULGULAR	48
TARTIŞMA	79
SONUÇLAR	93
ÖZET	95
SUMMARY	97
KAYNAKLAR	99
EKLER	

SİMGELER VE KISALTMALAR

AJCC:	American Joint Committee on Cancer
AKT:	Protein kinase B
ALCL:	Anaplastic Large Cell Lymphoma
ALK:	Anaplastik Lenfoma Kinaz
BBA:	Büyük büyütme alanı
BRAF:	V-Raf Murine Sarcoma Viral Oncogene Homolog B1
CE:	Kapiller elektroforez
COX2:	Cyclooxygenase 2
CS:	Carcinosarcoma
C-KIT:	KIT proto-oncogene receptor tyrosine kinase
CTNNB1:	Cadherin ilişkili protein beta 1
DNA:	Deoksiribonükleik Asit
dNTP:	Deoksiribonükleotit trifosfat
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
EEC:	Endometrioid endometriyal karsinom
EC:	Endometrial karsinom
EGFR:	Epidermal Growth Factor Receptor
EMA:	Epitelyal Membran Antijen
EPCAM:	Epithelial Cell Adhesion Molecule
ERBB1:	EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor)
ERBB2:	Erb-b2 receptor tyrosine kinase 2
ERBB3:	Erb-b3 receptor tyrosine kinase 3

ERK:	Extracellular regulated MAP kinase
ESN:	Endometrial stromal nodül
ESR1:	Estrogen receptor 1
ESS:	Endometrial stromal sarkom
FIGO:	The International Federation of Gynecology and Obstetrics
FISH:	Fluorescence In Situ Hybridisation
GDP:	Guanozin Difosfat
GIST:	Gastrointestinal Stromal Tümör
GOG:	Gynecol Oncol Group
GTP:	Guanozin trifosfat
GTPaz:	Guanazin trifosfataz
HER2:	Human epidermal growth factor 2
H&E:	Hematoksilen Eozin
HOX:	Homeobox
KHDAK:	Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
KRAS:	Kirsten ras oncogene homolog gene
LOH:	Loss Of Heterozygosity
MAPK:	Mitogen Activated Protein Kinaz
MEK:	MAP kinase-ERK kinase
MLH 1:	MutL homolog 1
MMMT:	Malign Mikst Müllerian Tümör
MSH 2:	MutS homolog 2
MSH 6:	MutS homolog 6
MSI:	Mikrosatellit İnstabilite
NGS:	Next Generation Sequencing
NK:	Natural Killer
NOS:	Not otherwise specified
NRAS:	Neuroblastoma RAS viral oncogene homologue
PCR:	Polimeraze chain reaction
PDGFRA:	Platelet-derived growth factor receptor alpha
PI3K:	Fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat 3-kinaz
PIK3CA:	Fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat 3-kinaz katalitik subunit alfa
PTAH:	Fosfungisitk asit hematoksilen
PTEN:	Phosphatase and tensin homolog

RAS:	Rat sarcoma viral oncogene
RAF:	Rapidly Accelerated Fibrosarcoma
RNA:	Ribonükleik Asit
SCF:	Stem Cell Factor
VEGF:	Vascular endothelial growth factor
WHO:	World Health Organization
WNT:	Wingless/Integrated
YNS:	Yeni Nesil Sekanslama



GİRİŞ VE AMAÇ

Uterin karsinosarkomlar; tüm uterin malignitelerinin %3-4'ünü oluşturan, yüksek dereceli karsinomatöz (epitelyal) ve sarkomatöz (mezenkimal) komponentleri mikst olarak içeren, klinik olarak agresif davranışa sahip malignitelerdir. Malign mikst müllerian tümör olarak da isimlendirilen bu tümörler için; WHO (World Health Organisation/Dünya Sağlık Örgütü) sınıflamasında tercih edilen terim, karsinosarkomdur (1).

Yaygın olmamasına rağmen, bu tümör agresif bir klinik seyir izler ve uterus malignitesinin neden olduğu ölümlerin % 16'sını oluşturur. Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu (The International Federation of Gynecology and Obstetrics-FIGO) evre 1-2 hastası olan hastalar, %59'luk 5 yıllık bir sağkalım süresine sahiptir, evre 3 ve 4 hastalığı olanlarda ise 5 yıllık sağkalım oranları sırasıyla; % 22 ve % 9 dur (2).

Karsinosarkom, endometrium, over, serviks, vulva veya tubalar dahil olmak üzere kadın reproduktif sisteminin her organından ortaya çıkabilir. Bununla birlikte, en sık görülen primer bölge, endometriumdur (3).

Histolojik olarak uterus karsinosarkomu bifazik bir görünüm veren karsinom ve sarkom elementlerinden oluşur. Hem karsinom hem de sarkom bileşenleri tipik olarak yüksek derecelidir. Bazı olgularda karsinomatöz bileşen endometrioid veya seröz karsinom gibi endometriyal kanserlerin bilinen histolojik alt tiplerine benzeyebilir, sarkom bileşeni ise homolog veya heterolog farklılaşma gösterebilir (4,5).

Her iki bileşen de çok benzer immünohistokimyasal belirteçleri eksprese eder, ortak somatik mutasyonları paylaşır ve sıklıkla aynı X kromozomu inaktivasyon patternini gösterir (6).

Başlangıçta uterin sarkomlarının bir alt tipi olarak kabul edilmesine rağmen, çoğu uterus karsinosarkomunun, biyolojik olarak farklı iki tümör tipi arasında bir birleşmeden (collision teorisi) ziyade endometrial karsinomun (metaplastik karsinom) sarkomatöz transformasyonunu / transdiferansasyonunu temsil ettiği düşünülmektedir (7).

Karsinosarkomların klinik davranışları, karsinom kökenli hipotezleri destekler, çünkü karsinosarkomların çoğu karsinom gibi lenfatik yayılım gösterir (7,8). Önceki çalışmaların birçoğu, X kromozomunun inaktivasyonu, mikrosatellit instabilite (MSI), TP53 ve KRAS (KRAS proto-onkogen, GTPaz) mutasyon tipleri ve karsinom ve sarkom elementleri arasındaki heterozigosite kaybı (Loss of heterozygosity-LOH) karşılaştırmış ve vakaların çoğunda ortak moleküler özellikler göstermiştir (9).

Son yirmi yılda, farklı çalışmalar, endometriyal kanserin (EC) başlaması ve ilerlemesinde rol alan bazı moleküler değişiklikleri açıklamaktadır. Endometrioid endometriyal karsinomlarda (EEC) başlatıcı ana moleküler değişikliklerin PTEN (fosfataz ve tensin homoloğu), KRAS, CTNNB1 (katenin [cadherin ilişkili protein], beta 1) ve PI3KCA (fosfatidilinositol-4,5-bisfosfat 3-kinaz katalitik subunit alfa) mutasyonları olduğu iyi bilinmektedir. Son yıllarda yapılan moleküler çalışmalarda Uterin Karsinosarkomların ise yaklaşık %50 'sinin PI3K/AKT ve RAS/RAF yolaklarında mutasyonları taşımakta olduğunu göstermektedir. En sık etkilenen PI3KCA (fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat 3-kinaz katalitik subunit alfa) mutasyonu ise, tümörlerin yaklaşık %20'sinde görülmektedir. Tarif edilen bu moleküler değişiklikler, spesifik hedefe yönelik terapiler için potansiyel hedefleri temsil edebilmektedir .

2017 yılında yayınlanan, konu ile ilgili 23 adet çalışmanın incelendiği bir derleme makalede (3) ise; elde edilen sonuçların Epitel Hücre Adhezyon Molekülü-1'in (epithelial cell adhesion molecule-1-EPCAM) normal dokularla karşılaştırıldığında metastatik / kemoterapiye dirençli karsinosarkom hücreleri üzerindeki diferansiyel ekspresyonunun ve HER 2'nin (İnsan Epidermal Büyüme Faktörü 2/ Human Epidermal Growth Factor 2), karsinosarkomlarda, hedefe yönelik tedavi alanında yeni olasılıkların önünü açtığı vurgulanmıştır (3,11-13).

Uterin karsinosarkomlarda primer tedavi, cerrahi evreleme ile birlikte histerektomi olmakla birlikte Jinekolojik Onkoloji Grubu'nun (Gynecol Oncol Group-GOG) randomize bir çalışmasında hiçbir adjuvan tedavinin etkinliği kanıtlanamamıştır. Gerileme göstermeyen veya rekürren tümörlerde kemoterapi veya radyasyon tedavisi ile hemen hemen hiçbir zaman kür elde edilememiştir (14). Bu da yeni, efektif tedavilerin gelişmesini gerekli kılmaktadır. Son birkaç yılda, birçok kapsamlı çalışma karsinosarkomların mutasyonel durumunu ortaya

çıkarmaktadır ve bu çalışmalar da oldukça letal olan bu tümörün tedavisi için potansiyel yeni hedefler olarak çok sayıda bozulmuş yolağın tanımlanması için fırsat sağlamaktadır (3).

Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) sekanslaması (dizilemesi) Sanger'in 1977 yılında geliştirdiği zincir terminasyon sekanslaması olarak bilinen yöntemine dayanmaktadır (15).

Yeni nesil sekanslama; yüksek verimli dizileme olarak da bilinir, yoğun ve paralel biçimde (tek veya birkaç DNA parçasına karşı) DNA ve RNA dizilemeye izin veren ve daha önce kullanılan Sanger dizilemeye göre daha ucuz olan, farklı modern dizileme teknolojilerinin tümünü ifade etmek için kullanılır. Bu yüzden yeni nesil dizileme genomik çalışmalar ve moleküler biyolojide devrim yaratmıştır (16).

İnsan genom projesinin 2001 yılında tamamlanması ile bu projeden yıllar sonra DNA sekanslama teknolojileri büyük bir ilerleme kaydetmiştir (17). Örnek hazırlaması ve sinyal algılama için daha yeni yöntemlere ek olarak, ikinci nesil platformların kullanılması büyük ölçüde artmıştır. İkinci nesil sekanslama platformları, klonlama ile elde edilen amplifiye DNA sekanslarını yoğun bir şekilde (aynı anda yüz milyonlarca) paralel olarak 'okuma' ya da örnekleme olarak sağlayan gelişmedir (16).

Bütün bir insan genomunun sekanslaması ve analizi artık eskisine kıyasla çok daha düşük bir fiyata, birkaç gün içinde kolaylıkla yapılabilmektedir. Yeni nesil sekanslama teknolojilerinin ortaya çıkması ve bu alandaki hızlı gelişmeler sonucunda, sekanslama işlemi, sekanslama maliyetinin 40 kat düşmesine neden olmuştur, 2013 yılında tüm insan genomunun dizilimi için maliyet, insan genom projesinininkinden 20.000 kat daha ucuz hale gelmiştir (16) (18).

Bu literatür bilgilerine dayanarak, güncel yaklaşımda birçok tümörde mutasyon analizi ve genetik profil (meme, akciğer, kolon başta olmak üzere) bakılarak hedefe yönelik tedavi yaklaşımlarının önem kazanması nedeniyle oldukça agresif seyreden ve adjuvan tedavi etkinliğinin kanıtlanamadığı ve rekürren tümörlerde kemoterapi ve radyoterapi ile kür sağlanamayan uterin karsinosarkom vakalarında; vakaların epitelyal ve mezenkimal komponentlerini belirleyip, moleküler inceleme yöntemi olan Yeni Nesil Dizileme (Next Generation Sequencing) yöntemi ile Qiagen Gene Reader NGS Sistem cihazında Gene Reader Actionable Insights Tumor Paneli kullanılarak 12 genin (KRAS, NRAS, EGFR, C-KIT, BRAF, PDGFRA, ALK, ERBB2, ERBB3, ESR1, RAF1, PIK3CA) mutasyon analizi yapıp, farklı moleküler tiplerin saptanması ve gen profilinin belirlenmesini ve bu analiz sonuçları ile olguların klinikopatolojik verileri karşılaştırılarak gelecekteki hedefe yönelik tedavi yaklaşımlarına ve endometrial karsinosarkomların moleküler değişikliklerine ilişkin az sayıda olan veri analizi çalışmalarına fayda sağlamayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

EMBRİYOLOJİ

Memelilerde, uterus ilk olarak 1825'te bir Alman fizyolog Johannes Müller tarafından fark edilen ve aynı zamanda Müllerian kanalları olarak adlandırılan mezodermal kökenli bir çift paramezonefrik kanaldan doğar. Bu kanallar; kraniyalden kaudale doğru bir düzen içinde, over, uterus, serviks ve vajinanın kraniyal kısmına diferansiye olmaktadır (19).

Reproduktif sistem, köken ve gelişim süreçlerinde üriner sistem ile yakından ilişkilidir. Her iki sistemde yer alan yapılar, karın boşluğunun posterior duvarı boyunca paraksiyal (somitler) ve lateral plakla mezoderm arasında yer alan ortak bir mezodermal çıkıntıdan (intermediate mezoderm) gelişir (20).

Fetal yaşamın altıncı haftası ile ürogenital sinüs ve mezonefrik (wolfian) kanallar oluşur. Bu anda, çift müllerian kanallar (paramezonefrik kanallar) gelişimlerine başlar. Bu yapılar gelişmekte olan her bir overi saran bitişik çöломik epitelin invajinasyonu ile oluşur. Müllerian kanallar, mezonefrik kanallarla yakından ilişkilidir ve normal oluşumları, mezonefrozların varlığına bağlı gibi görünmektedir (21).

İndiferansiye iç genital organların erkek veya dişi yapılara ayrılması, fetüsün over veya testislere sahip olup olmamasına bağlıdır. Erkek fetüste, gelişmekte olan testislerdeki Leydig hücreleri ve Sertoli hücreleri, testosteron ve nonsteroidal müllerian inhibe edici madde salgırlar (21, 22). Sekretuar testisin yokluğunda (ör., overleri olan normal bir dişi fetüste veya fonksiyonel olmayan gonadlara sahip bir fetüste), müllerian yapıları devam ederken, mezonefrik kanallar gerilemektedir. Müllerian kanalların kaynaşmayan kısımları, fallop tüplerini oluşturur; kaynaşmış segmentler uterusu ve muhtemelen vajinanın üst üçte birini oluşturur. (21, 23).

Yirmi birinci haftada, uterus ve vajina belirgin derecede şekillenmiştir. Gestasyonun ikinci yarısı rahim büyümesi belirginleşir; yirmi sekizinci haftadan doğuma kadar, fetal uterus boyut olarak iki katına çıkar (22). Yukarıda tarif edilen olaylar, en azından kısmen, wingless (WNT) gen ailesinin salgılanan ligandlarının ve homeobox (HOX) gen ailesinin transkripsiyon düzenleyicilerinin ekspresyonu ile sağlanır (24).

ANATOMİ

Doğum esnasında uterus ortalama 4 cm uzunluğunda olup armut şekillidir ve orantısız olarak serviks baskınlığı mevcuttur. Servikofundal oran yaklaşık olarak 3-5:1'dir. Uterin büyüme, yaşamın 2. yarısına kadar devam eder. Bu zaman zarfında premenarşal büyüme yaklaşık 9 yaşına kadar devam eden bir platoya ulaşır. Yaklaşık 13 yaşına kadar serviks, uterus boyutunun yarısından daha büyük boyutta olmaya devam eder (21).

Uterusun konumu pelvisin içindedir ve ektoserviks, endoserviks, endometrium ve myometriumu ihtiva eder (25).

Uterus rektumun önünde, mesanenin arkasında yer almaktadır. Anterior ve posteriorda; broad ligamanın anterior ve posterior yaprakları olarak yana doğru devam eden pelvik periton ile sarılmaktadır. Tente benzeri broad ligamanlar; majör uterin damarlara, efferent lenfatik trunkuslara ve fallop tüplerinin apikal kısımlarına ev sahipliği yapmaktadır (26).

Uterusun anterior yüzeyi daha açıkta kalan kısmı (peritondan yoksun) ve round ligamanın anterior stumpları (güçük) ile ayırt edilir. Posterior yüzey periton ile daha fazla kaplanır ve uterus-ovaryan ligament uterusun posterior kornual kısmına bağlanır. Uterus, çevresine bir dizi bağ dokusu bandıyla bağlanır; Bunlar arasında önemli olan kardinal, uterosakral ve puboservikal bağlardır (27,28).

Erişkin nullipar uterus, 40 ila 80 gram ağırlığında ve uzun ekseni boyunca yaklaşık 7 ila 8 cm, genişliği en fazla 5.0 cm (kornu - kornu) ve anteroposterior boyutta 2.5 cm ölçülerindeki içi boş, armut biçimli bir kas organıdır. Bu ölçümler, yaş, menstrüel döngünün fazı ve pariteye göre önemli ölçüde değişir. Genel olarak, yüksek parite ve genç yaş, daha büyük uterus boyutuyla ilişkilidir (29).

Erişkin uterusu, geniş gövde ve korpus ve daha küçük bir serviksten oluşur. İki fallop tüpünün orijinini bağlayan korpusun başa doğru olan kısmı fundus olarak adlandırılır. Kornu, fallop tüplerinin intramural kısmı ile ilişkili fundusun iki yan bölgesidir. Korpusun geri kalan kısmı fundustan isthmusa veya her iki uterin segmentte (uterus korpus ve endoserviks) köprü oluşturan ve histolojik özelliklerini paylaşan alt uterin segmente doğru incelmektedir (21).

Serviks ve internal endoservikal kanal kabaca silindirik ve normal olarak yaklaşık 3 ila 4 cm uzunluğundadır (30). Uterin kavitenin internal boyutları uterus duvarının gerçek kalınlığını yansıttığından daha küçüktür. Kavitenin uzunluğu yaklaşık 6.0 cm'dir. Bu ölçümler, bireyin yaşı ve paritesi ile büyük ölçüde değişir (31).

Endoservikal kanal, ekzoservikse açılan eksternal bir os ve endometrial kaviteden endoservikal kanalı ayıran bir internal osa sahip olarak tarif edilmektedir. Endometriyal boşluktan endoservikse geçiş aşamalıdır. Bu, bu bölgedeki mukozanın endoservikal tipten endometrial tipe kademeli geçişi histolojik olarak da izlenir. Parametrium, damarlar, sinirler, lenfatikler ve lenf düğümlerini içeren uterusun lateral bağ doku ekleridir (21).

Uterusun kanlanması, ilgili hipogastrik (internal iliac) arterlerden çıkan sağ ve sol uterin arterlerden kaynaklanır. Uterin arter, uterus isthmus seviyesinde lateral olarak çıkan ve inen dallara ayrılır. Asendan uterin arter, mezosalpinks içindeki ovaryan arter (aortun bir dalı) ile serbestçe uzanırken, desendan dal, vajinal arteriyel kaynağa anastomoz yapar. Hem asendan hem de desendan uterin arterler subserozal arkuat arterleri meydana getirir. Bunlar sırayla myometriuma giren bir dizi radyal arter oluştururlar. Bu radyal damarların her biri endometriyumun spiral arterleri haline gelen spiral arterlere uzanır (32,33).

Lenfatikler hem korpus hem de servikte mevcuttur. Endometriyumda bu damarlar bezlerin fonksiyonları ile yakından ilişkilidir. Myometriyum ve servikal stroma, subserozal pleksusa doğru giden karmaşık bir lenfatik labirent içermektedir. Uterusun tüm yüzeyine yayılırlar ve birleşmeleri ile uterusun ana efferent lenfatik gövdelerini oluştururlar. Lenfatik drenaj, karsinomun yayılımının değerlendirilmesinde patolojik için bir kılavuздur (21).

HİSTOLOJİ

Uterus, multipl bölümlerden oluşan kompleks bir organdır. Bu bölümler ekstoserviks, endoserviks, alt uterin segment, endometriyum, myometriyum ve serozadır (25).

Ektoserviks

Tipik olarak; fibröz stromanın üzerini örten, stratifiye, non-keratinize skuamöz epitel ile döşeli uterusun distal sonlanmasıdır. Östrojenik olarak uyarılan servikal skuamöz epitelyum üç katmana ayrılabilir: Bazal / parabazal hücre tabakası, midzon tabakası (veya stratum spongiosum) ve superfisiyal tabaka (25).

Ektoserviksin bazal/parabazal tabakası yuvarlak ve küboidal hücrelerden oluşur. Bazal hücreler, sınırlı sitoplazmaya ve koyu nükleusa sahiptir. Bu hücreler mitotik olarak inaktiftir ve proliferasyon markerlerini ekspres etmezler (örneğin; Ki67) (34). Parabazal hücreler hafifçe

daha büyüktür ve daha fazla sitoplazmaları vardır. Bazal tabakanın aksine, mitotik figürler görülebilir ve bu tabakada proliferasyon markerları eksprese edilir (34). Stratum spongiyozum ve superfisiyal tabakalar, skuamöz epitelin büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır. Superfisiyal hücreler matürdür, daha küçük ve koyu nükleusları vardır (21,25).

Transformasyon Zonu

Ektoserviks ve endoserviks arasında uzanan skuamokolumnar bileşkedir. Skuamöz ve müsinoz epiteli ayırır. Bu skuamokolumnar bileşke, pubertede ektoservikse doğru göç eder. Kadınlar yaşlandıkça, skuamöz metaplazi, bileşkenin (transformasyon zonun) endoservikal kanala geri göçmesine sebep olur (25,35).

Endoserviks

Endoserviks, uterin serviksin, müsün sekrete eden pitler ile döşeli tünel benzeri lümenidir (21).

Endoservikal mukoza, yaşam boyunca anatomik serviksin çeşitli bölümlerine doğru ilerleme gösterir (35,36). Doğumda endoservikal mukoza, infantların üçte ikisinde ekzoserviks üzerinde bulunur, ancak hızlı bir şekilde, çoğu kızlarda menarş yakınına kadar kaldığı anatomik endoservikal kanala hızlı bir şekilde geri döner. Ergenliğin başlangıcından sonra, endoservikal mukoza, genellikle ön kısımda, arka kısımda olduğundan daha belirgin şekilde ekzoservikse doğru hareket eder (26,36).

Fibröz stromaya doğru uzanan endoservikal glandları basit, kolumnar, bazalde yerleşmiş nükleusu ve amfofilik sitoplazması olan müsinoz epitel hücreleri döşemektedir. Nükleuslar genellikle küçük ve elongedir, dens kromatin içerir (21).

Endoservikal epitel hasara uğradığı ve rejenarasyon meydana geldiği zaman nükleuslar daha büyük ve daha yuvarlak hale gelebilir ancak mitotik figürlerin, nonneoplastik endoservikal hücrelerde bulunması zordur (21,37).

Baskın olarak kaslar olan uterin korpus duvarının tersine, ekzoserviks stroması düz kas liflerinin arasında bulunan elastik liflerle karışık fibröz dokuya sahiptir (38, 39).

Stromadan çok sayıda kan damarı geçer. Zengin kapiller bir ağ, stromal-epitelyal bileşkedeki epitelle etkileşim halindedir (26).

Endoservikal stroma, baskın olarak fibröz doku ve kan damarlarından oluşur (25).

Endoservikal stromanın çoğu aynı zamanda fibroelastik dokudur, ancak endoserviksin üst ucundaki yüzeysel fibröz stroma, alt uterin segmentin endometrial stromasına belli belirsiz

bir şekilde karışmaktadır. Sonuç olarak endoserviksın superfisiyal stroması ve alt uterin segmentin stroması hibrid bir endometrial-servikal görünüme sahiptir (21).

Alt Uterin Segment

Endoserviksten uterin korpusa, üçgen şeklindeki geçiştir. Endometrial ve endoservikal glandların karışımını içeren, endoserviks ve endometrium arasında bir geçiş tabakasıdır (25).

Alt uterin segment, endoserviks ve endometrium arasında glanduler ve stromal değişiklikler göstermektedir. Buradaki endoservikal glandlar, endoservikal epitelde görülen bazofilik müsinini kaybetmiş kolumnar epitelde oluşur (25).

Alt uterin segmentin endometrial mukozası, uterin korpusun endometrial mukozasından daha incedir (21).

Stroması daha fibröz görünümde olup, endoserviks stromasından daha sellüler niteliktedir (21). Endometriuma yaklaştıkça stroması daha da sellüler ve bazofilik hale gelir (25).

Endometrium

Normal endometrium, overin hormonal stimülasyonun natürüne ve yoğunluğuna bağlı olarak sürekli değişen çok sayıda normal patterne sahiptir (21).

Uterus mukozası, morfolojisine dayanarak iki bölgeye ayrılabilir: Alt uterin segmentinin mukozası ve korpusun mukozası. Alt uterin segmentin (isthmus) mukozası genel olarak fundal mukozadan daha incedir. Glandlar ve stroma hormonal stimülasyona yavaş bir şekilde cevap verme eğilimindedir ve sonuç olarak endometriyumun bu kısmı (alt uterin segment), gelişiminde, endometriumun geri kalanının sıklıkla gerisinde kalır. Endoservikal mukozadan alt uterin segment mukozasına morfolojik geçiş kademelidir ve aslında hem bezlerin hem de alt uterin segmentin stromasının hibrit endoservikal-endometriyal görünüşü endometriyal küretajlarda bu bölgeyi tanımlamaya yardımcı olur (21).

Uterusun büyük çoğunluğu olan korpus mukozası, hormonal stimülasyona tamamen duyarlıdır. Bu bölge boyunca endometrium içerisinde iki katman kolayca tanımlanabilir: En alt kısımda bazalis ve üzerlerindeki ise fonksiyonals olarak adlandırılır (21).

Fonksiyonals tabakası superfisiyal endometrial tabaka olup, menstrasyon sırasında kaybolur. Bazalis tabakası ise, fonksiyonals tabakasının dökülmesi sonrası rejenere olan daha monomorfik glandlara sahip derin tabakadır (25).

Bazalis, zayıf bir şekilde proliferatif bezlerin ve myometriumun hemen bitişiğinde yoğun işi stroma bölgesinin bulunduğu bölgedir. Karakteristik olarak bazalis tabakası ve

myometrium arasındaki geçiş irregülerdir ve düz kas ve endometrial stroma burada, iç içe geçmiş durumdadır. Bu düzensizlik, endometrial dokunun, myometrium içerisinde patolojik olarak izole şekilde bulunduğu gibi yanlış bir izlenim verebilir. Bu yanlış izlenim, endometrial adenokarsinomlu hastalarda yüzeysel myometrial invazyon varlığını veya yokluğunu değerlendirirken özellikle önemlidir. Ayrıca, adenomyozis tanısında karmaşa yaratabilir (21).

Bazalis tabakası endometriumun 'rezerv hücre tabakası' nı teşkil etmektedir. Üstte bulunan fonksiyonalis tabakası menstrasyon sonrası döküldükten veya küretajla alındıktan sonra bazalis ve rezidual derin fonksiyonalis tabakası, endometriumun rejenerasyonundan sorumludur. Alt uterin segmentin de geri kalan yüzeysel epiteli bu rejenerasyona katılır (40).

Bazalisin görünümü menstrual döngü boyunca nispeten sabittir. Spesifik olarak, bezler genellikle zayıf şekilde proliferatif görünür; yani, psödostratifiye, elonge nükleuslara, nadir mitotik figürlere ve yoğun olarak bazofilik kromatine sahiptirler. Sekretuar değişiklikleri yoktur ve stroma içsi ve nondesidualizedir (21).

Fonksiyonalis tabakası, menstrual döngünün geç dönem sekretuar evresinde ve hamilelik döneminde her birinin morfolojik görünümüne dayanarak iki tabakaya (kompaktum ve spongiozum) ayrılır (21).

Normal endometrium hem epitelyal (glanduler ve yüzeysel epiteli) hem de mezenkimal (stromal ve vasküler) elementler içerir (21).

- **Epitelyal elemanlar;** Endometrial glandüler ve yüzeysel epiteli her ikisi de aynı hücrenin fonksiyonel varyantları olan morfolojik olarak ayrı dört hücreden oluşur (21).
- 1. Proliferatif ve bazalis tipi hücreler: Nükleo-sitoplazmik oranı yüksek, elonge nükleuslu, dens kromatin ve belirsiz nükleola sahiptirler. Sitoplazmaları sınırlıdır. Proliferatif fazda iken mitotik figür sık görülür. Proliferatif endometrium, yuvarlak sınırlara sahip glandlardan oluşur ve kolumnar hücrelerin nükleusları psödostratifiye görünümündedir (21).
- 2. Sekretuar hücreler: Endometrial epitel hücrelerinin karakteristik sitoplazmik diferansiyasyonu nonmüsinöz sekretuardır. Ovulasyondan kısa bir süre sonra salgılayıcı ürünler proliferatif hücrelerde subnükleer bir yerde birikir; bu ürünler kademeli olarak bir supranükleer pozisyona geçer ve sonuç olarak salgı bezi lümenlerine boşaltılır. Bu da vakuolize ve nonvakuolize olmak üzere iki çeşit sekretuar hücre görülmesine yol açar. Vakuolize hücreler, proliferatif fazda görülen hücrelere benzer nükleuslara sahip olsalar da nonvakuolize hücreler, proliferatif hücrelerin, dens, bazofilik, elonge

nükleuslarının aksine, nükleusları yuvarlak, veziküler olup homojen dağılmış kromatine sahiptirler ve bazen nükleolleri belirgin hale gelir. Nonvakuolize salgılama hücreleri, homojen, orta derecede yoğun eozinofilik sitoplazmaya sahiptir (21).

3. Silyalı hücreler: Bu hücreler uterin isthmus yakınlarında ve proliferatif faz sırasında daha belirgindir (41, 42). Silyalı hücreler ince, noktasal kromatin içeren, yuvarlak, düzgün konturlu veziküler nükleuslara sahiptir. Silyalı hücreler, glandların hücre popülasyonunda baskın olduğu zaman, 'silyalı metaplazi' ve 'silyalı değişiklik' terimleri kullanılır (21).
4. Endometrial gland: Normal endometrial gland; proliferatif fazda psödostratifiye olan, nonstratifiye kuboidal-kolumnar, epitel ile döşelidir. Erken proliferatif fazda bezlerin lümenleri daralır. Proliferatif fazın ortalarından başlayarak ve döngünün geri kalanı boyunca bezler, artan kıvrımlanma gösterir, ancak dallanma göstermezler. Bu da glandların geç sekretuar ve menstrual endometriumda dişli testere görünümü ile sonuçlanır (21).

- **Mezenkimal elemanlar:**

1. Sellüler elemanlar: Endometrial stroma hücreleri, endometrial stromanın baskın sellüler komponentidir. Erken proliferatif fazda bu hücreler küçük boyuttadır (nötrofil boyutu kadar), belirsiz, dar sitoplazmaları; dens, oval-fuziform nükleusları mevcuttur. Menstrual siklus ilerledikçe stromal hücreler daha elonge hale gelir ve sitoplazma kazanır. Sekresyon fazının sonuna doğru, perivasküler stromal hücreler yuvarlaklaşır, daha fazla sitoplazma kazanır ve ara sıra belirgin nükleolleri olan veziküler çekirdekleri geliştirir. Sitoplazmik sınırlar tam olarak gelişir ve kademeli olarak tüm endometrial stroma, keskin ve belirgin sitoplazmik sınırlar, bol miktarda sitoplazma ve santral yerleşimli veziküler nükleusa sahip çokgen hücrelerden oluşan tabakalara dönüşür (21). Bu eşsiz müllerian stromal transformasyon tam olarak geliştiğinde (örneğin gebelik sırasında) desidualizasyon, kısmen de geliştiğinde (örneğin, adet döngüsünün geç salgı döneminde) predesidualizasyon denir (43).
2. Hematolenfoid hücreler: Özellikle geç sekretuar evrede ve gebelik sırasında öne çıkan ikinci bir hücresel yapı; uterin doğal öldürücü hücrelerdir (uterine natural killer) (uNK) (44). Bu hücreler bilobe nükleuslu, yuvarlaklırlar ve eozinofilik granül içeren soluk sitoplazmaları vardır. uNK'ların ölümü, menstrasyonda endometrial kırılmanın başlangıcının erken dönem olayı olabilir (22, 45, 46). Bu özellikli uNK hücrelerine ek olarak, endometrium, menstrual siklusa bağlı olan diğer lökosit alt kümelerini içerir.

Bu alt kümeler nötrofil ve eozinofil lökositler (her ikisi de premenstrüel evreye kadar nadir); makrofajlar; mast hücreleri ve T-lenfosit popülasyonlarıdır (döngü boyunca mevcut fakat sürekli olarak artmaktadır) (47, 48). Lenfoid foliküller sıklıkla normal endometriumun bazalis tabakasında mevcuttur (25).

3. Vasküler elemanlar: Endometriumun radyal arterleri, myometrial arcuat sisteminden kaynaklanmaktadır. Radyal arterler uterin kaviteye doğru ilerlerken bazal dallar verirler ve daha sonra endometrial spiral arterler olarak devam ederler. Bazal arterler steroid hormonlarına tepki göstermezken, spiral arterler hem proliferasyon hem de menstrüel siklusun luteal evresi sırasında aralıklı kontraksiyon ile değişen hormon seviyelerine cevap verir (21, 49).

Myometrium

Uterus duvarının, 3 tabakadan oluşan (iç longitudinal, orta sirküler, dış longitudinal) düz kas tabakasıdır. Orta sirküler tabaka yoğun vaskülarize niteliktedir ve arkuat arterleri içerir (25).

Korpus içindeki düz kas, kollajen ve elastine göre, serviksteki veya alt uterin segmentteki kastan daha yoğun miktardadır (21).

Myometriumda, özellikle endometrial siklusun sekretuar fazında seyrek normal mitotik figür ile karşılaşılabilir (50).

Seroza

Uterin korpus ve fundusun ince mezotelyal tabakasıdır (25)

UTERUS TÜMÖRLERİ

Sınıflama

Uterus tümörlerinin histolojik sınıflandırılması Tablo 1’de gösterilmiştir. Bu tablo Dünya Sağlık Örgütü’nün (DSÖ) en güncel histolojik sınıflamasını içermektedir (1). Uterus tümörleri kabaca epitelyal tümörler ve prekürsörleri, epitelyal tümör benzeri lezyonlar, mezenkimal tümörler, mikst epitelyal ve mezenkimal tümörler, lenfoid ve myeloid tümörler ve sekonder tümörler olarak sınıflandırılabilir. Epitelyal tümörlerde de tümörler dışında; endometrial tümör öncü lezyonları olan atipisiz hiperplazi ve atipili hiperplazi/ endometrioid intraepitelyal neoplazi ve tümör benzeri lezyonlar olan; polip, metaplazi, aria stella reaksiyonu da sınıflamada yer almaktadır (1).

Tablo 1. Uterin korpus tümörlerinin histolojik sınıflaması (1)

1. Epitelyal Tümörler ve Prekürsörleri
A. Endometrial Karsinomlar
A1.Endometrioid Karsinom
<ul style="list-style-type: none">• Skuamöz differensiasyon• Villoglandüler• Sekretuar
A.2. Müsinöz Karsinom
A.3. Seröz Endometriyal İntraepitelyal Karsinom
A.4. Seröz Karsinom
A.5. Berrak Hücreli Karsinom
A.6. Nöroendokrin Tümörler
<ul style="list-style-type: none">• Düşük Dereceli Nöroendokrin Tümör• Karsinoid Tümör• Yüksek Dereceli Nöroendokrin Karsinom• Küçük Hücreli Nöroendokrin Karsinom• Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom
A.7. Mikst Hücreli Adenokarsinom
A.8.Andiferansiye Karsinom
A.9.Dediferansiye Karsinom
B. Prekürsörleri
<ul style="list-style-type: none">• Atipisiz Hiperplazi• Atipik hiperplazi/ Endometrioid intraepitelyal neoplazi
C. Tümör benzeri lezyonlar
<ul style="list-style-type: none">• Polip• Metaplazi• Arias-Stella reaksiyonu• Lenfoma-benzeri lezyonlar
2. Mezenkimal Tümörler
A. Leiomyom
<ul style="list-style-type: none">• Sellüler leiomyom• Bizar nükleuslu leiomyom• Mitotik olarak aktif leiomyom• Hidropik leiomyom• Apoplektik leiomyom• Lipomatöz leiomyom (lipoleiomyoma)• Epiteloid leiomyom• Miksoid leiomyom
B. Malignite Potansiyeli Belirsiz Düz Kas Tümörü
C.Leiomyosarkom
<ul style="list-style-type: none">• Epiteloid leiomyosarkom• Miksoid leiomyosarkom
D.Endometriyal Stromal ve İlişkili Tümörler
<ul style="list-style-type: none">• Endometriyal stromal nodül• Düşük dereceli endometriyal stromal sarkom• Yüksek dereceli endometriyal stromal sarkom• Andiferansiye uterin sarkom• Ovaryan sex kord tümörünü andıran uterin tümör

Tablo 1 (devamı). Uterin korpus tümörlerinin histolojik sınıflaması (1)

3. Mikst Epitelyal ve Mezenkimal Tümörler
A. Adenomyom
B. Atipik Polipoid Adenomyom
C. Adenofibrom
D. Adenosarkom
E. Karsinosarkom
4. Diğer Tümörler
A. Adenomatoid Tümör
B. Nöroektodermal Tümörler
C. Germ Hücreli Tümörler
5. Lenfoid ve Myeloid Tümörler
A. Lenfomalar
B. Myeloid Neoplazmlar
6. Sekonder Tümörler

İnsidans ve Epidemiyoloji

Uterin epitelyal tümörlerinden, endometrial karsinomlar, gelişmekte olan ülkelerde, kadın genital sistemin en sık görülen tümörleridir. Her yıl her 100.000 kadında 10 vaka tespit edilmektedir (51). Yaşam boyu %2,5 oranında görülme riski ile beraber Amerika Birleşik Devletleri (ABD) 'nde en sık görülen jinekolojik kanser tipidir. Tüm dünyada bir yılda 150.000 endometrial kanser tespit edilmektedir (51). En sık postmenapozal kadınlarda görülmektedir. Median görülme yaşı 63 yaştır. Vakaların %90'ı menapoz sonrası iken yalnızca %1' i 40 yaş altındadır (26).

Risk faktörleri; obezite, erken menarş geç menapoz, yüksek protein ve kalori içeren diyet, nullipar diyabetik kişiler, devam eden östrojen sitümalasyonu, etnik faktör olarak; beyaz ırk, genetik faktörler; PTEN, PIK3CA, K-RAS ve p53 mutasyonu, hMSH 2, 3, 6, geninde hipermetilasyondan dolayı mikrosatellit instabilitedir (51).

Uterin mezenkimal tümörleri; oldukça geniş ve çeşitli bir grup tümörlerdir. Tüm tiplerdeki malign mezenkimal tümörler, uterusun malign tümörlerinin yaklaşık % 2-3'ünü oluşturur. En sık görülen benign ve malign tümörleri sırasıyla, leiomyom ve leiomyosarkomdur (26). Diğer mezenkimal tümörlerden, gözle görülür şekilde daha az sıklıkla görülen; benign (endometriyal stromal nodül-ESN) veya malign (endometrial stromal sarkom, ESS) olabilen endometriyal stromal orijinli tümörlerdir. Endometrial stromal orijinli tümörlerden endometrial stromal nodül oldukça nadir olup tüm uterus malignitelerinin % 0,2'sini oluşturur. Düşük dereceli endometrial stromal sarkom tüm uterus malignitelerinin %0,2-1'ini, uterus

mezenkimal tümörlerinin ise %15'ini oluşturmaktadır. Ortalama görülme yaşı 50'dir. Yüksek dereceli endometrial stromal sarkom ise oldukça nadir olup insidansı bilinmemektedir (51).

Mezenkimal tümörlerin, overin seks kord tümörünü andıran tümör gibi çeşitli morfolojik varyantları da mevcuttur. Bir başka tür ise, her ikisi de benign veya malign olabilen, hem glandüler hem mezenkimal elemanlardan oluşan mikst mezenkimal ve epitelyal tümörler olup mikst müllerian tümörler olarak da bilinen tümörlerdir (1,26).

Uterin mezenkimal tümörlerden leiomyom en sık görülen uterin neoplazmlardır. Kadınların yaklaşık %20'si etkilenmektedir. Histerektomi spesimenlerinin %70'inde mevcuttur. Siyah ırkta görülme olasılıkları daha fazladır. Leiomyosarkomlar, uterin kanserlerin %1-2'sini oluşturur, tüm uterin sarkomların %40'ıdır. Leiomyom, leiomyosarkom oranı 800:1'dir (1,51). Baskın olarak 50 yaşından sonra görülmektedir (26).

Uterin mikst epitelyal ve mezenkimal tümörler, neoplastik olan epitelyal ve mezenkimal komponentlerin malign ya da benign olmasına bağlı olarak sınıflandırılmaktadır. Bu gruba giren tümörler; adenomyom, atipik polipoid adenomyom, adenofibrom, adenokarsinom ve karsinosarkomdur (1).

Hem malign epitelyal komponent hem de malign mezenkimal komponent içeren, sinonim adı malign mikst müllerian tümör olan karsinosarkomlar, tüm uterin malignitelerin %5'ini oluşturmaktadır. Afrika kökenli olan kadınlarda daha sık görülmektedir, ortalama görülme yaşı 55'tir. Tamoksifen tedavisi görmüş hastalarda risk daha fazladır. Az görülmesine rağmen agresif bir klinik gidiş gösterirler ve uterin malignitelerden dolayı gerçekleşen ölümlerin %16'sını oluştururlar (2, 9).

UTERUSUN EPİTELYAL TÜMÖRLERİ

Endometrial Adenokarsinom

Endometrial adenokarsinomlar Tip 1 (Endometrioid tip) Tip 2 (Nonendometrioid tip) olarak iki gruba ayrılmaktadır. Tablo 2' de bu iki tipin özellikleri karşılaştırılmıştır (51-53).

Tablo 2. Tip 1 ve Tip 2 Endometrial Karsinom (16, 51)

Özellikler	Tip1	Tip2
Yaş	Ortalama yaş 50-60 yaş	Ortalama yaş 60-70 yaş
Östrojenik stimülasyon	Mevcut	Yok
Atipili hiperplazi ile ilişkisi	Mevcut	Yok
Tümör derecesi	Genellikle düşük dereceli	Genellikle yüksek dereceli
Histolojik tip	Endometrioid karsinom ve müsinöz karsinom	Seröz ve berrak hücreli karsinom
Myometrial invazyon	Minimal	Daha derin
Tümör yayılımı	Lenf nodları tutulur.	Peritoneal yayılım daha sıktır.
Genetik değişiklik türü	Mikrosatellit instabilite (MSI), PTEN, K-RAS, CTNNB1	P53, PIK3CA

Endometrioid Adenokarsinom

Endometrioid tümörler, endometrial karsinomların %70-80'ni oluşturmaktadır. Ortalama görülme yaşı 55'tir. Postmenapozal kadınlarda anormal vajinal kanama ve perimenapozal menoraji ile prezente olur (1, 51).

Endometrioid adenokarsinomların da üç subtipi mevcuttur (1).

- Skuamöz diferansiyasyon
- Villoglandüler
- Sekretuar

Makroskopik olarak; egzofitik büyüme patternine sahip, gri, solid ve dağılıbilir kıvamda olup hemoraji ve nekroz içerirler. Tümör ya itici ya da infiltratif büyüme göstererek derin myometriumu invaze eder (51).

Histopatolojik olarak normal endometriuma benzerler. Glandüler pattern ve hücreli özellikler, proliferatif fazdaki endometriuma benzerlik gösterir (26). Sırt sırta vermiş glandlar, kompleks dallanma, değişen oranlarda solid alanlar, orta dereceli nükleer irileşme ve pleomorfizm gösteren kuboidal hücreler ve belirgin nükleol içermeleri diğer histopatolojik özelliklerindedir (1,26).

Endometrioid karsinomlarda yapısal ve nükleer derecelendirme (Tablo 4) yapılmaktadır. Yapısal derecelendirme; skuamöz ya da moruler komponent dahil edilmeden solid alanların oranına bakılarak yapılır (Tablo 3).

Tablo 3. Endometrioid Tümörlerde Yapısal Derecelendirme (1, 51)

Grade 1	Solid alanlar %5 ya da daha az
Grade 2	Solid alanlar %6-%50 arasında
Grade 3	Solid alanlar %50'nin üzerinde

Tablo 4. Endometrioid Tümörlerde Nükleer Derecelendirme (1, 51)

Grade 1	Belirgin nükleol içeren, hafif dereceli büyümüş ve hafif dereceli pleomorfik nükleus, ince kromatin
Grade 2	Grade 1 ve grade 3 arası
Grade 3	Belirgin bir biçimde büyümüş nükleol içeren şiddetli pleomorfizm gösteren nükleus

Genel derecelendirme; belirgin nükleer atipi varlığında yapısal derecelendirmenin derecesine 1 eklenerek yükseltilebilir. Örneğin, belirgin nükleer atipisi olan yapısal derece 2 bir tümör derece 3 tümör olarak kabul edilir (54).

Tümörün myometrial invazyon paterni itici ya da infiltratif olabilir. Tümör sınırları, myometrial dokuyu iterek veya tümör dokusunun multipl kordları ya da adaları derin myometriumu invaze ederek infiltrasyon gösterebilir (53).

Endometrioid karsinomların moleküler profilinde, PTEN, KRAS, p53, PIK3ca, CTNNB1 genleri, mikrosatellit instabilitesi ve MLH 1 geni promotor bölgesi metilasyonu görülür (16,55).

Skumöz Diferansiyasyon Gösteren Endometrioid Karsinom

Endometrioid karsinomların yaklaşık %20'si skumöz diferansiyasyon göstermektedir. Tanı kriteri; tümörün en az %10'luk alanının skumöz diferansiyasyon göstermesidir. Skumöz hücreleri tanımlamak için tanı kılavuzu ise aşağıdaki gibidir (26,56).

- Rutin kesitte keratinizasyon bulgusu,
- Hücreler arası köprü varlığı,
- Aşağıdakilerden en az 3 özellik;
 - Glandüler diferansiyasyon göstermeyen hücre tabakaları,
 - Eozinofilik sitoplazma varlığı,
 - Keratin incileri,
 - Belirgin hücre sınırları

Villoglandüler Endometrioid Karsinom

İyi diferansiye endometrioid adenokarsinomun bir varyantıdır. Tüm endometrioid karsinomların % 20-% 30'unu oluşturur. Ortalama görülme yaşı 61'dir (57).

Histopatolojik olarak tanıya yardımcı olacak özellikleri ise aşağıdaki gibi özetlenebilir (51, 58, 59).

- Fibrovasküler koru olan uzun ve ince papillalar

- Papillaların çok katlı, kolumnar, döşeyici epitel hücreleri ile örtülmesi
- Tümör hücrelerinde hafif dereceli pleomorfizm gösteren nükleus
- Baskın olarak superfisiyal olması
- Hücrelerin nükleer aksının bazal membrana dik olması

Sekretuar Endometrioid Karsinom

İyi diferansiye endometrioid adenokarsinomun subtipidir. Endometrioid karsinomların %1'ini oluşturmaktadır (51).

Histopatolojik olarak erken sekretuar endometriuma benzer; fakat glandlar daha büyüktür ve arada az miktarda stroma ile birbirlerine daha yakın organize olurlar. Glandlar belirgin subnükleer ve supranükleer vakuoller içeren uzun, kolumnar epitelyal hücrelerle döşenir. Hafif-orta dereceli nükleer atipi mevcuttur. Genellikle iyi diferansiyedir (51,60). Tanıya yardımcı olabilecek histolojik özellikler aşağıdaki gibidir (51).

- Arada stroma olmaksızın kalabalıklaşan glandlar,
- Nükleer irileşme ve pleomorfizm,
- Subnükleer ve supranükleer sitoplazmik vakuolizasyon,
- Komşu bölgelerde tipik endometrioid karsinom alanlarının olması.

Müsinöz Karsinom

Endometrial karsinomaların yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (51). Tanı kriteri; malign hücrelerin en az %50'sinin müsinöz diferansiyasyon göstermesi ve müsinöz materyalin PAS pozitif olup, diyastaza da dirençli olması gerekliliğidir (51,61).

Histopatolojik özellikleri aşağıdaki gibidir (51,62);

- Arada stroma olmaksızın birleşen, multiple glandlar,
- Papiller yapılar,
- Glandüler ve villoglandüler yapıların varlığı,
- Nükleer irileşme ve pleomorfizm,
- Tümörün %50'den fazla alanda müsinöz sitoplazma bulunması ve hücreler histokimyasal PAS boyası ile pozitif olup, diyastaza dirençli olmalarıdır. (Müsinöz alanlar %50'den az ise endometrioid karsinom olarak isimlendirilmelidir.)
- Müsinöz materyal ayrıca Alcian Blue ve Müsikarmin histokimyasal boyaları ile de pozitiflik gösterir.

Berrak Hücreli Karsinom

Tüm endometrial karsinomların %2-5'ini oluşturur, çoğunlukla postmenapozal kadınlarda, endometrioid adenokarsinomlardan daha geç yaşta (65-69 yaş) ortaya çıkan, papiller, tubulokistik ya da solid pattern gösteren, berrak ya da zaman zaman eozinofilik ya da 'hobnail' ('kabara çivisi') özellikte hücreler içeren endometrial adenokarsinomlardır (56,63,64).

Histopatolojik olarak; tubuler, solid ya da papiller patternde olabilir (51).

- Tubuler Pattern:
 - Multiple gland benzeri yapılanma
 - Belirgin hobnail görünümü: Nükleusun hücreden dışarı doğru çıkıntı yapması
 - Lümen eozinofilik materyal
 - Berrak sitoplazma içeren poligonal hücreler
- Papiller Pattern:
 - Multiple küçük papillalar
 - Ödematöz ve hyalinize papiller kor
 - Tek sıralı hücre dizilimi
 - Nükleuslar belirgin olarak pleomorfiktir ve belirgin nükleol içerir
- Solid Pattern
 - Hücreler solid tabakalar oluşturur
 - Berrak sitoplazmalı hücreler santral nükleus içerir

Histolojik özelliklerine ek olarak, ¾ vakada eozinofilik hyalen globül bulunabilir (51).

Berrak hücreli karsinomun genetik profilinde, %40 oranında p53 ve PTEN mutasyonu görülür ve PIK3CA mutasyonu vardır (19, 55).

Seröz Endometrial İntraepitelyal Karsinom

Seröz intraepitelyal karsinom, invaziv seröz karsinomun prekürsörüdür (34, 65).

Tipik olarak atrofik endometriumda ortaya çıkar, endometrial polibin, fokal, küçük bir alanında olabilir, genellikle altta yatan seröz karsinomla ilişkilidir, östrojenik hiperaktivite ile ilişkisi yoktur (51).

Histopatolojik özellikleri ise aşağıdaki gibidir (51);

- Yalnızca endometriumun yüzeyi ya da yüzeyel endometrial glandlar etkilenir, belirgin nükleer atipi ve yüksek mitotik indeks gösterir.

- Hobnail görüntü mevcuttur.
- Birleşen gland patterni ve stromal dezmoplazi yoktur.
- En büyük boyutu 1 mm'den küçüktür.
- Epitelyal hücrelerin nükleusları; belirgin irileşme, pleomorfizm, yüksek nükleositoplazmik oran gösterirler.
- Güçlü p53 immunohistokimyasal boyanması ve yüksek Ki67 indeksine sahiptirler ve östrojen ve progesteron kaybı mevcuttur (34).

Seröz Karsinom

Endometrial karsinomların %5-10'unu oluştururlar, tip 2 endometrial karsinomun prototipidir (66). Seröz karsinomu olan kadınlar, endometrioid karsinomlu kadınlardan daha az obez, sıklıkla multipar, meme kanseri öyküsü olup tamoksifen kullanmış, post-tubal ligasyon geçirmiş olan kadınlardır (67). Östrojenik hiperaktivite ile ilişkisizdir (51). Hastalar postmenapozal ve 60'lı yaşların geç dönemindedir (51).

Genetik özellikleri (51);

- p53 mutasyon: 90% vakada,
- PIK3CA mutasyonu: 40% vakada,
- FBXW7 mutasyonu: 20% vakada görülmektedir.

Histopatolojik olarak, çoğunlukla papiller pattern göstermekle birlikte, daha nadir olarak solid ve glanduler alanlar içerir. Tümör hücreleri iri, kuboidal-poligonal şekillidir ve bol miktarda eozinofilik sitoplazmaları vardır. Nükleuslar yüksek nükleositoplazmik orana sahiptir ve orta-yüksek dereceli pleomorfizm içerirler. Makronükleol, multinükleer dev hücreler ve yüksek mitotik aktivite mevcuttur. Derin myometrial ve lenfovasküler invazyon sık görülmektedir. Belirgin hobnail görüntü ve psammom cisimcikleri mevcuttur. Papiller ve glanduler pattern, yarık benzeri boşluklar, az diferansiye solid komponent, mikrokistik pattern görülen diğer özellikleridir (51,68).

Yüksek dereceli glandüler endometrial adenokarsinomların müphem özelliklere sahip, bir alt kümesi vardır (69). Bu alt kümedeki tümörler seröz ya da endometrial diferansiasyonu yansıtabilir (69). P53 immunohistokimyasal boyamalar bu durumda yardımcı olabilir, çünkü anormal p53 ekspresyonu (tümör hücrelerinin en az %75'inin yoğun ve yaygın olarak boyanması veya p53 immünoaktivitesinin tamamen yokluğu) bir P53 mutasyonu ile ilişkilidir ve seröz karsinom teşhisini destekler. Buna karşılık, neoplastik hücrelerin %75'inden daha azında değişken yoğunluk gösteren p53 boyanması, mutasyon içermeyen (wild-type) P53 ile

koreledir ve bu nedenle bu boyanma muhtemelen yüksek dereceli bir endometrioid karsinomu destekler. Çok yüksek bir Ki-67 indeksi de seröz karsinom için daha tipiktir. Bu tümörlerin bazıları ise gerçek, karışık seröz ve endometrioid karsinomu temsil etmektedir. Seröz karsinomun yüksek derecede agresif doğası nedeniyle, klinisyenler, seröz karsinomun nispeten küçük bir bileşenini bile saf seröz karsinom için eşdeğer olarak görmekte-dirler (1,69).

Tip 2 endometrial karsinomun prototipi olan seröz karsinom, her zaman villoglandüler karsinomdan ve Grade 3 endometrioid karsinomdan ayrılmalıdır (51).

Mikst Karsinomlar

Tip 1 ve Tip 2 karsinomların her ikisini de içerir; ve komponentlerden birinin tümör kitlesinin %5'inden fazlasını oluşturması gereklidir. En sık kombinasyon endometrioid ve seröz komponentin birlikte bulunduğu komponenttir (51).

Diğer epitelyal tümörler ise aşağıdaki gibi özetlenebilir (1);

- Adenoskuamöz Karsinom
- Adenokistik Karsinom
- Nöroendokrin Tümörler
 - Düşük Dereceli Nöroendokrin Tümör
 - Karsinoid Tümör
 - Yüksek Dereceli Nöroendokrin Tümör
 - Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom
 - Küçük Hücreli Nöroendokrin Karsinom

UTERUSUN MEZENKİMAL TÜMÖRLERİ

Leiomyom

En sık görülen uterin neoplazmdır. Kadınların yaklaşık %20'sinde görülmektedir (51).

Leiomyomların çoğu, iyi sınırlara sahiptir ve çaprazlaşan iğsi hücre fasiküllerinden oluşur. Hücreler belirgin sınırları, eozinofilik fibriller sitoplazma ve küçük nükleolü olan puro şeklindeki çekirdeklere sahiptir; mitoz nadirdir (1). Leiomyom tipleri ise şöyledir (1,51).

- Sellüler leiomyom
- Miksoid leiomyom
- Lipoleiomyom
- Epiteloid leiomyom

- Bizar nükleuslu leiomyom
- Lenfoid infiltrat içeren leiomyom
- İntravenöz leiomyom
- Mitotik olarak aktif leiomyom
- Hidropik leiomyom
- Apoplektik leiomyom

Leiomyosarkom

Tüm uterin kanserlerin %1-2'sini oluştururlar; tüm uterin sarkomların ise %40'ıdır (1, 51).

Kesit yüzleri tipik olarak; düzensiz sınırlı; yumuşak, yüzeye doğru kabaran, et görünümünde, nekrotik ve hemorajiktir. Nadir görülen miksoid tümörlerin kesit yüzeyi ise tipik olarak jelatinözdür ve aldaticı bir şekilde iyi sınırlı olabilir (70).

Histopatolojik olarak, eozinofilik sitoplazması olan elonge-iğsi hücrelerden oluşan fasiküler yapılar bulunmaktadır. Nükleer atipi orta şiddetlidir. Mitoz 10 BBA'da (Büyük Büyütme Alanı) 10'dan fazladır. Koagülatif nekroz mevcuttur ve vasküler invazyon sık görülmektedir (51). Mitotik indeks sıklıkla yüksektir (71).

Diğer nadir görülen mezenkimal tümörler ise aşağıdaki gibi özetlenebilir (1):

- Endometrial Stromal Nodül
- Düşük Dereceli Endometrial Stromal Sarkom
- Yüksek Dereceli Endometrial Stromal Sarkom
- Andiferansiye uterin sarkom
- Overin Sex Kord Tümörünü Andıran Uterin Tümör
- Rabdomyosarkom
- Malignite Potansiyeli Belirsiz Düz Kas Tümörü

MİKST EPİTELYAL MEZENKİMAL TÜMÖRLER

Uterus korpusu, fallop tüpleri, vajinanın üst kısmı, ürogenital çıkıntının mezenkiminden ve çöломik döşeyici epitelden gelişen ilkel paramesonefrik (müllerian) kanallardanköken alan tümörlerdir. Bu öncül hücre topluluğu, nihai olarak uterusu oluşturan tüm elemanlara diferansiye olabilir; myometrial düz kas, endometrial stroma ve endometrial bezler. Bu nedenle uterusun düz kas tümörleri ve endometrial stromal tümörlerin yanı sıra endometrial

karsinomların tümünün menşei müllerian'dır. Bu nedenle, mikst epitelyal mezenkimal tümörler için 'mikst müllerian tümörler' terimi de kullanılır. Bu karışık neoplazmlar uterusu da diğer yerlerden daha yaygındır, çünkü muhtemelen bu bölgedeki epitel ve mezenkimal ortak bir embriyolojik kökene sahiptir (26).

Mikst epitelyal, mezenkimal tümörler neoplastik süreçte aktif katılımcı olarak hem epitelyal hem de mezenkimal elemanları içerirler (Tablo 5) (72).

Tablo 5. Uterusun mikst epitelyal mezenkimal tümörleri (72)

Tümör	Malignite Potansiyeli	Epitelyum	Mezenkimal Komponent
Adenofibrom	Yok; Benign	Benign	Benign; homolog
Adenosarkom	Düşük	Benign	Malign; homolog veya heterolog
Karsinosarkom(Mikst müllerian tümör)	Yüksek	Karsinom	Malign; yüksek dereceli homolog veya heterolog

Adenofibrom

Adenofibrom tipik olarak endometriyumda ortaya çıkan benign bifazik bir neoplazmdır (73). Median görülme yaşı 68'dir; çoğu kadın hasta perimenapozal ya da postmenapozal dönemdedir (72). Bu tümör son derece nadirdir ve güç tanınan, hemen göze çarpmayan bir malign stromal bileşeni olan çok daha yaygın adenosarkomlardan ayırt edilmesi gerekir (73).

Histolojik olarak; benign epitelyal ve mezenkimal komponentin karışımını içerir (72). Epitelyal komponent, genellikle endometrioid tiptir (26). Fibroblastik tip ve daha nadiren endometrial stroma veya düz kas hücreleri mezenkimal elemanı oluşturur; nadiren iskelet kası veya adipöz komponentler bildirilmiştir: bu lezyonlar lipoadenofibroma veya adenomyofibroma olarak belirlenmiştir (74).

Adenosarkom

Benign neoplastik glanduler elemanlardan ve sarkomatöz komponentten oluşabildiği gibi; sıklıkla düşük dereceli stromal elemanlar içerir (26).

Histolojik olarak; tübüler glandlar ve yarı benzeri boşluklar tümörün tamamına yayılır ve yüzeysel, kistlere doğru uzanan benign epitel ile döşeli papiller stromal yapraklar, memenin Phyllodes tümör benzeri bir görünümle sonuçlanır (73,75). Yüzey ve gland epiteli, sıklıkla proliferatif veya inaktif endometrial epitele benzerlik gösterir. Mezenkimal komponent ise genellikle endometrial stromal sarkom gibi homolog düşük dereceli bir sarkom ya da

endometrial stromal sarkomun fibroblastik varyantına benzerlik gösteren, fibroblastik/myofibroblastik sarkomdur (75-77).

Karsinosarkom

Yüksek dereceli sarkomatöz ve karsinomatöz elementlerden oluşan bifazik tümördür

(1). Sinonimi malign mikst müllerian tümördür (1).

Diğer mikst epitelyal mezenkimal tümörler ise kısaca aşağıdaki gibidir;

- **Adenomyom:** Etrafındaki myometriyal doku ile birlikte; endometrial bezler ve stroma içeren ve tümör benzeri kitlelerle karakterizedir. 25-65 yaş aralığında görülebilmektedir (51). Adenomyomlar, ve tipik olarak baskın komponent olan, düz kas fasikülleri ile çevrili, endometrial stroma ile çevrili endometrial tip epitel ile döşeli kistik olarak dilate olabilen glandlardan oluşur (1).
- **Atipik Polipoid Adenomyom:** Sitolojik atipi gösteren glandlardan ve yapısal kompleksite gelişmiş fibromusküler stromadan meydana gelen polipoid lezyonlardır (1).

KARSİNOSARKOM (MALİGN MİKST MÜLLERIAN TÜMÖR)

Malign mezodermal (Müllerian) mikst tümörler (MMMT), uterin korpusdaki tüm malign neoplazmların %5'inden azını oluşturmaktadır (78). Karsinosarkomların (MMMT'lerin) bifazik görünümü nedeniyle, histopatogenezi hakkında ciddi tartışmalar olmuştur. Son zamanlarda yapılan klinikopatolojik, immünohistokimyasal ve moleküler genetik çalışmalar, MMMT'lerin çoğunun muhtemelen metaplazi ve / veya tümör ilerlemesinin bir sonucu olarak mezenkimal bir bileşeni olan karsinomları temsil ettiğine dair önemli kanıtlar sağlamıştır (7,79).

Bazı MMMT'ler bir adenosarkomun ilerlemesi ile de ortaya çıkabilir. Bu da, MMMT'lerin üçte birinden fazlasının adenosarkoma yakından benzeyen bölgeler içermesi ve MMMT'ye benzeyen adenosarkomlardan metastazlarını rapor eden çalışmaların tanınması ile desteklenmektedir (75, 80).

İnsidans ve Epidemiyoloji

Karsinosarkomlar, tüm uterin malignitelerinin %5'inden azını oluşturmaktadır (1,72). Ortalama görülme yaşı 65'tir, en sık postmenapozal kadınlarda görülür; bazen daha genç kadınlarda ve çocuklarda da ortaya çıkabilmektedir (26). Afrika kökenli-Amerika'lı kadınlarda daha sık görülür (51).

Karsinosarkom için risk faktörlerinin, hastalığın düşük prevalansı nedeniyle sağlam epidemiyolojik çalışmalar yapılmadığından belirlenmesi zor olmuştur. Karsinosarkomlu hastalar, endometrial karsinomu olan hastalarla aynı risk faktörlerini (obezite, ekzojen östrojen kullanımı, nulliparite) paylaşmaktadır (8). Meme kanseri tedavisinde kullanılan tamoksifen tedavisi ve uzun süreli karşılanmamış östrojen ile ilişkisi mevcuttur (81-83). Tamoksifen tedavisi kesildikten sonra bile risk artabilir (84). Ayrıca rektal ve servikal karsinomlar için alınan pelvik radyoterapinin uzun süreli komplikasyonu olarak da ortaya çıkabilir (85, 86). İşinlamadan tümör gelişimine kadar geçen ortalama süre 10 ila 20 yıl arasındadır (87).

Klinik Özellikleri

Klinik olarak tıpkı endometrial karsinomlar gibi anormal vajinal kanama ile prezente olurlar. Karsinosarkomun diğer tipik prezentasyonu ise, servikal osa protrüde olan polipoid kitledir (88, 89).

Endometrial karsinomlar gibi karsinosarkomlar da pelvik ve paraaortik lenf nodlarına, pelvik yumuşak dokulara, vajinaya, peritoneal yüzeylere metastaz yaparlar (90, 91). Metastazların histolojik görünümü değişkendir. Metastatik karsinosarkom üzerine yapılan birkaç çalışma, lenfatik veya vasküler invazyon alanlarında invaziv odakların her zaman pür karsinom ve metastatik lezyonların baskın olarak tamamen karsinom olduğunu göstermiştir; bazen karsinom ve sarkom karışımları bulunur ve nadiren saf sarkomla karşılaşılır (78, 92, 93).

Yaklaşık olarak hastaların üçte birinde, tanı anında, ektrauterin yayılım mevcuttur. Hastaların yaklaşık yarısında da tümör servikse doğru prolabe olur (78, 88, 89, 94).

Makroskopik Özellikleri

Karsinosarkomlar genellikle polipoiddirler ve tüm endometrial kaviteyi doldururlar (72). Sıklıkla servikse protrude olurlar. Vakaların yaklaşık dörtte birinde uterus tümörü endoserviks içine uzanır (72).

Bazıları atrofik uterusu ortaya çıkarırken, diğerleri de uterusun şeklini tümüyle ortadan kaldıran büyük kitleler halinde gelişir. Bu vakalarda tümör uterus duvarını infiltre edip genişleterek uterusu büyütür (26).

Çoğu myometriumu invaze eder, bazıları da poliplerle sınırlıdır. Tümörün kesit yüzünde geniş nekroz, kanama alanları ve kistik dejenerasyon izlenir, tümörler yumuşak kıvamdan sert kıvama değişkenlik gösterebilir (26, 72).

Mikroskopik Özellikleri

Tümörler, homojen olarak karsinomatöz ve malign mezenkimal komponentin karışımından oluşur. İki bileşen genellikle belirgin ve keskin bir şekilde ayrılmıştır, ancak geçiş alanları gözlenebilir. Çoğu karsinosarkom vakasında epitelyal komponentin alt sınıflandırmasını yapmak oldukça zordur (72) (Şekil 12).

Karsinosarkomlarda en sık görülen karsinom bileşenleri seröz karsinom ve tiplendirme yapılmamış (Not Otherwise Specified-NOS) yüksek dereceli karsinomlardır (95) (Şekil 4,5). Berrak hücreli karsinom, müsinöz karsinom, skuamöz hücreli karsinom ve mezonefrik karsinom da epitelyal komponent olarak bulunabilir; fakat oldukça nadirdir (78,91,93).

Vakaların yaklaşık yarısında yüksek dereceli iğsi hücreli (fibrosarkom gibi) veya pleomorfik (malign fibröz histiyositoma gibi) olan homolog bir stromal bileşen göstermektedir (Şekil 7,8). Homolog stromal bileşen, nadiren leiomyosarkom veya düşük dereceli endometrial stromal sarkoma benzerlik gösterir (78,96). Heterolog element mevcut olduğundan en sık; rabdomyosarkom ve kondrosarkom ile karşılaştırılır (78,95,97) (Şekil 1,2,3).

En sık karşılaşılan heterolog eleman, rabdomyoblastların iyi diferansiye ve çapraz çizgilere sahip olması durumunda kolayca tanımlanabilen çizgili kastır. Çapraz çizgiler H&E boyamada tanımlanabilir, ancak tanımaya fosfotungistik asit hematoksilan (PTAH) veya immünohistokimya ile boyama ile yardımcı olabilir (26).

Bazen sarkomatöz bileşen, karsinomun tanımlanmasının zor olabileceği ölçüde baskın olur ve bunu göstermek için kapsamlı örnekleme yapılması gerekir. Yüksek dereceli sarkom, özellikle de heterolog elementlerden oluşan herhangi bir uterus neoplazmı, karsinosarkomu dışlamak için kapsamlı olarak örneklenmelidir. Bazı durumlarda, karsinom komponenti baskındır (26).

Karsinosarkomlarda görülen, karsinom ve sarkomatöz komponentleri özetlemek gerekirse (51);

- Karsinom komponenti:
 - Yüksek dereceli endometrioid karsinom (Şekil 6)
 - Seröz veya berrak hücreli karsinom
- Sarkomatöz komponent
 - Homolog: leiomyosarkom, endometrial stromal sarkom, andifferansiye sarkom
 - Heterolog: Rhabdomyosarkom (Şekil 10), kondrosarkom (Şekil 1,2,3,9), liposarkom, osteosarkom

Klinik ve Prognostik Özellikler

Bu tümörler kötü prognoza sahiptir ve yüksek dereceli endometrial karsinomlara benzer bir yayılma paterni gösterirler (95,98,99).

Klinik olarak evre I hastalığı olan hastaların yüksek bir bölümünde, tanı anında ekstrauterin yayılım mevcuttur. Metastatik yayılım tipik olarak bazen akciğer, beyin ve kemiğe uzak hematogen metastazlar olabileceği gibi pelvik ve para-aortik lenf nodlarına da olabilir. İleri evre hastalık ve metastaz riski, myometrial invazyonun derinliği ile yakından ilgilidir. Seröz ve berrak hücreli karsinom elementleri, diğer olumsuz prognostik özelliklerin sıklığı ile ilişkilidir. Heterolog elementlerin varlığı evre I hastalarında istatistiksel olarak anlamlı bir kötü prognostik faktördür; rabdomyosarkomatöz bileşenin varlığı ise en kötü prognozudur (1,95).

Ekstrauterin yayılım ve / veya lenfovasküler invazyon ile birlikte derin myometrial invazyonun sağkalımın bağımsız belirleyicileri olduğu bildirilmiştir (98-104).

Evre I karsinosarkomların, FIGO evre I, FIGO evre 3 endometrioid, seröz ya da berrak hücreli karsinomlu hastalarının kontrol grubuna kıyasla daha agresif bir hastalık olduğunu doğrulayan bir çalışma mevcuttur (95).

Evreleme protokolünde, American Joint Committee on Cancer (AJCC) 2016 (8.baskı) ve International Federation of Gynecology and Obstetric (FIGO) 2015 Kanser Raporu önerilerine göre, karsinosarkomlar, endometrial karsinomlar ile aynı kriterlere sahiptir (54,105).

Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu, International Federation of Gynecology and Obstetric (FIGO) histolojik evrelemesi ise karsinosarkomlar için önerilmez, bu tümörlerin yüksek dereceli olarak kabul edilmesi önerilir (105,106). AJCC (American Joint Committee on Cancer) TNM (T(tümör), N(nod=lenf nodu) ve M(metastaz))-bazlı tümör evreleme sistemi Tablo 6'da gösterilmiştir (106).

Karsinosarkomlu hastaların 5 yıllık sağkalımlarının %18 ila %39 olduğu bildirilmektedir (107-109). 5 yıllık sağkalım oranı ortalama %35'dir. Ortalama sağkalım 2 yıldır (109-111). Prognostik faktörlerin özeti aşağıdaki gibidir (51);

- Tümör evresi,
- İleri yaş: 70 yaş ve üzeri,
- Lenfovasküler invazyon,
- Myometrial invazyon,
- Non endometrioid karsinom; berrak ya da seröz karsinom.

Tablo 6. AJCC/TNM bazlı karsinosarkom kanser evrelemesi (1,106)

Primer Tümör (T)
Tx= Primer tümör değerlendirilemedi
T0= Primer tümör kanıtı yok
T1= Tümör korpus uterusu sınırlıdır; endoservikal glandüler tutulumu da kapsar.
T1a= Tümör endometriuma sınırlıdır ya da myometriyumun yarısından daha azını invaze etmesi
T1b=Tümör myometriyumun yarısını veya yarısından daha fazlasını invaze etmesi
T2= Tümör serviksin stromal bağ dokusuna girer ancak uterus dışına çıkmaz. Bu evre endoservikal glandüler tutulumu kapsamaz.
T3= Tümörün seroza, adneks, vajina ya da parametriumu tutması
T3a= Seroza ve/veya adneksiyal tutulum (direkt yayılım/metastaz)
T3b= Vajinal (direkt yayılım/metastaz) veya parametrial tutulum
T4= Tümörün mesane mukozası ve/veya bağırsak mukozasını invaze etmesi (büllöz ödem bir tümörü T4 olarak sınıflandırmak için yeterli değildir.)
Bölgesel Lenf Nodları (N)
Nx= Bölgesel lenf nodu değerlendirilemedi
N0= Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N0(i+)=Bölgesel lenf nodlarında 0.2 mm den büyük olmayan izole tümör hücreleri
N1= Pelvik lenf nodlarına bölgesel lenf nodu metastazı
N1mi= 0.2 mm'den büyük, 2 mm'den büyük olmayan pelvik lenf nodu metastazı
N1a= Pelvik lenf nodlarına bölgesel lenf nodu metastazı (2mm'den daha büyük)
N2= Pelvik lenf nodları tümör pozitif olan veya olmayan paraaortik lenf nodu metastazı
N2mi= Pelvik lenf nodları tümör pozitif olan veya olmayan; 0.2 mm'den büyük, 2mm'den küçük paraaortik lenf nodu metastazı
N2a= Pelvik lenf nodları tümör pozitif olan veya olmayan; 2mm'den büyük paraaortik lenf nodu metastazı
Uzak Metastaz (M)
M0= Uzak metastaz yok
M1= Uzak metastaz (inguinal lenf nodları, intraperitoneal hastalık veya akciğer, karaciğer veya kemiğe metastazı içerir; para-aortik lenf nodları, vajina, pelvik seroza veya adneksin metastazı hariçtir)

Tedavi

Omentektomi ile birlikte bilateral salpingooforektomi ve total abdominal histerektomi, pelvik ve paraaortik lenf nodu diseksiyonu, pelvik yıkama yapılır. Uzak metastazlarda adjuvan tedavi olarak; sisplatin uygulanmaktadır (72).

Radyasyon tedavisi ile pelvise lokal nükslerde bir azalma olduğunu bildirmiştir. Ancak genel sağkalım üzerinde inandırıcı bir etki görülmemiştir (112,113).

Adjuvan terapi olarak radyoterapiye tabi tutulan hastalarda hastalısız sağkalım ve lokal kontrolde hafif bir iyileşme var gibi görünmektedir (114).

İleri evre, kalıcı veya rekürrens gösteren MMTM tedavisi için bir Jinekolojik Onkoloji Grubu'nun (GOG) sisplatinli veya sisplatinatsız ifosfamid çalışması; sisplatin ilavesinin progresyonsuz sağkalımda küçük bir iyileşme sağladığını ancak önemli bir sağkalım yararı sağlamadığını göstermiştir (115).

Son zamanlarda, GOG abdominal radyoterapide kombinasyon kemoterapisinin (üç sisplatin, ifosfamid ve mesna döngüsü) kullanımını destekleyen sonuçlar yayınlamıştır (116).

Cerrahi sitoredüksiyon ve sonra uygulanan kemoterapi uterin karsinosarkom için birincil tedavi olmasına rağmen, beş yıllık genel sağkalım oranı 30 ± 9 'dur ve tekrarlama oldukça yaygındır (%50-80) (3).

Karsinosarkomların kötü prognozuna bağlı olarak, son birkaç on yılda, immünoterapi için bilinen disfonksiyonel moleküler yolakları hedef alan yeni stratejiler geliştirilmiştir (3). Karsinosarkom hastalarının hedefe yönelik tedaviler için iyi bir aday olabileceği konusunda çalışmalar devam etmektedir (3,11,117-119)

İmmunohistokimyasal Özellikler

- Karsinom komponenti,
 - Sitokeratin ve EMA (Epitelyal Membran Antijen) boyanır. Pan-sitokeratin boyaması, sarkomatoid farklılaşması veya yoğun desmoplazisi olan bir tümördeki karsinomatous elementin tanımlanmasında yardımcı olabilir (120) (Şekil 13).
- Sarkomatöz komponent,
 - Vimentin pozitif (Şekil 14),
 - Homolog komponent: CD 34, CD 10 pozitifdir.
 - Heterolog komponent (normal uterusu yabancı olan komponent): Rabdomyosarkom aktin, desmin (Şekil 14), myoglobin, myogenin pozitifdir. Kondrosarkom S100 pozitifdir (51) (Şekil 9).

Buza ve Tavassoli, birçok MMTT'de hem karsinomatöz hem de sarkomatöz bileşeninde p16 ve p53 boyamasını bulmuş olup aynı çalışmada, p16 boyaması tipik olarak daha yoğun ve daha dağınık olarak tespit edilmiştir (121).

Histogenez ve Moleküler Özellikler

Karsinosarkomların, epitelyal-mezenkimal geçişi temsil ettiği ve epitelden köken aldığı düşünülmektedir (80, 92, 122, 123).

Karsinosarkomların köken alabileceği birkaç olası yol aşağıda tanımlanmıştır (26),

- “Birleşme” (kolizyon) teorisi, epitelyal ve mezenkimal elementlerin bağımsız olarak ortaya çıktığını ve tek bir karışık tümör izlenimi vermek üzere çarpıştığını göstermektedir.
- “Kombinasyon” teorisi, her iki elementin de her iki çizgide farklılaşma yeteneğine sahip kök bir hücreden oluştuğunu iddia etmektedir.
- “Dönüşüm” teorisi, sarkomatöz elementin, tümörün evrimi sırasında, karsinomdan türediğini öne sürmektedir.

Sarkomatöz bileşen karsinomdan gelişimi dolayısıyla; “dönüşüm” teorisi şu anda yaygın olarak kabul görmektedir (7,124)

Çeşitli genetik ve moleküler çalışmalar; klonal kökenlerini doğrulamaktadır ve yüksek dereceli endometrial karsinoma benzer bir moleküler profile sahip olduklarını ve TP53 mutasyonunun en yaygın moleküler değişiklik olduğunu göstermektedir (125,126). Bu mekanizma ile ortaya çıkan tümörler, iki ayrı klondan türetilmiş birleşme (kolizyon) tümörlerinin aksine, monoklonaldır. P53 ve K-RAS mutasyonlarının değerlendirilmesinin yanı sıra, karsinosarkomlardan türetilmiş hücrelerde immünohistokimyasal ve sitogenetik çalışmalarla da monoklonalitesinin doğrulanması, karsinosarkomların hepsinin olmasa da, çoğunun, dönüşüm teorisi ile meydana geldikleri daha da desteklenmiştir. Epitelyal ve mezenkimal komponentler arasındaki p53 boyamasının uyumu, bu tümörlerin monoklonallığa kanıt olarak yorumlanmıştır (110,127-129).

Ayrıca, karsinomatöz bileşenin çoğu uterus karsinosarkomunda 'itici güç' olduğuna ve meme ve mesane gibi diğer organlardaki duruma benzer olarak, bu tümörlerin gerçekte 'metaplastik' karsinom veya sarkomatöz metaplastik karsinomlar olduğuna dair bol miktarda kanıt bulunmaktadır (7,124).

De Jong ve ark. (130) yaptığı çalışmada P53, MSH2 ve MSH6'nın immünohistokimya ekspresyonunda epitelyal ve mezenkimal bileşenler arasında uterus karsinosarkomlarının monoklonal kökenini doğrular nitelikte yüksek oranda korelasyon tespit edilmiştir.

Bu tümörlerin yaklaşık %50'si, PI3K / AKT ve / veya RAS / RAF yolaklarında mutasyonlar taşımaktadır, en sık görülenler, tümörlerin yaklaşık %20'sinde görülen PIK3CA'yı etkileyenlerdir (10,131).

Akt/Beta-catenin yolundaki ve E-kadherinin transkripsiyonundaki değişiklikler, karsinosarkomun fenotipik özelliklerinin oluşturulması için çok önemli görünmektedir (132, 133).

NEXT GENERATION SEQUANCING (YENİ NESİL SEKANSLAMA)

1970'lerde iki boyutlu kromatografi günlerinden bu yana, DNA dizilime uzun bir yol kat etmiştir. 1986'da Sanger zincir sonlandırma yönteminin ortaya çıkmasıyla, bilim adamları DNA'yı güvenilir ve tekrarlanabilir bir şekilde dizileme yeteneğini kazanmışlardır (15). On yıl sonra, Applied Biosystems, 1987'de ve 1998'de; İnsan Genom Projelerinin birincil iş gücü haline gelen ilk otomatik, kapiller elektroforez (CE) bazlı sekanslama cihazlarını tanıtmıştır (134). Bu “ilk nesil” cihazlar zamanları için yüksek verimli olarak kabul edilirken, Genome Analyzer 2005'te ortaya çıkıp, bu cihazların verimliliğini oldukça katlamıştır (135).

İnsan genom projesinin (17) 2001 yılında tamamlanması ile bu projeden yıllar sonra DNA sekanslama teknolojileri büyük bir ilerleme kaydetmiştir. Örnek hazırlaması ve sinyal algılama için daha yeni yöntemlere ek olarak, ikinci nesil platformların kullanılması büyük ölçüde artmıştır (16). Sekanslama tekniği, sekanslama becerilerinde devrim yaratan ve genomik bilimde “yeni nesli” lanse eden temelde farklı bir yaklaşımdır. Bu noktadan itibaren, yeni nesil dizileme (NGS) verileri, her yıl iki katından fazla artmıştır (16).

Verilen bir DNA şablonunda dört bazın (adenin, A; timin, T; sitozin, C; guanin, G) tam sırasını belirleme işlemine DNA dizilime denmektedir. (136).

Prensip olarak, NGS teknolojisinin arkasındaki konsept CE (kapiller elektroforez) sıralamasına benzer. DNA polimeraz floresan ile işaretli deoksiribonükleotit trifosfatların (dNTP'lerin) DNA sentezinin ardışık döngüleri sırasında bir DNA şablonu dizisi içine eklenmesini katalize eder. Her döngü sırasında, birleşme noktasında, nükleotitler florofor uyarma ile tanımlanır. Kritik fark, tek bir DNA parçasını dizmek yerine, NGS'nin bu işlemi, büyük ölçüde paralel bir biçimde milyonlarca parçaya yaymasıdır (137).

Yeni nesil sekanslama yöntemi, kullanılan sistemden sisteme göre değişiklik göstermekle birlikte; kabaca şu aşamalardan oluşmaktadır (135).

- 1) DNA izolasyonu ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile DNA çoğaltılması,
- 2) Kütüphane hazırlığı (Library preparation); bir genomik DNA örneğinin fragmanlanarak, her iki fragmente olan ucuna adaptörler bağlanması,

- 3) Klonal amplifikasyon
- 4) Sekanslama
- 5) Data analiz

Yeni nesil sekanslama platformlarının ilk uygulaması, mutasyonların saptanması ya da genomların bir araya getirilmesi için modifiye edilmemiş DNA moleküllerinin sekanslanmasıdır. DNA moleküllerinin uçlarına özgül sekans adaptörlerinin eklenmesi yoluyla sekanslama kütüphanelerine dönüştürülür ve yeni nesil sekanslama platformları tarafından ilk sekanslama tepkimelerinde kullanılır (138). Farklı sekanslama platformları farklı adaptörlere ve bu nedenle kütüphane oluşturulması için çeşitli protokollere sahiptirler (16).

Deoksiribonükleik asit (DNA) bazlı yeni nesil sekanslamanın bir tamamlayıcısı olan RNA bazlı transkriptom sekanslaması çoğunlukla RNA-seq olarak bilinir. RNA-Seq kütüphaneleri sekanslamak amacıyla kullanılan reaksiyonlar DNA sekanslaması için kullanılanlarla aynıdır. RNA-Seq çalışmaları için kullanılan sekanslama kütüphaneleri revers (ters) transkripte RNA'dan üretilen cDNA'dan üretilir (16).

Yeni nesil sekanslama verilerini anlamlı bilgi haline dönüştürmek ise genel olarak dört adımdan oluşur (biyoinformatik aşaması) (16):

- 1) Ham sinyalin DNA sekanslarına ya da dizilerine dönüştürülmesi,
- 2) Sekanslama dizilerinin bir referans genomla hizalanması,
- 3) Genomik varyantların adlandırılması,
- 4) Bu varyantların yorumlanması.

Sekanslama teknolojileri klinik olarak birçok alanda fayda sağlamakla birlikte en büyük etkisi onkoloji üzerine olmaktadır. Kanser temel olarak bir genom hastalığıdır. Kanser Genom Atlası (139), Uluslararası Kanser Genomu Konsorsiyumu (140) gibi geniş ölçekli kanser genomu profilleme çalışmaları, birçok farklı tümör türüne ait yüzlerce tümör örneğindeki genomik değişikliklerin tüm spektrumunu karakterize etmektedir. Bu çabalar, kanseri yönlendiren moleküler olayların aydınlatılmasına öncülük etmektedir ve yeni teşhis edilen kanser hastalarında daha doğru prognoz verisi sağlamak gibi klinik uygulamalar için yararlı bilgileri sağlamaktadır (16).

Ayrıca kanser fenotiplerinin altında yatan biyolojik yollar hakkındaki bilgilerin artması, moleküler tanımlı tümörlerin alt gruplarına karşı etkili hedef ajanların geliştirilmesine katkıda bulunmaktadır (16).

NEXT GENERATION SEQUENCING (YENİ NESİL SEKANSLAMA) ACTIONABLE INSIGHTS TÜMÖR GEN PANELİ

Kirsten Ras Oncogene Homolog Gene

Hücre büyümesini, hücre maturasyonu ve hücre ölümünü kontrol eden hücre sinyal yollarında yer alan, KRAS (Kirsten ras oncogene homolog gene), EGFR sinyal kaskadının aşağı akışında yer alan küçük bir G-proteinidir (141-143).

Bir protoonkogen olan KRAS (KRAS proto-oncogene, GTPase) ; RAS / MAPK (mitogen activated protein kinase – mitojenle aktive olan protein kinaz) yolu olarak bilinen bir sinyal yolunun parçası olan K-RAS adlı bir proteini yapmak için direktifler sağlar. Protein, hücrenin dışından hücrenin çekirdeğine sinyalleri iletir. Bu sinyaller, hücreye büyümesini ve bölünmesini (çoğalmasını) veya olgunlaşmasını ve özel fonksiyonlar almasını (diferansiasyonunu) sağlamak için talimat verir. K-Ras proteini bir GTPaz'dır (Guanazin Trifosfataz) yani GTP'yi GDP'ye (Guanazin Difosfat) dönüştürür. Bu şekilde K-RAS proteini, GTP ve GDP molekülleri tarafından açılıp kapatılan bir anahtar gibi davranır. Sinyalleri iletmek için, bir GTP molekülüne bağlanarak aktive olmalıdır. K-Ras proteini, GTP'yi GDP'ye dönüştürdüğünde ise kapatılır (inaktive edilir). Protein GDP'ye bağlandığında, sinyalleri hücrenin çekirdeğine iletmez (144, 145).

KRAS geni, onkogen olarak bilinen bir gen sınıfına aittir. Mutasyona uğradığında, onkojenler normal hücrelerin kanserli hale gelmesine neden olma potansiyeline sahiptir. KRAS geni, aynı zamanda diğer iki geni içeren onkogenlerin Ras ailesinde bulunur: HRAS ve NRAS. Bu genlerin ürünü olan proteinler hücre bölünmesinde, hücre farklılaşmasında ve apoptozda önemli rol oynarlar (146).

KRAS geninin mutasyona uğramış (değiştirilmiş) formları, küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) (147), kolorektal kanser (148) ve pankreas kanseri (149) gibi bazı kanser türlerinde bulunmuştur. Bu değişiklikler kanser hücrelerinin vücutta büyümesine ve yayılmasına neden olabilir. Bir hastanın tümörünün mutasyona uğramamış (wild type) veya mutasyona uğramış KRAS genine sahip olup olmadığını bilmek, kanser tedavisini planlamaya yardımcı olabilir.

Wada ve ark. (129) yaptığı bir çalışmada 25 karsinosarkom tanısı almış hastada, K-ras ve p53 genindeki mutasyonlarına PCR (Polymerase Chain Reaction/Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi ve p53 mutasyonuna ayrıca immunohistokiyasal yöntem ile bakılan çalışmada, p53 gen ve K-ras gen mutasyonu (32%) ve (24%) oranında saptanmış olup, bunun

sonucunda, p53 geni ve K-ras geni mutasyonunun muhtemelen tümörlerin bifazik farklılaşmasından önce erken bir olay olarak ortaya çıktığı düşünülmüştür.

Neuroblastoma RAS Viral Oncogene Homologue

Bu gen temel olarak hücre bölünmesini düzenleyen N-Ras (NRAS proto-oncogene, GTPase) adlı bir proteini yapmak için direktifler sağlar. Sinyal iletimi olarak bilinen bir işlemle, protein, sinyalleri hücrenin dışından hücrenin çekirdeğine iletir. Bu sinyaller, hücreye büyümesini ve bölünmesini (çoğalmasını) veya olgunlaşmasını ve özel fonksiyonlar almasını (diferansiasyonunu) sağlamak için talimat verir. N-Ras proteini bir GTPaz'dır, yani GTP adlı bir molekülü GDP adlı başka bir moleküle dönüştürür. N-Ras proteini bir anahtar gibi davranır ve GTP ve GDP molekülleri tarafından açılır ve kapatılır. Sinyalleri iletmek için, N-Ras proteininin bir GTP molekülüne bağlanarak aktive olması gerekir. N-Ras proteini, GTP'yi GDP'ye dönüştürdüğünde kapatılır (inaktive edilir). Protein GDP'ye bağlandığında, sinyalleri hücrenin çekirdeğine iletmez (146, 150).

Büyüme faktörünün (ligand) bağlanması, tirozin kalıntılarının reseptör dimerizasyonuna ve otofosforilasyonuna neden olur. Adaptör (veya köprüleme) proteinlerinin eklenmesi, reseptörü aktif olmayan, GDP'ye bağlı RAS'a bağlayarak GDP'nin GTP'nin lehine kaydırılmasını ve RAS'ı aktive etmesini sağlar. Aktif RAS, RAF (Rapidly Accelerated Fibrosarcoma) açık yazarım (MAP kinaz olarak da bilinir) ile etkileşime girer ve bunları aktive eder. Bu kinaz daha sonra mitojenle aktive olan protein kinazı (MAPK) ve aktive MAP kinazı, hücresel yanıtlar üreten diğer sitoplazmik proteinleri ve nükleer transkripsiyon faktörlerini fosforile eder. Aktive edilmiş RAS ayrıca, diğer sinyal sistemlerini aktive eden fosfatidil 3-kinaz (PI3 kinaz) gibi diğer bileşenlerle de etkileşime girebilir. Etkinleştirilen RAS, sonunda GTP'yi GDP'ye hidrolize ettiğinde, RAS'ı aktif olmayan formuna dönüştürdüğü zaman kaskad kapanır. RAS'ta gecikmiş GTP hidrolizine yol açan mutasyonlar, artmış proliferatif sinyale yol açabilir (143).

Onkogen olarak bilinen bir gen sınıfına aittir. Mutasyona uğradığında, onkogenler normal hücrelerin kanserli hale gelmesine neden olma potansiyeline sahiptir. NRAS geni, aynı zamanda diğer iki geni içeren onkogenlerin Ras ailesinde bulunur: HRAS ve KRAS. Bu üç genden üretilen proteinler GTPazlardır. Bu proteinler hücre bölünmesinde, hücre farklılaşmasında ve apoptozda önemli rol oynarlar (151).

Bu gendeki somatik mutasyonlar, çeşitli kanser türlerinin gelişiminde rol oynar. Bu mutasyonlar, yapısal olarak aktif olan ve hücreleri kontrolsüz büyümeye ve bölmeye

yönlendirebilen bir N-Ras proteinine yol açar. Konjenital melanositik nevüs, akciğer kanseri, melanom gibi kanserlerde NRAS mutasyonu tespit edilmiştir (152-154).

Epidermal Growth Factor Receptor

Epidermal büyüme faktörü reseptörü, (Epidermal growth factor receptor-EGFR), (alternatif olarak ErbB1 veya HER1 olarak adlandırılır); proliferasyonu ve apoptozu düzenleyen sinyal iletim yollarında yer alan, transmembran reseptör tirozin kinazların, ErbB ailesinin bir parçasıdır (155,156).

ErbB üyeleri EGFR için amphiregulin ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi reseptöre özgü ligandlara cevap olarak dimerize olan monomerler olarak bulunur. EGFR, aktif olmayan ve aktif durumlara (157, 158) geçme kabiliyetini belirleyen bir dengeye sahiptir; bunu da, bir fosfatın adenosin trifosfattan (ATP), antiapoptotik hedefleri kullanarak, aşağı akış sinyal vericilerini yapan bir peptid substratına transferine izin vererek gerçekleştirir (155-157).

Tümörlerde; bu yolağın disregülasyonu ve onkojenik aktivasyonu; mutasyon, ekspresyon artışı ve yapısal düzenlemelerin sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (118).

Baş ve boyun, kolorektal, pankreas, küçük hücreli dışı akciğer karsinomları, renal hücreli karsinom, mesane, over ve meme dahil olmak üzere EGFR'yi eksprese eden birçok farklı tipte karsinomun olduğu gösterilmiştir (159-165,118).

Epidermal büyüme faktörü reseptörü, kanser tedavisi için bir hedef olarak önerilen ilk reseptördür ve 20 yıl süren yoğun araştırmalardan sonra, klinikte mevcut birkaç adet anti-EGFR ajanı vardır (167).

Bu reseptörün mutasyonları, şu anda Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomu'nun genomik olarak sınıflandırılmış, en yaygın kayda değer alt grubunu tanımlamaktadır (168). EGFR somatik mutasyonu saptanan küçük hücreli dışı akciğer karsinomu olgularında, hedefe yönelik tedavi olarak tirozinkinaz inhibitörleri kullanılmaktadır (158).

Epidermal büyüme faktörü reseptör kinazındaki somatik mutasyonların neden olduğu küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinin tedavisinde etkinlikleri sonucunda, gefitinib ve erlotinib, klinik kullanım için onaylanan ilk EGFR tirozin kinaz inhibitörleri (TKI'ler) olmuştur (158).

Mast/Kök Hücre Büyüme Faktör Reseptörü (Tirozin Protein Kinaz Kit, C-Kit)

Birçok farklı hücre türünün yüzeyinde bulunan bir protein olup tip3 reseptör kinazdır (169). Bazı kan hücrelerinin büyümesine neden olan kök hücre faktörü (Stem Cell Factor -SCF) adlı bir maddeye bağlanır. C-kit ayrıca, gastrointestinal stromal tümörler ve melanom dahil

olmak üzere bazı kanser hücrelerinde normal miktarlardan daha yüksek veya değişik bir formda bulunabilir. Tümör dokusunda C-Kit miktarının ölçülmesi, kanseri teşhis etmeye ve tedaviyi planlamaya yardımcı olabilir. C-Kit bir reseptör tirozin kinaz tipi ve bir tür tümör markırıdır. Ayrıca CD117 ve kök hücre faktörü reseptörü olarak da adlandırılır (170).

Bu reseptörün aktivasyonu, melanositlerin, sinir krest hücrelerinin, hematopoetik kök hücrelerinin, mast hücrelerinin, germ hücrelerinin ve Cajal'ın interstisyel hücrelerinin farklılaşması ve çoğalmasında önemli rol oynar (171-173).

Bir reseptör tirozin kinaz olan C-Kit, hücre içi sinyallemede rol oynar ve mutasyona uğramış C-Kit formu bazı kanserlerin ortaya çıkmasında önemli bir rol oynar (174).

Bu reseptör kinazın işlevi, C-Kit kinaz aktivitesinin inhibe edilmesinin kanser tedavisi için bir hedef olabileceği kavramına yol açmıştır. Kanser tedavisi için C-Kit'in inhibisyonunun ümit verici sonuçları, gastrointestinal stromal tümör (GIST), akut miyeloid lösemi, melanom ve diğer tümörler gibi bazı kanserlerde gözlenmiştir (174).

İmmünohistokimyasal olarak C-kit'in aşırı ekspresyonu, küçük hücreli akciğer kanseri ve uterin leiomyosarkomlar gibi diğer malignitelerde de bildirilmiştir (175,176,11).

Kompetatif bir tirozin kinaz inhibitörü olan STI571'in, hematolojik malignitelerin tedavisinde ve immunohistokimyasal olarak C-Kit ekspresyonu mevcut olan metastatik GIST'lerde önemli olduğu bilinmektedir. GIST hastaları arasında, STI571'e daha iyi yanıt veren vakalar, c-kit geninin ekzon 11'inde mutasyona sahip olanlardır (177). İmatinib (STI571) gibi c-kit kinaz aktivitesinin inhibitörlerinin, özellikle gastrointestinal stromal tümörlerde (GIST) kullanımından fayda sağlanmıştır (178).

V-Raf Murine Sarcoma Viral Oncogene Homolog B1

B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase (BRAF), B-RAF olarak isimlendirilen protein tarafından kodlanmaktadır. Bu gen kimyasal sinyalleri hücrenin dışından hücrenin çekirdeğine iletmeye yardımcı olan bir protein yapımına yönelik direktifler sağlar. Bu protein, birkaç önemli hücre fonksiyonunu kontrol eden RAS / MAPK yolu olarak bilinen bir sinyal yolunun bir parçasıdır. Spesifik olarak, RAS / MAPK yolu, hücrelerin büyümesini ve bölünmesini (çoğalma), hücrelerin spesifik fonksiyonlar kazanması (diferansiasyon), hücre hareketini (migrasyon) ve apoptozu gerçekleştirme sürecini düzenler (179, 180).

Mitojenle aktive edilmiş protein kinaz (MAPK) yolu olarak da bilinen, RAS / RAF / MEK / ERK yolu normal hücresel işlevlerde yer alan kritik bir yoldur, ancak melanom dahil olmak üzere birçok kanserde bu sinyal yolağı kesintiye uğrayabilir (181-2).

Onkojenler olarak bilinen bir gen sınıfına ait olan BRAF geni, mutasyona uğradığında, onkojenler normal hücrelerin kanserli hale gelmesine neden olma potansiyeline sahiptir (180). BRAF genindeki somatik mutasyonlar çeşitli kanser türlerinde yaygındır. Normal olarak, BRAF proteini hücre büyümesini ve gelişimini kontrol eden sinyallere cevap olarak açılır ve kapanır. Somatik mutasyonlar, BRAF proteininin sürekli aktif olmasına ve bu kimyasal sinyallerin yokluğunda bile mesajların çekirdeğe iletilmesine neden olur. Aşırı aktif protein, anormal hücrelerin harici sinyaller olmadan büyümesine ve bölünmesine izin vererek kanserlerin büyümesine katkıda bulunabilir (179).

V600E mutasyonu, insan kanserlerinde bulunan en yaygın BRAF mutasyonudur. Bu mutasyon sıklıkla kolon ve rektum, over ve tiroid bezinin kanserlerinde ve melanomda (183) bulunmuştur (184).

Mutasyon, BRAF proteinindeki tek bir amino asidi etkiler. Spesifik olarak, mutasyon, valin amino asitini, 600 pozisyonundaki amino asit glutamik asit ile değiştirir (V600E) (180).

Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha

Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha-PIK3CA geni, fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) olarak adlandırılan bir enzimin bir parçası (subunit) olan 110 alfa (p110alfa) proteini yapmak için direktifler verir (185).

Diğer kinazlar gibi, PI3K da, fosforilasyon adı verilen bir işlemle diğer proteinlere bir küme oksijen ve bir fosfat grubu ekler. PI3K, hücrelerdeki kimyasal sinyalleri ileten bir dizi ek reaksiyonu tetikleyen belirli sinyal moleküllerini fosforile eder. PI3K sinyali, hücre büyümesi ve bölünmesi (çoğalma), hücrelerin hareketi (migrasyon), yeni protein üretimi, hücrelerin içindeki maddelerin taşınması ve hücrenin hayatta kalması gibi birçok hücre aktivitesi için önemlidir (186).

Fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K), katalitik p110 alfa subunitini bağlamak için düzenleyici subuniti (p85) aktive eden bir reseptör tirozin kinaza (RTK) bağlanan ligand üzerine aktive edilir. Bu sonuçta, hücrenin hayatta kalması, apoptoz, transformasyon, metastaz ve migrasyon ile sonuçlanan çeşitli sinyal kaskadlarını tetikler (187).

Fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) / AKT /mammalian target of rapamycin (mTOR) yolu, kanser oluşumu için çok kritik olan hücresel fonksiyonları düzenler. Fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K) yolu epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi pek çok büyüme faktörleri ile aktive edilebilmekte ve çok sayıda önemli sinyal yolu bileşenlerinin aktive edilmesini sağlamaktadır. Bu bileşenlerden biri de rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi (mTOR)'dir. Hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde rol oynayan ve rapamisin tarafından

inhibe edilebildiği için ‘mammalian target of rapamycin’ (mTOR) olarak adlandırılan bu hücre içi yolak, esas olarak bir serin/treonin protein kinazdır (188).

Epitelyal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), eritroblastik lösemi viral onkojen homolog 2 ve C-Kit gibi reseptör tirozin kinazlar, PI3K / AKT / mTOR yolunun yukarısında bulunurken, PI3K ve AKT bu yolu oluşturan moleküller arasındadır (189, 190). PIK3CA geninin somatik mutasyonları ve AKT1 proteininin aşırı ekspresyonu, anormal olarak aktive olan PI3K / AKT / mTOR yolunda sık gözlenen değişiklikler arasındadır (189).

Kanserlerdeki yüksek fosfoinositid 3-kinaz (PI3K) yolu alterasyonu, PI3K inhibitörlerinin gelişiminde bir artışa neden olmuştur. Bu hedefe yönelik tedavilerin çoğu şu anda klinik deney aşamasındadır ve PI3K bağımlı tümörlerin tedavisi için büyük umut vaat etmektedir. Bu son gelişmeler, PI3K yolu değişikliklerinin arkasındaki onkojenik mekanizmaların yeniden değerlendirilmesini gerektirir. PI3K'nın yukarısında reseptör tirozin, kinazlar, PI3K'nın p110 alfa katalitik alt birimi, AKT ve negatif regülatör PTEN'de görülen alterasyonlar, kanserde sıkça karşılaşılan alterasyonlardır (191).

Reseptör tirozin kinazlar, PI3K, AKT ve mTOR'a etki eden birçok inhibitörün mevcudiyeti, terapötik hedeflenmesi potansiyel olarak mümkün olması bu yola son zamanlarda duyulan ilgiyi arttırmıştır. Birkaç yazar ueterin karsinosarkomlarda PI3K / AKT / mTOR yolunun rolünü belgelemiştir. Ancak, farklı gruplar birbiriyle çelişen sonuçlar bildirmiştir (11, 117, 118, 192).

Bu gendeki mutasyonlar, over, meme, akciğer, beyin, mide, kolon, rektum kanseri dahil olmak üzere birçok kanser türünde bulunur. Kansere dahil olan PIK3CA mutasyonları somatiktir; bu, bir insanın yaşamı boyunca edinildiği ve yalnızca kansere yol açan hücrelerde bulunduğu anlamına gelir (189, 190).

Karsinosarkomların ise yaklaşık %50'si, PI3K / AKT ve / veya RAS / RAF yolaklarında mutasyonlar taşımaktadır, en sık görülenler, tümörlerin yaklaşık %20'sinde görülen PIK3CA'yı etkileyen mutasyonlardır (10, 131).

Platelet-Derived Growth Factor Receptor Alpha

Platelet-Derived Growth Factor Receptor Alpha-PDGFR α geni, reseptör tirozin kinazlar (RTK'ler) olarak adlandırılan bir protein ailesinin bir parçası olan trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü alfa (PDGFR α) (platelet-derived growth factor receptor alpha) olarak adlandırılan bir protein yapmak için direktifler verir. Reseptör tirozin kinazlar, sinyal transdüksiyonu adı verilen bir işlemle hücre yüzeyinden hücreye sinyalleri iletir. PDGFR α proteini, trombosit kaynaklı büyüme faktörü adı verilen spesifik bir proteinin kendisine

bağlandığı bazı hücre tiplerinin hücre zarında bulunur. Bu bağlanma, PDGFRA proteinini aktive eder, daha sonra spesifik pozisyonlarda (fosforilasyon adı verilen bir işlem) bir fosfat grubu ekleyerek hücre içindeki diğer proteinleri aktive eder. Bu işlem, bir dizi proteinin çoklu sinyal yollarında aktive olmasına yol açar (193).

Platelet-Derived Growth Factor Receptor Alpha proteini tarafından uyarılan sinyal yolları, hücre büyümesi ve bölünmesi (çoğalma) ve hücre yaşamı gibi birçok önemli hücresel işlemi kontrol eder (193). PDGFRA genindeki mutasyonlar, gastrointestinal stromal tümörlerle (GIST'ler) ilişkilidir. GIST'ler gastrointestinal sistemde, en sık mide veya ince barsakta oluşan bir tümör türüdür. PDGFRA genindeki bir mutasyon ile ilişkili GIST'lerin çoğu mide içinde görülür (194).

Anaplastic Lymphoma Kinase

Anaplastik Lenfoma Kinaz, ALK geni, reseptör tirozin kinazlar (RTK'ler) olarak adlandırılan bir protein ailesinin bir parçası olan ALK reseptör tirozin kinaz olarak adlandırılan bir protein yapmak için direktifler verir. Reseptör tirozin kinazlar, sinyal transdüksiyonu adı verilen bir işlemle hücre yüzeyinden hücreye sinyalleri iletir. İşlem, kinaz hücre yüzeyinde uyarıldığında ve daha sonra benzer bir kinaza bağlandığında (dimerize olur) başlar. Dimerizasyondan sonra, kinaz, fosforilasyon adı verilen bir işlemle, aktive olur. Aktivasyon, sinyal yolundaki bir dizi protein ile devam eder. Bu sinyal yolları, hücre büyümesi ve bölünmesi (çoğalma) veya olgunlaşma (farklılaşma) gibi birçok hücresel süreçte önemlidir (195).

Translokasyon adı verilen bir tür yeniden düzenleme ile, kromozom 2 ve başka bir kromozom arasında genetik materyal değişimi gerçekleşir. ALK genini içeren en az 15 translokasyon, T hücreleri adı verilen immün hücreleri içeren nadir bir kanser şekli olan anaplastik büyük hücreli lenfomalı (ALCL) olgularda tanımlanmıştır (195).

En sık görülen akciğer kanseri tipi olan küçük hücreli dışı akciğer kanserinde ise kromozom 2 inversiyonu vardır (195).

Epidermal Growth Factor Receptor 2, Epidermal Growth Factor Receptor 3

Reseptör tirozin kinazların (ErbBs) epidermal büyüme faktörü ailesi, hücre çoğalması, hayatta kalma, farklılaşma ve göçün düzenlenmesinde temel rol oynar. ErbB reseptörlerinin regülasyon kaybı, özellikle kanser olmak üzere birçok hastalığın altında yatmaktadır. Bu reseptörlerin işlevi ve karmaşık düzenlenmesi konusundaki son 15 yıldaki çalışmalar, maligniteler için hedeflenen terapötik ajanların gelişimini hızlandırmıştır (196).

Büyüme faktörleri, hücre yüzeyi reseptörleri yoluyla etki ederek, embriyonik doku indüksiyonunu oluşturan hücre-hücre iletişimi, hücre yaşamı, apoptoz, doku özelleşmesi ve migrasyon için büyüme faktörleri gereklidir. Büyüme faktörü reseptörleri, hücre dışı habercilerin aktivasyonu yoluyla veya doğrudan çekirdeğe reseptör translokasyonu yoluyla hücre dışı sinyalleri iletir (196).

Reseptör tirozin kinazlarından (RTK'lar), aynı zamanda ErbB veya HER reseptörleri olarak da adlandırılan, RTK'ların epidermal büyüme faktörü (EGF) ailesi, gelişim, fizyoloji ve kanserdeki rolü için; üzerinde en çok çalışılanlardan biridir (196).

Epidermal büyüme faktörü reseptör kinaz ailesi dört üyeden oluşur: EGFR (ErbB1, HER1), ErbB2 (HER2), ErbB3 (HER3) ve ErbB4 (HER4) (197).

ErbB2 proteinin kendine ait bir ligand bağlama alanı yoktur ve bu nedenle büyüme faktörlerini bağlayamaz. Bununla birlikte, bir heterodimer oluşturmak, ligand bağımlı stabilize etmek ve mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPkinaz) ve fosfatidilinositol-3 kinazı (PI3K) içerenler gibi sinyal yollarının kinaz aracılı aktivasyonunu güçlendirmek için ligand bağlı EGF reseptör ailesi üyelerine sıkıca bağlanır (198).

ErbB2 çoğalması ve / veya aşırı ekspresyonu, meme ve over tümörleri dahil olmak üzere birçok kanserde bildirilmiştir (198). ErbB2/HER2 / neu onkogeninin, kadın genital sistemin karsinosakromunu da içeren çeşitli tümör tiplerinde aşırı eksprese edildiği ve / veya amplifiye olduğu bildirilmiştir. HER2'yi aşırı eksprese eden kanserler, amplifiye olmamış HER2 ile karşılaştırıldığında, hastalığın erken evrelerinde daha yüksek bir ölüm oranı, düşük nüksleme süresi ve yüksek metastaz insidansı gibi kötü prognostik özellikler ile bağlantılı bulunmuştur (3,11,117,172,199).

ErbB3 membrana bağlı bir proteindir, bir neuregulin bağlayıcı alana sahiptir fakat aktif bir kinaz alanına sahip değildir. Bu nedenle bu ligandı bağlayabilir, ancak protein fosforilasyonu yoluyla sinyali hücreye iletmez. Bununla birlikte, kinaz aktivitesine sahip diğer EGF reseptörü ailesi üyeleri ile heterodimerler oluşturur. Heterodimerizasyon hücre çoğalmasına veya farklılaşmasına yol açan yolların aktivasyonuna yol açar. Bu genin çoğalması ve / veya proteinin aşırı ekspresyonu, prostat, mesane ve meme tümörleri dahil olmak üzere birçok kanserde rapor edilmiştir (200).

Estrogen Receptor 1

Bu gen bir östrojen reseptörünü kodlar. Protein çekirdeğe yerleşerek, östrojen reseptörü 2 ile bir homodimer veya heterodimer oluşturabilir. Östrojen reseptörleri meme kanseri, endometrial kanser ve osteoporoz dahil patolojik süreçlerde rol oynarlar. Östrojen Reseptör-1

(Estrogen Receptor 1 –ESR) geni tarafından kodlanan bir protein olan östrojen reseptörü, meme kanserlerinin yaklaşık %70'inde mevcuttur. ER ekspresyonu, tümör alt tipinin sınıflandırılmasında ve meme kanserinde terapötik stratejilerin belirlenmesinde tanımlayıcı özelliklerden biridir (201, 202).

Rapidly Accelerated Fibrosarcoma 1

Hücre içi sinyal yolağı olan, Ras-Raf-MAPK yolu, çok çeşitli hücresel yanıtları koordine ederek, sinyalleri membran bazlı reseptörlerden; çeşitli nükleer, sitoplazmik ve membran bağlı hedeflere ileterek çeşitli fizyolojik işlemleri düzenler. Raf ailesi kinazlarının işlevinin organizma gelişimi, hücre döngüsü düzenlemesi, hücre çoğalması ve diferansiasyonu, hücre sağkalımı ve apoptoz ve diğer birçok hücresel ve fizyolojik süreçte rol oynadığı gösterilmiştir (203,204).

Serin/treonin kinaz olan Raf (Rapidly Accelerated Fibrosarcoma), bir tirozin kinaz reseptörüdür. Ras-Raf-MEK-ERK mitojeni aktive edilmiş protein kinaz (Mitogen Activated Protein Kinaz-MAPK) yolunda işlev görmektedir (205).

Onkogenler olarak bilinen bir gen sınıfına ait olan RAF1 geni, mutasyona uğradığında, normal hücrelerin kanserli hale gelmesine neden olma potansiyeline sahiptir (205).

Çalışmalar RAF mutasyonlarının over, akciğer ve kolorektal kanserlerde bulunabileceğini göstermektedir (206).

Kanserlerde; RAS, RAF, AKT proteinleri fonksiyon kazanırken, PTEN proteini ise fonksiyon kaybeder (204).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Teze konu olan çalışmamız için alınan Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun onay yazısı ektedir (Protokol Kodu: TÜTF-BAEK 2018/249, Karar No:13/29, Tarih:07.08.2018) (Ek 1). Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde 01.01.1983-01.06.2018 tarihleri arasında; total abdominal histerektomi operasyonu geçirip uterus yerleşimli Karsinosarkom (Malign Mikst Müllerian Tümör) tanısı alan hastalar dahil edildi. Kriterlere uyan toplam 12 adet olgu çalışmaya alındı. Karsinosarkom (Malign Mikst Müllerian Tümör) tanıları olan bu materyallere ait arşivde yer alan Hematoksilen&Eozin (H&E) kesitleri ışık mikroskopunda tekrar incelenerek tümöre ait özellikleri en iyi temsil eden uygun nitelikte dokular seçildi. İnceleme sırasında olgulara ait; rezeksiyon öncesi küretaj materyallerinin laboratuvarımızda olup olmadığı Hastane Bilgi Sisteminden kontrol edildi; şayet mevcut ise küretaj ve rezeksiyon materyallerinin tanıları verilen patoloji raporlarından karşılaştırılmalı olarak kontrol edildi.

Olgulara ait H&E boyalı preparatlarda, tümöre ait histopatolojik özellikler değerlendirilip, tümörün karsinomatöz (epitelyal) ve sarkomatöz (mezenkimal) komponentleri belirlendi. Alt tiplendirilmesi yapılabilen olgularda; olguların, hem malign epitelyal hem de malign mezenkimal alanlarına güncel WHO (Dünya Sağlık Örgütü) Endometrial Tümör Sınıflandırılmasına (Tablo 1) göre; histopatolojik bulguları ve daha önceden uygulanmış olan immunohistokimyasal boyanma özelliklerine bakılıp, değerlendirilerek histolojik alt tiplendirme yapıldı (epitelyal komponent histolojik alt tiplendirme; endometrioid karsinom/seröz karsinom/endometrioid-seröz-diğer mikst karsinom). Mezenkimal komponentin ise heterolog eleman içerip içermediği (heterolog eleman var/yok) histopatolojik olarak değerlendirildi. Ayrıca inceleme esnasında, myometrial invazyon derinliği (tümör

invazyon derinliği, myometrial kalınlığın ½'sinden fazlasını aşıyor/aşmıyor), lenfatik invazyon (var/yok), kan damarı invazyonu (var/yok), diğer doku ve organlara yayılım (var/yok) değerlendirildi. Hem mezenkimal hem de epitelyal alanlar için histolojik alt tip ve heterolog eleman olup olmadığı ayrı ayrı olmak üzere her olgu için not edildi. Olguların yaşı bilgileri not edildi (≤ 60 yaşı/ >60 yaşı).

Seçilen olguların H&E boyalı preperatlarından hem karsinom hem de sarkom alanları yanyana içeren tümör alanları seçildi ve bu alanlar lam üzerinden işaretlendi. Bu lamlara ait parafin blokları blok arşivinden çıkarıldı. Formolin fikse parafine gömülü hazır bloklarından bu tümör alanını içeren 5 mikron kalınlığında 2-3 kesit alınıp, bir kısım olgunun lamdan kazınan dokularından, bir kısım olgunun da direkt olarak mikrosantrifüj tüpüne kesilen dokularından DNA izolasyonu yapıldı. İzole edilen DNA'ya, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Moleküler Patoloji Laboratuvarında moleküler inceleme yöntemi olarak kullanılan QIAGEN (Hilden, Germany, Seri Numarası: G1709015) Gene Reader Next Generation Sequencing sistem cihazında Gene Read DNA Sequencing Panel PCR V2 kiti (Ref. Numarası: 181940) ve GeneReadQIAact Panel, Actionable Insights Tumor Panel kiti (Ref. Numarası: 181910) kullanılarak mutasyon incelemesi yapıldı. Seçilen olgulara 12 gen 1237 varyanttan oluşan Actionable Insights Tumor Panel (KRAS, NRAS, EGFR, C-KİT, BRAF, PDGFRA, ALK, ERBB2, ERBB3, ESR1, RAF1, PIK3CA) çalışıldı.

QIAGEN Gene Reader Next Generation Sequencing System (yeni nesil dizileme) moleküler inceleme uygulaması esnasında şu işlem basamakları takip edildi (207):

1. Parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında 2-3 adet kesit direkt olarak ya da lam üzerinde alınan kestiler lamdan kazınarak mikrosantrifüj tüpüne alındı ve aşığıdaki işlem basamaklarına geçildi:
2. Ekstraksiyon (Nükleik Asit ekstraksiyonu) (208)
 - Deparafinizasyon (Parafinden arındırma)- GeneRead FFPE
 - Kesilen parça 1.5 veya 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.
 - 160 μ l Deparafinization Solution eklendi. 56°C'de 3 dakika inkübe edildi ve oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı.
 - Lizis
 - 55 μ l Rnase-free su, 25 μ l Buffer FTB ve 20 μ l proteinaz K eklendi.
 - 56°C'de 1 saat inkübe edildi.
 - 90°C'de 1 saat denatüre edildi (90°C'de inkübasyon nükleik asitlerin formaldehit modifikasyonunu kısmen geriye çevirmektedir).

- Yan ürünlerin parçalanması
 - Mikrosantrifüj tüpünde kalan üstte kalan mavi deparafinizasyon solüsyonunun altında kalan berrak faz yeni bir mikrosantrifüj tüpüne (Sample Tube RB) aktarıldı. 115 µl Rnase-free su ve UNG (Uracil-N-glycosylase) eklendi ve karıştırıldı.
 - QIAcube ile DNA Ektstraksiyonunun gerçekleştirilmesi
 - QIAcube'e Rotor adaptörler ve RNAase A protokole uygun miktarlarda yüklendi ve QIAcube uygun protokolle çalıştırıldı.
 - Çalışma bitiminde DNA'ları cihazdan çıkartıldı, uygun koşullarda saklandı.
 - Kalite Kontrol
 - İzole eden DNA'lar florasan madde ile işaretlenerek Qubit cihazında, standart ile oluşturulan grafik üzerinden DNA miktarları ölçülerek not edildi.
3. Target Enrichment/Hedef Zenginleştirme (Polimeraz Zincir Reaksiyonu/PCR yöntemi ile hedeflenen DNA bölgesinin çoğaltılması/ genişletilmesi) (209)
- DNA Dilüsyonu
 - DNA LoBind tüp içerisinde Dnase-free su ile 2,5ng/µl'ye dilue edildi.
 - Gerekli reaksiyon sayısı belirlenerek PCR stripleri ya da tüpleri hazırlandı.
 - Her PCR Reaksiyon tüpüne 4µl DNA alıktotlandı.
 - Master Miks Hazırlığı
 - Miks hazırlığı için gerekli olan GeneReadDNAseq Panel PCR Reagent kit, v2 ve GeneReadQIAact Panel, Actionable Insights Tumor Panel reaktifleri mikse eklendi.
 - Alikotlama
 - Her bir PCR miksinden 16 µl ilgili kuyulara dağıtıldı. Kuyucuk başına 4 µl DNA eklendi.
 - PCR Çalışması (Hedeflenen DNA bölgesi çoğaltılması)
 - Tüpler Thermalcyler cihazına yerleştirildi ve cihaz çalıştırıldı
 - Reaksiyon bittikten sonra buz üzerine alındı ve Agencourt AMPure XP beads kullanarak havuzlama ve saflaştırma işlemine geçildi.
 - Birleştirme
 - Her örnek için PCR'ı yapılmış 4 reaksiyonu tek PCR tüpünde birleştirildi. Toplam hacim yaklaşık 80µl olması için, örnek üzerine yeterli miktarda su eklendi.
 - Boncuk Temizliği
 - Agencourt AMPure XP Beads'i 80µl PCR ürünü üzerine eklendi.
 - Bu aşamanın amacı istenmeyen büyük DNA fragmentlerini uzaklaştırmaktır.

- Beadleri süpernetanttan ayırmak için manyetik rack'a yerleştirilip Solüsyon berraklaştıktan sonra, beadlere dokunmadan süpernetant'ı yeni bir tüpe aktarıldı.
 - DNA Bağlanması
 - Süpernetant üzerine Agencourt AMPure XP Beads eklenip bu kez istenen istenen ampikonlar bead'lere bağlanarak, hedef DNA bölgesini içeren beadler elde edildi.
 - Yıkama
 - %80'lik etil alkol eklendi ve bu işlem 2 kez tekrar edildi.
 - Eluat
 - Hedef DNA içeren beadler sterile su ile elüe edildi. Solüsyon berraklaşana kadar manyetik rack üzerine yerleştirildi. 25µl süpernetantı temiz bir LoBind tüpe aktarıldı.
 - Kalite kontrol
 - PCR-zenginleştirilmiş DNA analizi için EBA Buffer eklenerek QIAxcel DNA High Resolution, QX DNA Size Marker ve QX Alignment marker eklenerek QIAxcel Advaced cihazında Target programı seçilerek DNA'lar bp cinsinden ölçüldü.
4. Kitaplık Hazırlığı (Library Preparation) (210)
- Örneklerin hazırlığı
 - GeneRead Workbook'u kullanarak PCR-zenginleştirilmiş DNA'ların dilüsyonlarını gerçekleştirildi.
 - Her örnek için 1er adet Sample Tube RB hazırlanarak, her bir tüpe 8µl DNA koyuldu.
 - Her bir örneğe 3,2µl barkod adaptörü olan, ilgili Adapter Q BC XX eklendi.
 - Master Miks Hazırlığı
 - GeneRead DNA Library Q kit reaktifi karışıma eklendi.
 - Rotor Adaptörlerinin Hazırlığı
 - Rotor adaptörleri, QIAcube cihazının ilgili dönen bölmesine konulan 3 adet bölmesi bulunan, bir bölmesinde adaptör bağlanacak örneklerin konulacağı mikrosantrifüj tüpleri bulunan adaptörlerdir.
 - QIAcube Cihazının Hazırlığı
 - QIAcube cihazına Rotor Adaptörler, reaktifler ve hazırlanan master miksler konuldu.
 - Cihaz GeneRead DNA Library Q Kit protokülünde çalıştırıldı.
 - Rotor adaptörlerindeki, barkod bağlanmış kitaplık örneklerini içeren (20µl) 1,5ml'lik mikrosantrifüj tüpleri alındı.
 - Kitaplık Amplifikasyonu
 - Thermacycler cihazında PCR ile kitaplık amplifikasyonu gerçekleştirildi.

- QIAcube Cihazının Hazırlığı
 - QIAcube cihazında bu kez PCR sonrası ortamda meydana gelebilecek istenmeyen kısımların yıkanarak temizlenmesi için CleanUp programı protokolüne uygun, tekrar Rotor Adaptörler hazırlanarak temizleme programında çalıştırıldı.
 - Kalite Kontrol
 - Elde edilen amplifiye edilmiş kitaplığı oluşturan DNA'lar 2. kez jel elektroforez yöntemiyle, QIAxcel DNA High Resolution bp cinsinden ölçüldü.
5. Klonal Amplifikasyon (211)
- Genomik DNA'dan elde edilen klonun çoğaltılma işlemidir.
 - Dilüsyon
 - Kitaplıkların Havuzlanması
 - 12 adet örnek tek bir tüpte toplanır
 - Örneklerin Hazırlanması
 - Primer Yüklenmiş PCR Beadlerinin (Primer Loaded PCR Beads) önişlemi
 - Reaktiflerin Hazırlanması
 - GeneRead QIAcube Workdeck 1 Hazırlığı
 - Primer Yüklenmiş PCR Beadleri, PCR mikseri (primer miks, master miks), klonal amplifikasyon reaktifleri, tek bir havuzda (pool) toplanan örnekler ve oil miks, Generead Qiacube cihazına uygun protokolde yerleştirildi ve cihaz uygun protokolde çalıştırıldı.
 - Bu aşama örneklerin emülsiyon PCR için hazırlanma aşamasıdır.
 - Emülsiyon PCR (Thermacycler cihazında ClonMaking Programı)
 - Bu aşamadaki PCR'ın amacı elde edilen klonların, primer bağlandıktan sonra amplifiye edilmesidir.
 - GeneRead QIAcube
 - PCR cihazından çıkan PCR ürünleri ile 'Emulsion Breaking ve pooling' aşaması ile GeneRead Qiacube cihazında devam edildi.
 - LiveBead lerin Zenginleştirilmesi
 - Enrichment buffer, denaturasyon buffer ve Super A Bead ler uygun oranda hazırlandı.
 - GeneRead Qiacube cihazında Enrichment (zenginleştirme) protokolünde, klonal amplifikasyonu yapılmış olan örneklerin zenginleştirme aşaması tamamlandı.
6. Sekans ve Hazırlık (212)
- Sekans aşamasında katalogta belirtilen kitler protokole uygun hazırlandı.

- Sequencing Primer'in Ön Hazırlığı ve Hibridizasyonu
 - Flowcell Hazırlanması
 - Flowcell üzerinde barkod bulunan içine örneklerin bulunduğu birer adet havuzun yüklendiği, GeneReader cihazında barkodu sayesinde okunmalarını sağlayacak olan aparatır.
 - Reaktiflerin Hazırlığı
 - GeneReader Hazırlığı
 - GeneReader software' i açıldı.
7. Data Analiz ve Raporlama (Biyoinformatik) (213)

DEĞERLENDİRME

Moleküler inceleme çalışma sonuçları; Yeni Nesil Sekanslama (NGS) sisteminin (Gene Reader Next Generation Sequencing sistemi) son aşaması olan data analiz/biyoinformatik aşamasında değerlendirilmiştir. Bu aşama; iki bileşeni olan (QCI Analyze ve QCI Interpret), QIAGEN Clinical Insight (QCI) platformu tarafından otomatik olarak gerçekleştirilmiştir (213).

QIAGEN Clinical Insight software platformuna, mutasyon analizi çalışılan her hastanın yaşı, cinsiyeti, tümör tipi (karsinosarkom), tümör yerleşimi (endometrium), girildikten sonra bu bilgi tabanı, o hastaya ait mutasyon olup olmadığını, eğer mutasyon mevcutsa, mevcut olan mutasyonun varyantını, alterasyonunu, fonksiyonunu da bildirmekle beraber mutasyonları; data analiz merkezlerinde standardizasyonu sağlamak için kullanılan bir metodoloji olan, kademeli anlamına gelen TIER (214) sınıflandırmasına göre 1) patojenik (pathogenic), 2) muhtemelen patojenik (likely pathogenic) , 3) önemi belirsiz (uncertain significance), 4) muhtemelen benign (likely benign) veya 5) benign olarak sınıflandırılarak sonuç vermiştir.

Yapılan data analizde elde edilen sonuçlar ve bu sonuçlarla ilgili yapılan çalışmalara ait biyoinformatik bilgileri, QIAGEN'in bilgi tabanından otomatik olarak sağlanmıştır. Çalışan 12 olgunun her birine ait, QIAGEN Clinical Insights platformundan elde edilmiş NGS mutasyon analiz sonuçlarını içeren program çıktıları ektedir (Ek 2).

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilere ilişkin tanımlayıcı istatistikler (ortalama \pm standart sapma, minimum, maksimum, sayı ve yüzde (%)) hesaplandı. Mutasyon varlığına göre yaş, epitelyal komponentin histolojik alt tipi, mezenkimal komponentte heterolog eleman olup olmadığı, lenfatik damar

invazyonu, kan damarı invazyonu, diğerdoku ve organlara yayılımının olup olmadığı ve tümör invazyon derinliğinin myometriyumun yarısını aşp aşmadığı parametrelerinin karşılaştırılmasında Pearson ya da Fisher Ki-kare testlerinden uygun olanı kullanıldı. Olası risk faktörlerinin değerlendirilmesinde odds ratio ve %95 güven aralığı değerleri hesaplandı.

$P < 0.05$ değeri istatistiksel anlamlılık sınır değeri olarak kabul edildi. İstatistiksel analizler T.Ü. Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalında SPSS 20.0 (Lisans No: 10240642) paket programı kullanılarak yapıldı.



BULGULAR

Çalışmamızda primer yerleşimi uterus olan karsinosarkom vakalarında, tümöre ait histopatolojik özellikler değerlendirilip, tümörün karsinomatöz (epitelyal) ve sarkomatöz (mezenkimal) komponentleri belirlenerek bu alanlardan elde edilen kesitlerden, Moleküler inceleme yöntemi olan Yeni Nesil Sekanslama-Next Generation Sequencing (NGS) yöntemi ile KRAS, NRAS, EGFR, C-KİT, BRAF, PDGFRA, ALK, ERBB2, ERBB3, ESR1, RAF1, PIK3CA gen mutasyonları ve bulguların; tümörlerin epitelyal komponentinin histolojik alt tipi, mezenkimal komponentinin heterolog eleman içerip içermediği, myometrial invazyon derinliği, yaş, lenfovasküler invazyon, kan damarı invazyonu ve diğer doku/organlara yayılımı ile ilişkilerini incelemek amaçlandı. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı arşivinde yer alan karsinosarkom tanısı almış toplam 12 olguya ait materyaller incelendi. Blok arşivindeki parafin bloklardan alınan kesitlerden Yeni Nesil Sekanslama-Next Generation Sequencing (NGS) yöntemi ile moleküler inceleme yapıldı.

Çalışmaya alınan 12 olgunun yaş dağılımı incelendiğinde; 2'si (%16,7) 60 yaşın altında iken, 10'u (%83,3) 60 yaşın üzerindedir. Ortalama yaş $68,25 \pm 10,788$ olup median yaş 69,5 olarak bulundu. Epitelyal komponentin histolojik alt tipi, 3'ünde (%25,0) seröz karsinom, 5'inde (%41,7) endometrioid karsinom, 4'ünde (%33,3) seröz/endometrioid/diğer karsinomları içeren mikst karsinom olarak saptandı. Tümörlerin myometrial invazyon derinliği, olguların 9'unda (%75,0) myometrial kalınlığın $\frac{1}{2}$ 'sinden fazasını aşarken, 3'ünde (%25,0) myometrial kalınlığın $\frac{1}{2}$ 'sinden fazasını aşmamaktaydı. Olguların 6'sının (%50,0) mezenkimal komponenti heterolog eleman içeriyorken, 6'sı (%50,0) heterolog eleman içermiyordu. Lenfatik invazyon olguların 6'sında (%50,0) izlenirken, 6'sında (%50,0) izlenmedi. Kan damarı invazyonu vakaların hiçbirinde izlenmedi.

Malign mezenkimal komponentinde heterolog eleman izlenen 6 olgunun 3'ünde (%50) rabdoid diferansiyasyon mevcut idi ve 2 olguda (%33,3) sadece kondrosarkom komponenti mevcut iken 1 olguda da (%16,6) hem rabdoid hem de myoid diferansiyasyon aynı anda saptandı. Olgulara ait klinikopatolojik parametreler Tablo 7'de gösterilmektedir.

MOLEKÜLER ANALİZİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Seçilen olguların mutasyon analizi sonucunda Actionable Insights tümör gen paneli olarak çalışılan 12 genden 6 adet gende mutasyon tespit edildi. TIER sınıflandırmasına göre 1) patojenik (pathogenic), 2) muhtemelen patojenik (likely pathogenic), 3) önemi belirsiz (uncertain significance) sınıfına dahil olan mutasyonlar dikkate alındı ve toplam 6 gende; ERBB2, EGFR, C KİT, PIK3CA, PDGFRA, KRAS genlerinde toplam 11 farklı varyant içeren mutasyon saptandı. Aynı hastada birden fazla mutasyon da saptandığı gibi, her vakada en az 1 adet gen mutasyonu görülerek, mutasyon içermeyen olgu saptanmadı. Actionable Insights tümör gen panelinin diğer genleri olan ALK, BRAF, ERBB3, NRAS, RAF 1 ve ESR1 genlerinde mutasyon saptanmadı. TIER sınıflandırmasına göre 4) muhtemelen benign (likely benign) veya 5) benign sınıfına dahil olan mutasyonlar istatistiksel analiz çalışmasına dahil edilmedi.

Moleküler incelemenin sonucunda olguların tamamında (%100) gen mutasyonu tespit edildi. Tek bir gendeki mutasyon, olguların 3'ünde (%25) gözlenirken, 2 ve 3 gen içeren senkron mutasyonlar sırasıyla 6 (%50) ve 3 (%25) olguda kaydedildi. Olguların 2'sinde (%16,7) PIK3CA patojenik mutasyonu, 2'sinde (%16,7) patojenik ve önemi belirsiz K-RAS mutasyonu, 1'inde (%8,3) patojenik C-KIT mutasyonu, 11'inde (%91,7) önemi belirsiz EGFR mutasyonu, 5'inde (%58,3) önemi belirsiz ERBB2 mutasyonu, 3'ünde (%25,0) önemi belirsiz PDGFRA mutasyonu tespit edildi (Şekil 15).

Olguların tespit edilen 6 adet gen mutasyonlarına göre dağılımı Tablo 8'de ve tespit edilen mutasyon varyantları ve bu varyantların olgulara göre dağılımı Tablo 9'da gösterilmektedir.

Tablo 7. Olgulara ait klinikopatolojik özellikler

Klinikopatolojik parametre		n (%)
Yaş	≤60 yaş	2 (16,7)
	>60 yaş	10 (%83,3)
Epitelyal komponentin histolojik alt tipi	Endometrioid Karsinom	5 (%41,7)
	Seröz Karsinom	3 (%25,0)
	Endometrioid/Seröz/Diğer Mikst Karsinom	4 (%33,3)
Mezenkimal komponentte heterolog eleman varlığı	Var	6 (%50,0)
	Yok	6 (%50,0)
Myometrial invazyon derinliği	Tümör invazyon derinliği myometrial kalınlığın ½'sinden fazlasını aşmaktadır.	9 (%75,0)
	Tümör invazyon derinliği myometrial kalınlığın ½'sinden fazlasını aşmamaktadır.	3 (%25,0)
Lenfatik invazyon	Var	6 (%50,0)
	Yok	6 (%50,0)
Kan damarı invazyonu	Var	0 (%0,0)
	Yok	12 (%100,0)
Diğer doku ve organlara yayılım	Var	6 (%50,0)
	Yok	6 (%50,0)

Tablo 8. Karsinosarkom vakalarının Actionable Insights Tümör gen panelinde mutasyon tespit edilen genlere göre dağılım durumu % değerleri

ACTIONABLE INSIGHTS TÜMÖR GEN PANELİNDE MUTASYON TESPİT EDİLEN GENLER						
OLGU	EGFR	ERBB2	PIK3CA	PDGFRA	KRAS	C KİT
1	+	-	-	+	-	-
2	+	-	-	-	-	-
3	-	+	+	-	-	-
4	+	+	-	-	+	-
5	+	-	-	-	-	-
6	+	+	+	-	-	-
7	+	-	-	-	+	-
8	+	+	-	-	-	-
9	+	-	-	+	-	-
10	+	-	-	-	-	-
11	+	+	-	-	-	+
12	+	-	-	+	-	-
N (%)	11(91,7)	5(41,7)	2(16,7)	3(25,0)	2(16,7)	1(8,3)

(+): Mutasyon mevcut (-):Mutasyon izlenmedi.

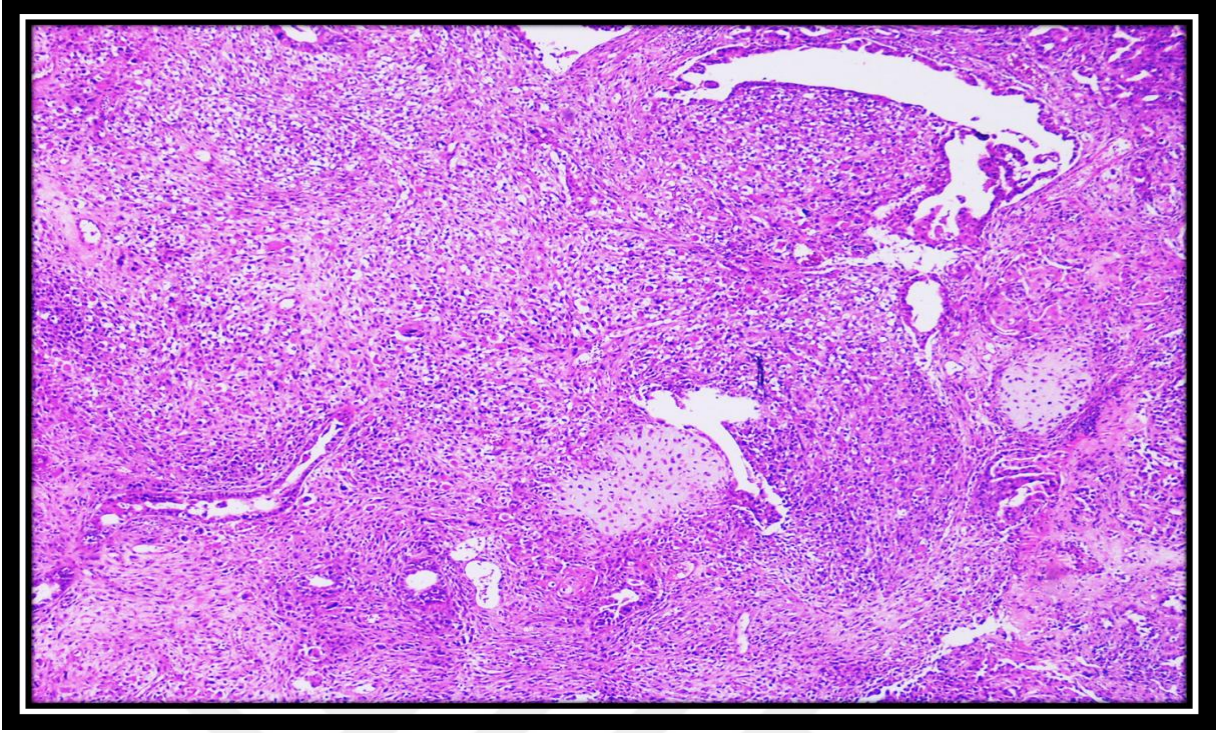
Tablo 9. İzlenen mutasyonların varyantları ve olgulara göre dağılım durumu

OLGU	MUTASYON İZLENEN GEN	MUTASYON VARYANTI		
		Nükleik asit değişimi	Aminoasit Değişimi	Ekzon
1	EGFR*	C.1562G>A	p.R521K	Ekzon 13
		C.2361G>A	p.Q787Q	Ekzon 20
	PDGFRA	C.939T>A	p.G313G	Ekzon 7
2	EGFR	C.2361G>A	p.Q787Q	Ekzon 20
3	PIK3CA	C.317G>T	p.G106V	Ekzon 2
	ERBB2	C.1963A>G	p.I655V	Ekzon 17
4	EGFR*	C.1562G>A	p.R521K	Ekzon 13
		C.2361G>A	p.Q787Q	Ekzon 20
	ERBB2	C.1963A>G	p.I655V	Ekzon 17
	KRAS	C.2505T>G	- ***	-***
5	EGFR*	C.1562G>A	p.R521K	Ekzon 13
		C.2361G>A	p.Q787Q	Ekzon 20
6	PIK3CA	C.3127A>G	p.M1043V	Ekzon 21
	EGFR*	C.1562G>A	p.R521K	Ekzon 13
		C.2361G>A	p.Q787Q	Ekzon 20
	ERBB2	C.1963A>G	p.I655V	Ekzon 17
7	KRAS	C.35G>A	p.G12D	Ekzon 2
	EGFR	C.2361G>A	p.Q787Q	Ekzon 20
8	EGFR	C.1562G>A	p.R521K	Ekzon 13
	ERBB2	C.1963A>G	p.I655V	Ekzon 17
9	EGFR*	C.2361G>A	p.Q787Q	Ekzon 20
		C.1562G>A	p.R521K	Ekzon 13
	PDGFRA	C.939T>A	p.G313G	Ekzon 7
10	EGFR	C.2361G>A	p.Q787Q	Ekzon 20
11	C KİT**	C.2394C>T	p.I798I	Ekzon 17
		C.1621A>C	p.M541L	Ekzon 10
	EGFR	C.2361G>A	p.Q787Q	Ekzon 20
	ERBB2	C.1963A>G	p.I655V	Ekzon 17
12	EGFR	C.2361G>A	p.Q787Q	Ekzon 20
	PDGFRA	C.939T>A	p.G313G	Ekzon 7

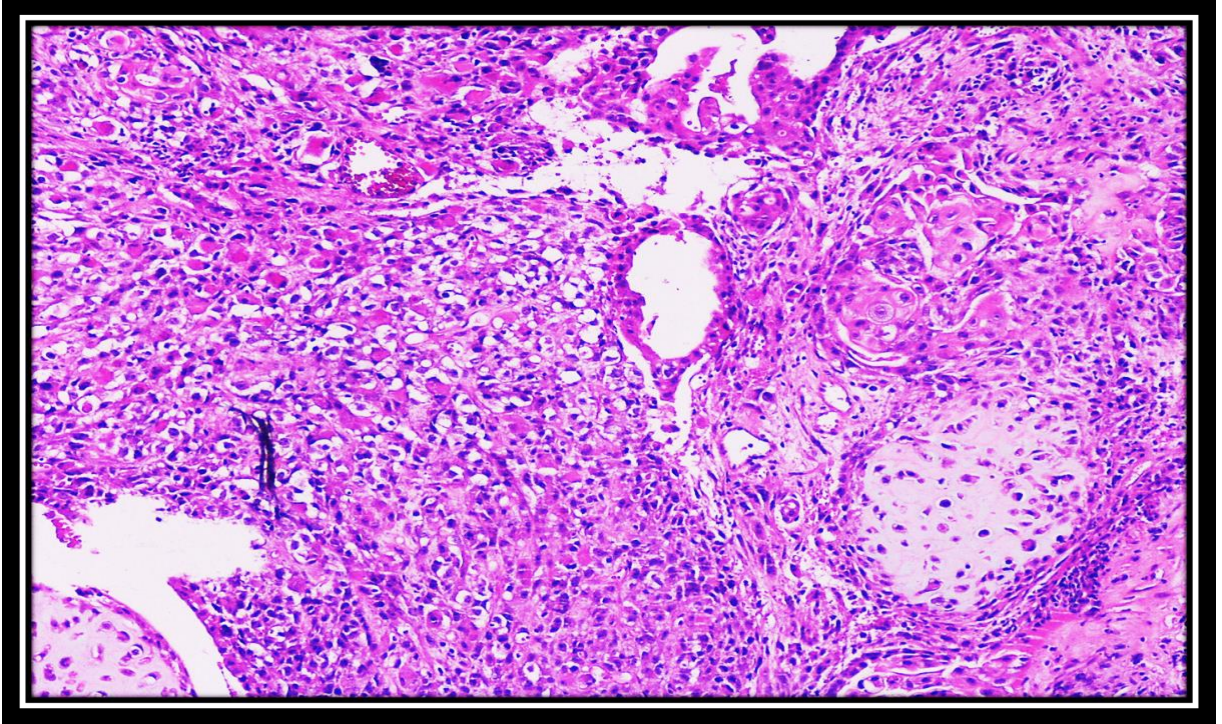
*EGFR gen mutasyonunda saptanan 2 varyantın her ikisini de içermektedir.

** C KİT gen mutasyonunda 2 farklı mutasyon varyantı içermektedir.

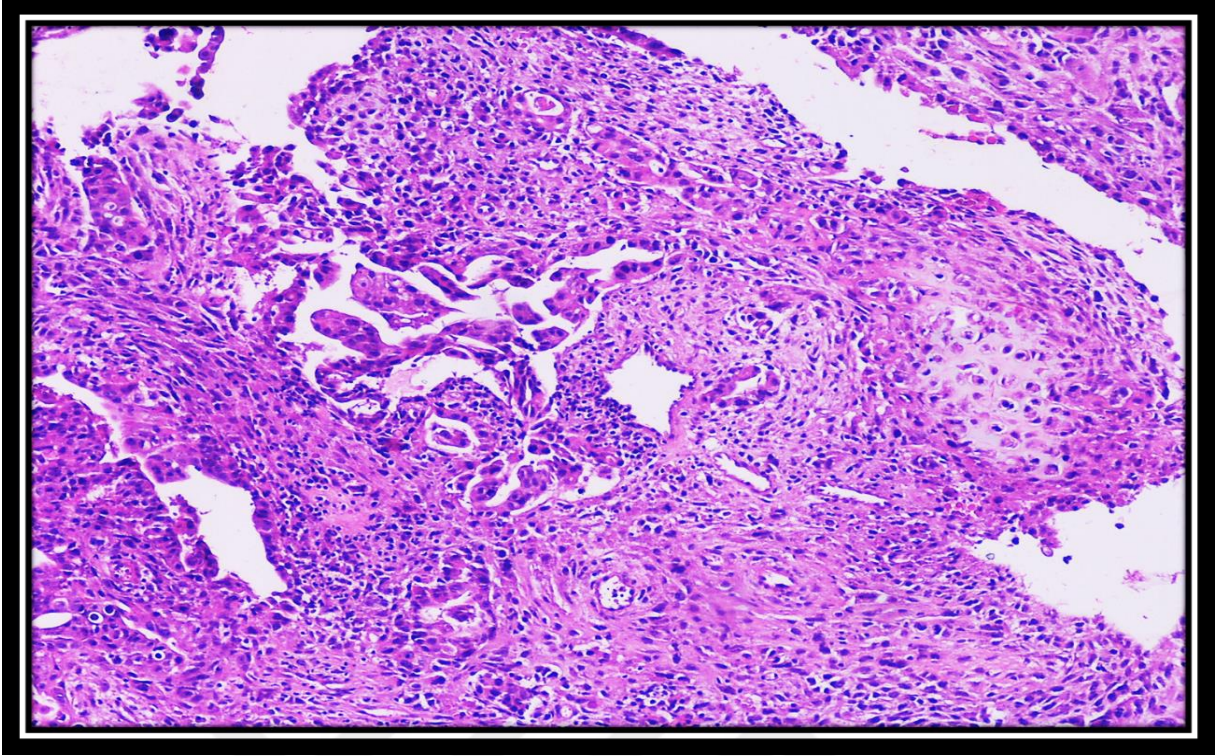
*** Nükleik asit değişim bölgesi protein kodlayan ekzon bölgesine denk gelmediğinden aminoasit değişimi izlenmemiştir.



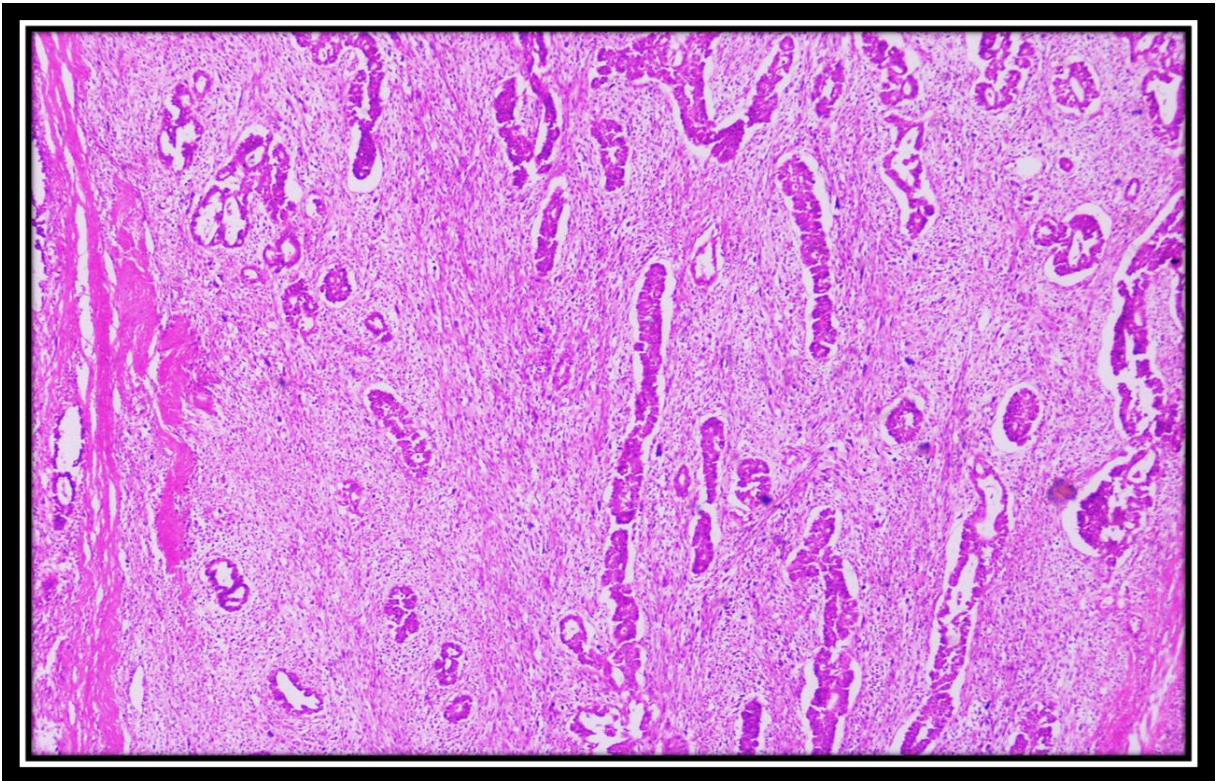
Şekil 1. Malign epitelyal ve heterolog eleman olarak kondroid eleman bulunduran malign mezenkimal alanlar içeren karsinosarkom olgusunun mikroskopik görünümü (H&E boyama, X40)



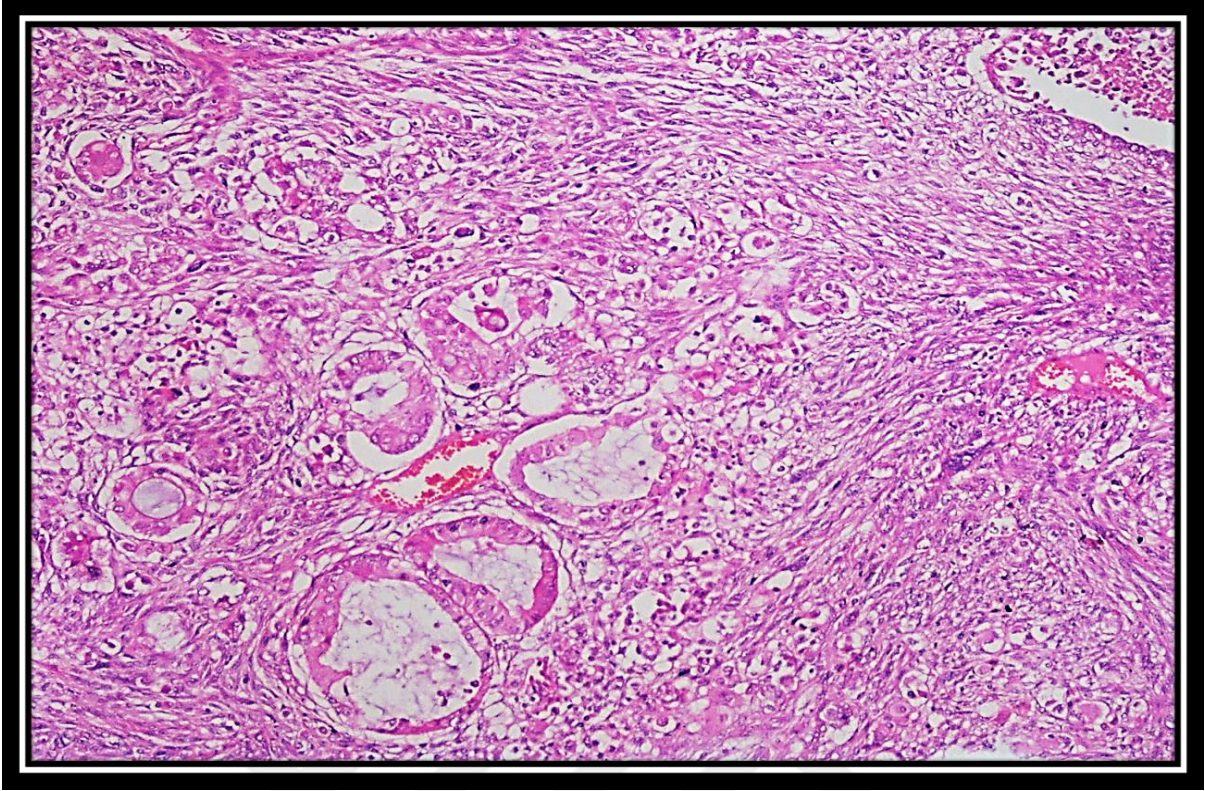
Şekil 2. Adenokarsinom ve rabdoid ve kondroid diferansiyasyon gösteren malign mezenkimal alanların bulunduğu karsinosarkom olgusunun mikroskopik görünümü (H&E boyama, X100)



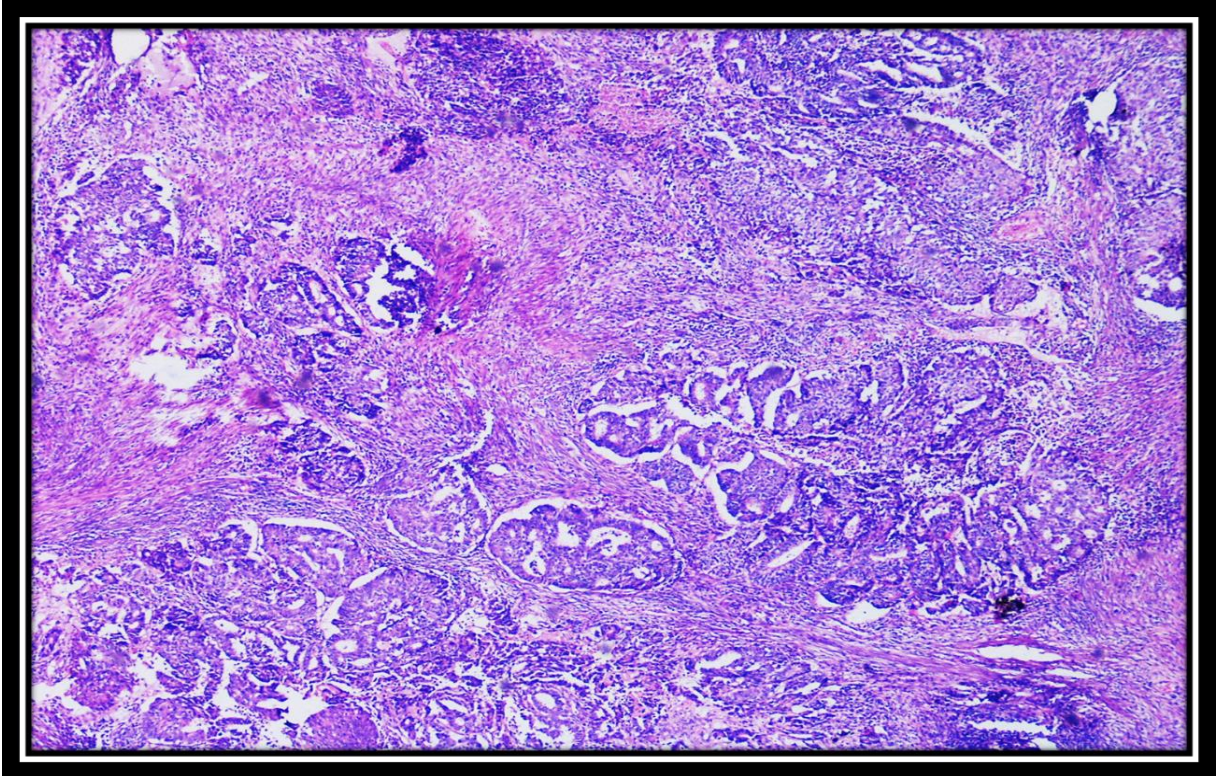
Şekil 3. Mezenkimal komponentte heterolog eleman olarak kondroid alanlar ve epitelyal komponentte adenokarsinom alanları içeren carcinosarkom olgusunun mikroskopik görünümü (H&E boyama, X100)



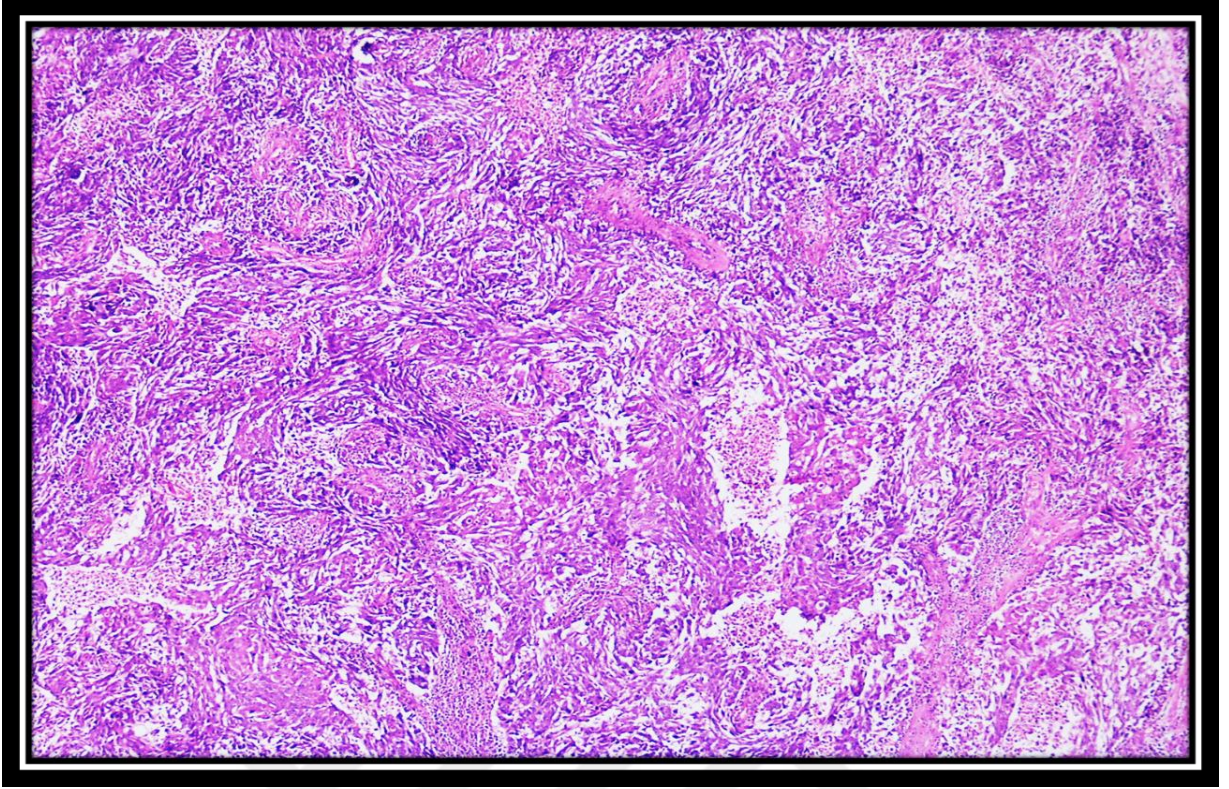
Şekil 4. Mezenkimal alanlarla iç içe seröz karsinom odakları içeren carcinosarkom olgusunun mikroskopik görünümü (H&E boyama, X40)



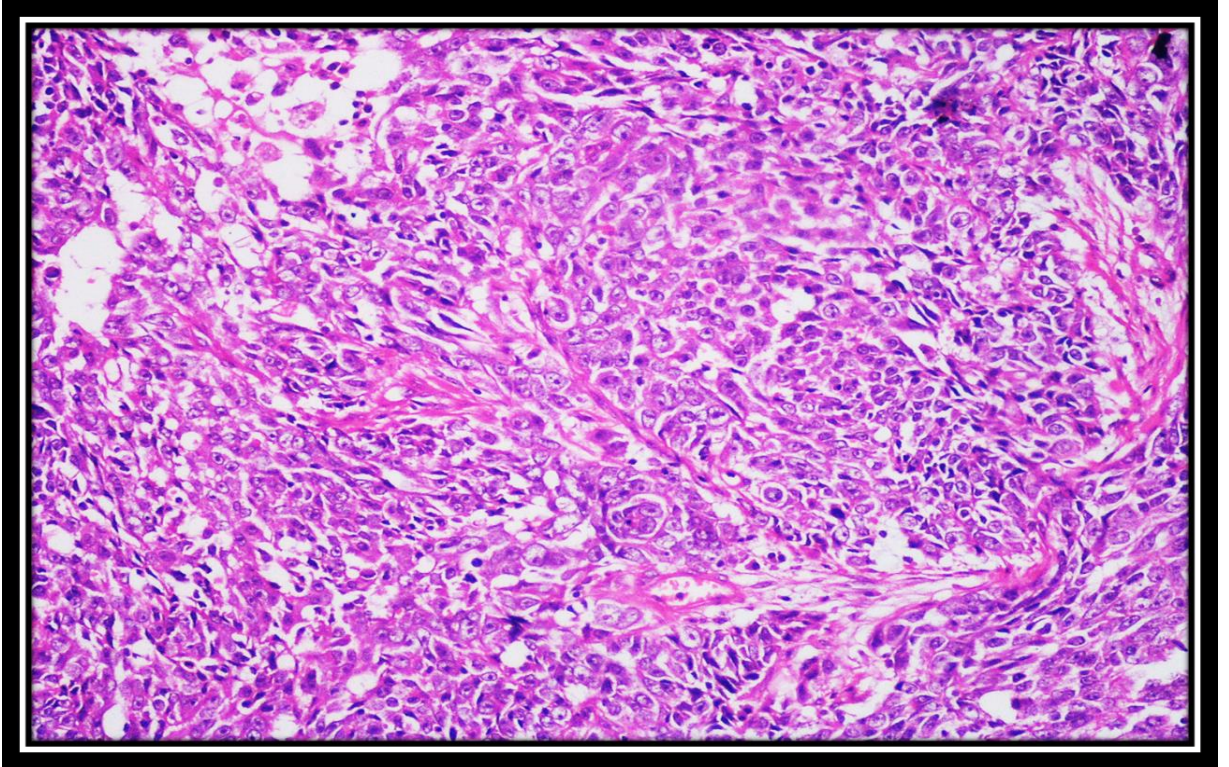
Şekil 5. Seröz karsinom ve malign mezenkimal alan içeren karsinosakrom olgusunun mikroskopik görünümü (H&E boyama, X100)



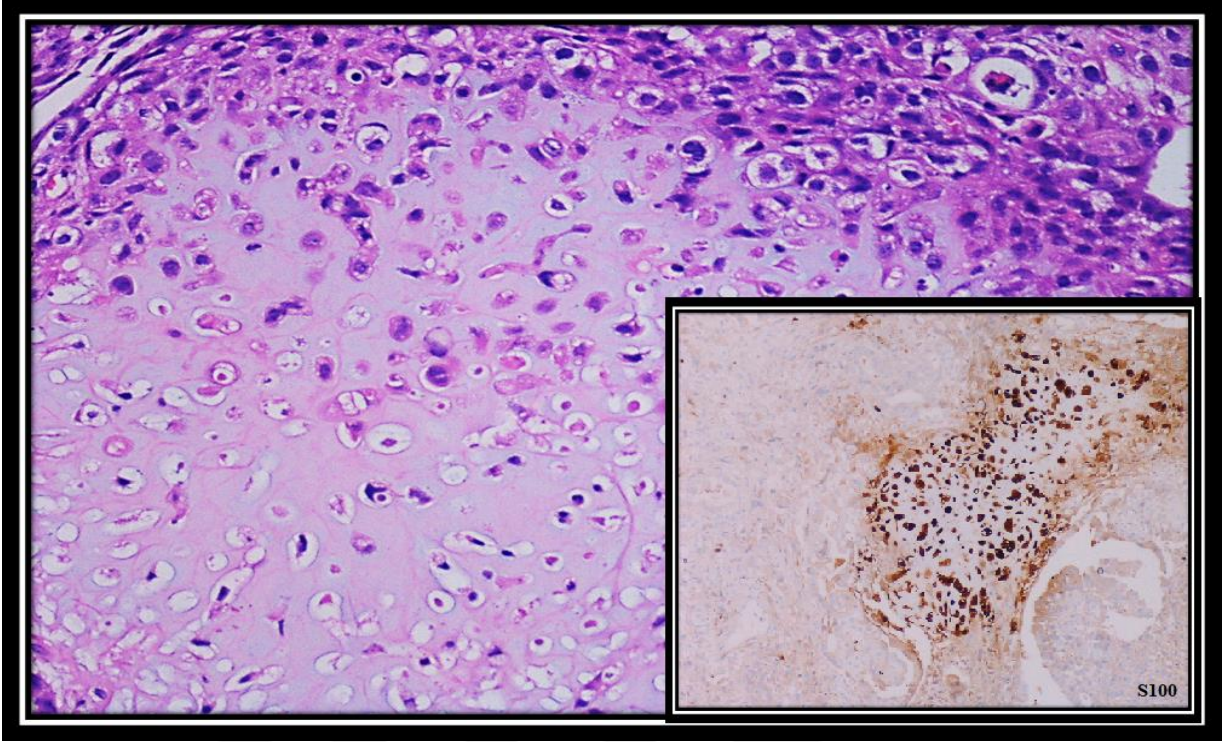
Şekil 6. Epitelyal komponent olarak endometrioid karsinom içeren karsinosarkom olgusu mikroskopik görünümü (H&E boyama, X40)



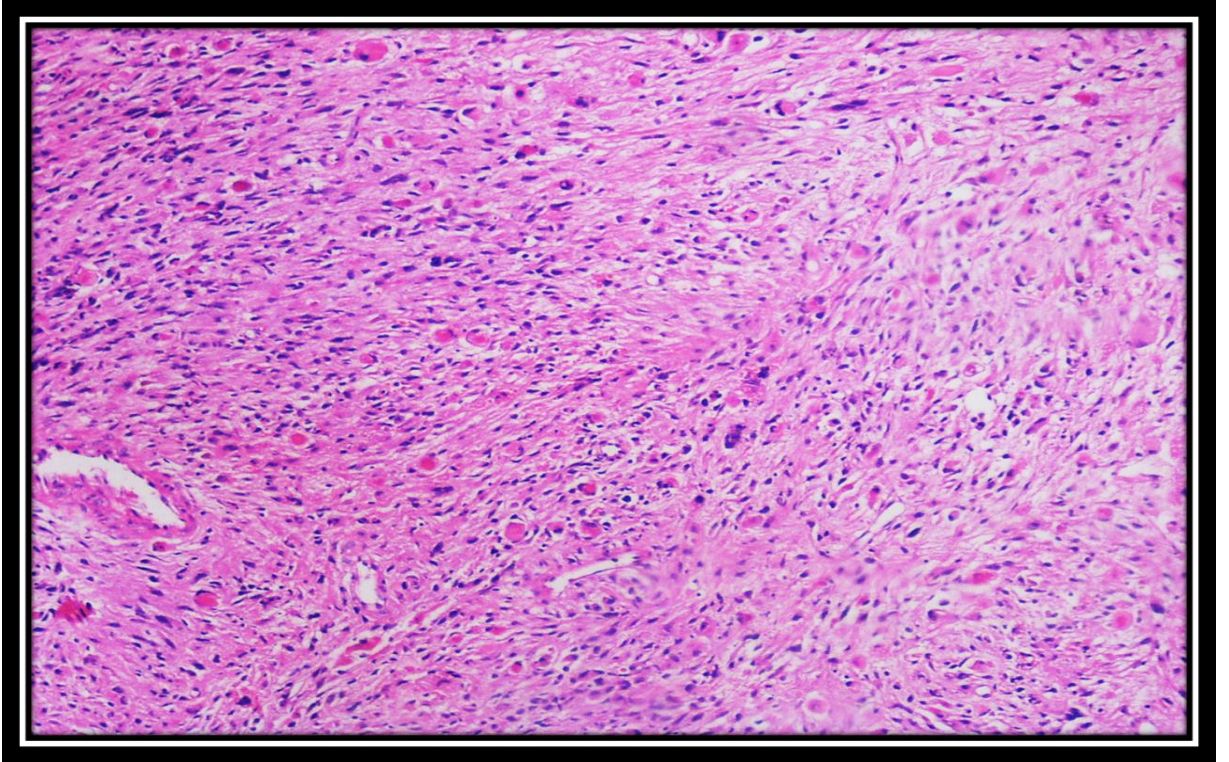
Şekil 7. Malign fibröz histiyositomu andıran malign mezenkimal homolog komponent içeren karsinosarkom olgusu mikroskopik görünümü (H&E boyama, X40)



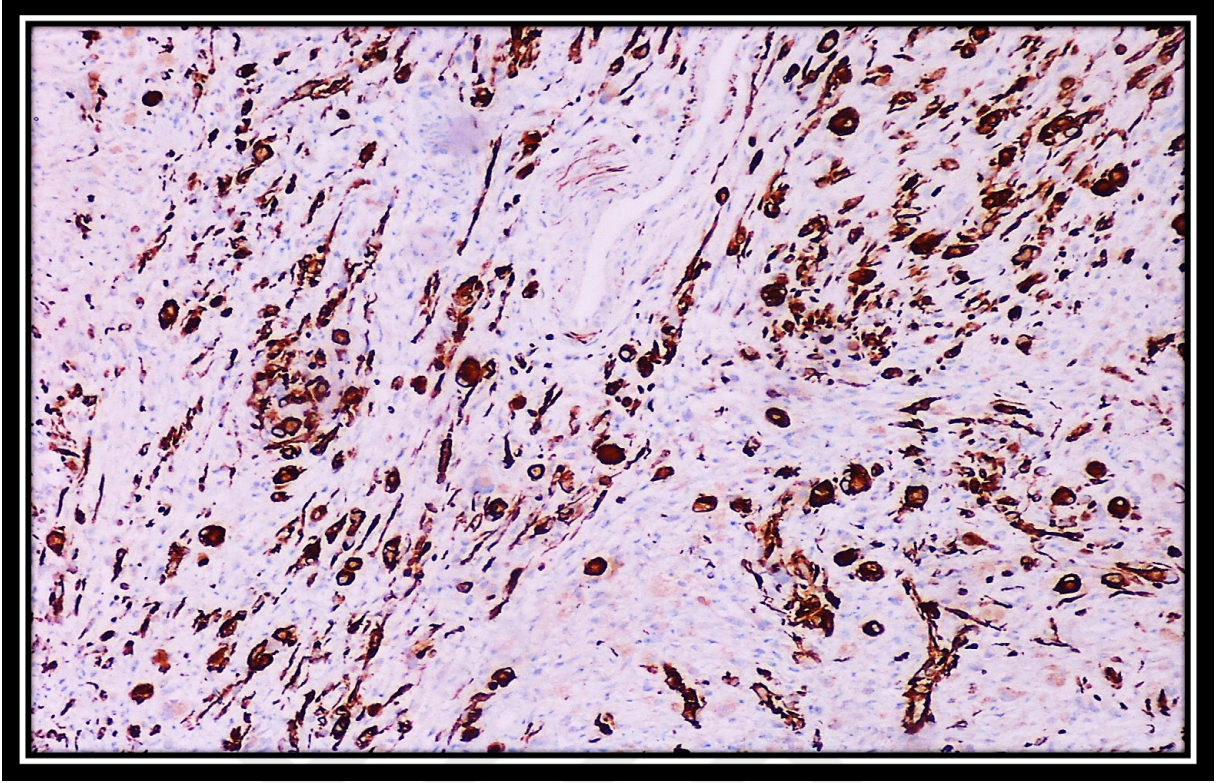
Şekil 8. Homolog mezenkimal elemanı malign fibröz histiyositomu andıran karsinosarkom olgusunun mikroskopik görünüm (H&E boyama, X200)



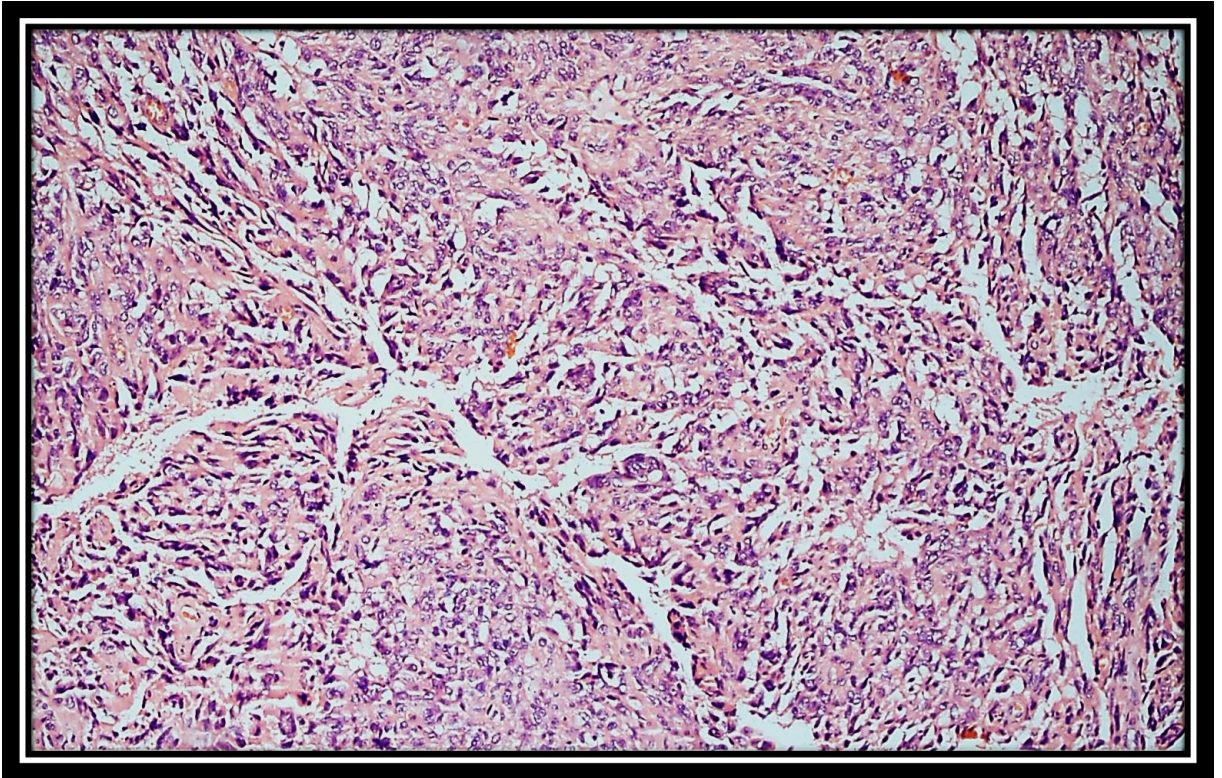
Şekil 9. Karsinosarkom olgusunun mezenkimal komponentinde heterolog eleman olarak kondrosarkom alanı (H&E boyama, X200) ve Kondrosarkom alanının S100 pozitifliği (immunperoksidaz boyama, X100).



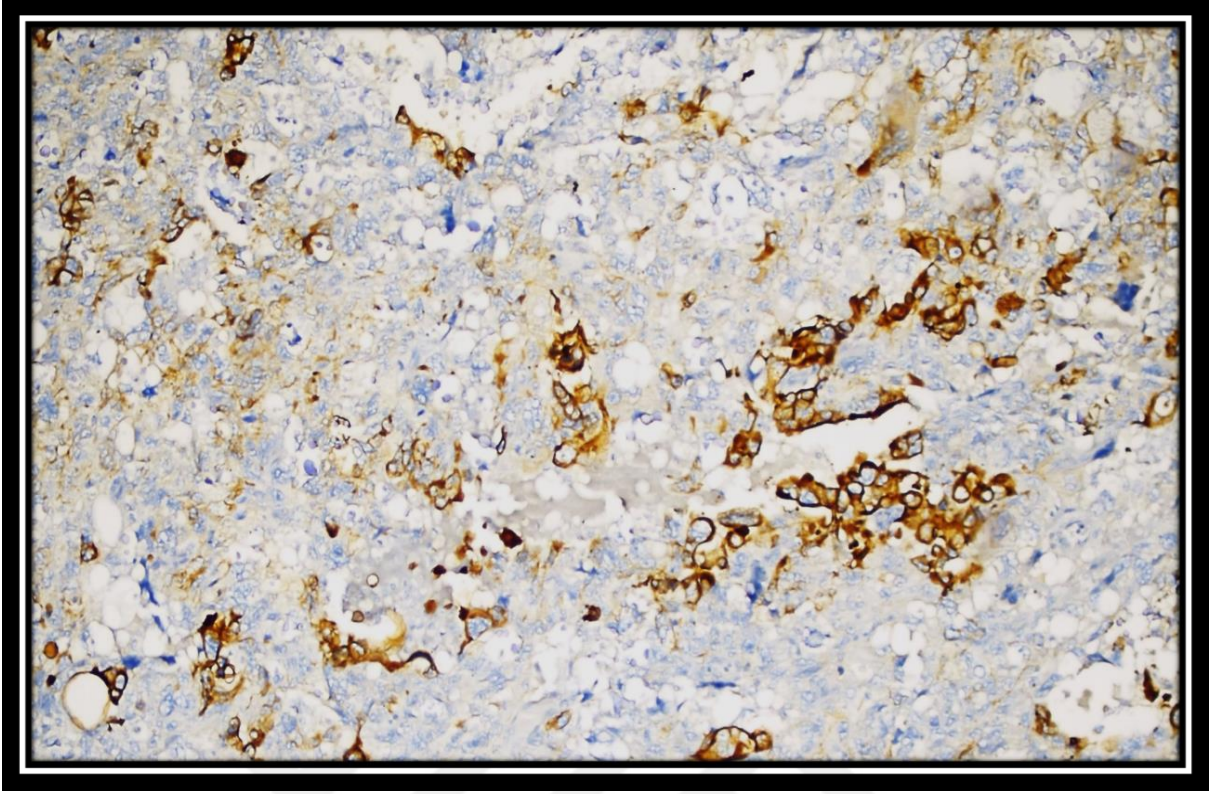
Şekil 10. Karsinosarkom olgusunda mezenkimal komponentte rabdoid diferansiasyon alanının mikroskopik görünümü (H&E boyama, X100).



Şekil 11. Karsinosarkom olgusunda mezenkimal alanda rabdoid diferansiasyon alanının Desmin pozitifliği (immunperoksidaz boyama, X100)



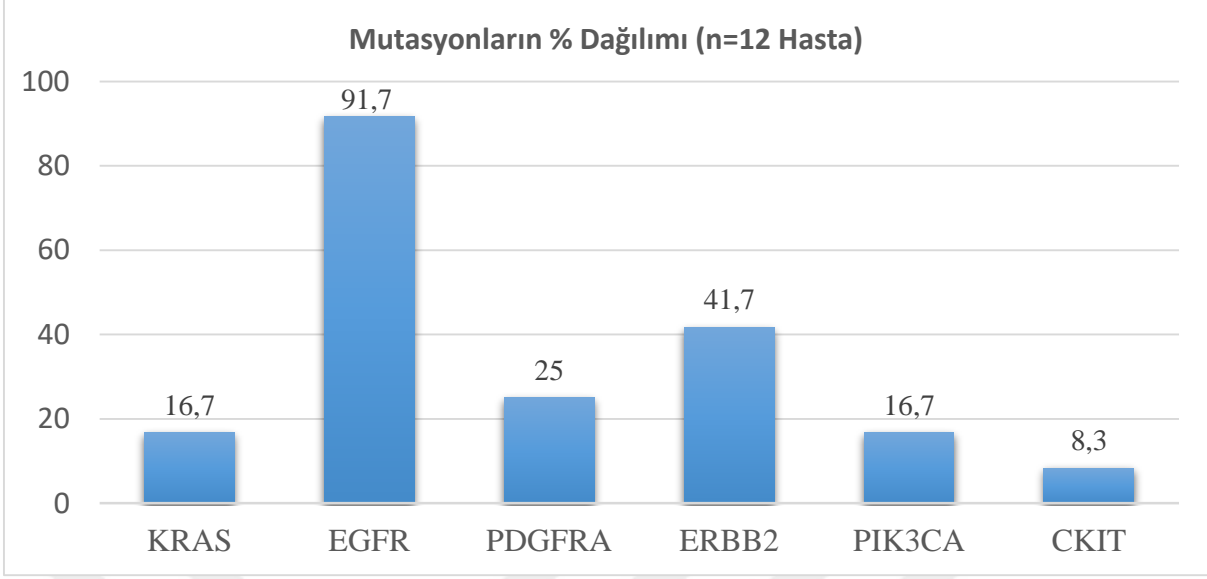
Şekil 12. Malign epitelyal ve malign mezenkimal alanların iç içe görünümü (H&E boyama, X100)



Şekil 13. Karsinosarkom olgusunda malign epitelyal komponentin Keratin ile pozitifliği (immunperoksidaz boyama, X100)



Şekil 14. Karsinosarkom olgusunda malign mezenkimal komponentin Vimentin ile pozitifliği (immunperoksidaz boyama, X100)



Şekil 15. Olgularda tespit edilen gen mutasyonlarının dağılım durumu (%)

KARSİNOSARKOM VAKALARINDA KRAS GEN MUTASYONU İLE KLİNİKOPATOLOJİK BULGULARIN KARŞILAŞTIRILMASI

Çalışmaya dahil edilen 12 olgunun 2'sinde (%16,7) KRAS mutasyonu tespit edildi. Bu mutasyonlardan biri, ekzon 2'de olup (varyant kodu; C.35 p.G12D) QIAGEN Clinical Insights platformunda patojenik mutasyon sınıfında değerlendirilirken (Şekil 16), diğer mutasyon, varyant kodu; C.2505 olup, bu varyasyon protein kodlamayan bölgeye denk geldiği için aminoasit değişimi görülmedi ve patojenitesi önemi belirsiz sınıfına dahil edildi (Şekil 17).

Mutasyon tespit edilen olguların 2'si de (20,0%) 60 yaşın üzerinde idi. Epitelyal komponenti, endometrioid/seröz/diğer komponentleri içeren mikst karsinom olan 4 olgunun 2'sinde (50,0%), mezenkimal komponenti heterolog eleman içeren 6 olgunun 2'sinde (33,3%), lenfatik invazyonu olan 6 olgunun 1'inde (16,7%) ve lenfatik invazyonu olmayan 6 olgunun 1'inde (16,7%) KRAS mutasyonu tespit edildi. İnvazyon derinliği myometrial kalınlığın yarısından fazlasını aşmayan 3 olgunun 1'i (33,3%), yarısından fazlasını aşan 9 olgunun da 1'inde (11,1%) KRAS mutasyonu mevcut idi. KRAS mutasyon varlığı klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırıldığında bu parametrelerle istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı.

KRAS gen mutasyonunun durumunun klinikopatolojik parametrelere göre dağılımı Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. KRAS gen mutasyonunun klinikopatolojik parametreler ile karşılaştırılması

Klinikopatolojik parametre		KRAS MUTASYONU		TOPLAM n (%)	p
		NEGATİF n (%)	POZİTİF n (%)		
Yaş	≤60	2(100,0%)	0(0,0%)	2(100%)	1,000
	>60	8(80,0%)	2(20,0%)	10(100%)	
Epitelyal komponentin alt tipi	Seröz Karsinom	3(100,0%)	0(0,0%)	3(100%)	0,091
	Endometrioid Karsinom	5(100,0%)	0(0,0%)	5(100%)	
	Mikst Karsinom	2(50,0%)	2(50,0%)	4(100%)	
Mezenkimal komponentte heterolog eleman varlığı	Var	6(100,0%)	0(0,0%)	6(100%)	0,455
	Yok	4(66,7%)	2(33,3%)	6(100%)	
Myometrial invazyon derinliği	Myometrial kalınlığın ½'sinden fazlasını aşmaktadır.	8(88,9%)	1(11,1%)	9(100%)	0,455
	Myometrial kalınlığın ½'sinden fazlasını aşmamaktadır.	2(66,7%)	1(33,3%)	3(100%)	
Lenfatik invazyon	Var	5(83,3%)	1(16,7%)	6(100%)	1,000
	Yok	5(83,3%)	1(16,7%)	6(100%)	
Kan Damarı İnvazyonu	Yok	10(83,3%)	2(16,7%)	12(100%)	-*
	Var	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	
Diğer Doku/ Organlara Yayılm	Var	5(83,3%)	1(16,7%)	6(100%)	1,000
	Yok	5(83,3%)	1(16,7%)	6(100%)	

*Olguların hiçbirinde kan damarı invazyonu mevcut olmadığından, bu parametrede istatistik hesaplanmamıştır.

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 721-14_AIT on FFPE_DA_20190126_32 (QIAact) | Tumor Content: 90% | Age: 75 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinosarcoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 16% | Disease Prevalence: -

Gene: KRAS | Variant: c.35G>A p.G12D gain | Somatic Frequency: 4.12% | Population Frequency: < 0.001% gnomAD (European) | Allele Fraction: 68% (of 1713 reads) | Impact: missense | Computed Classification: Tier 2C Pathogenic Carcinosarcoma | Previous Assessment: Tier 1A Pathogenic for Lung cancer boradenimkan@traliya.edu.tr May 25, 2018

Open | < Previous | Next > | Use Classification | View Bibliography

Sort By: Actionability | View: [Icons]

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency
2C KRAS	c.35G>A p.G12D	gain	Missense	68% (of 1713 reads)	4.12%	< 0.001% gnomAD (European)
3 EGFR	c.2361G>A p.Q787Q	normal	Synonymous	44% (of 763 reads)	0%	66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish)

Status: To be assessed (10) Assessed

Actionability: Tier 2C/2D Tier 3 Tier 4 Resistance Clinical Trials

Pathogenicity: Pathogenic Uncertain Significance Benign Conflicting Criteria

Şekil 16. KRAS patojenik mutasyonunun (C.35 p.G12D) ve EGFR önemi belirsiz (uncertain significance) mutasyonun tespit edilen karsinosarkom olgusunun QIAGEN Clinical Insights platformunda analiz sonucu.

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 321-16_AIT on FFPE_DA_20190126_26 (QIAact) | Tumor Content: 90% | Age: 70 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinosarcoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 2.35% | Disease Prevalence: -

Gene: EGFR | Variant: c.1562G>A p.R521K gain | Somatic Frequency: 0% | Population Frequency: 53.28% gnomAD (East Asian) | Allele Fraction: 37% (of 2005 reads) | Impact: missense | Computed Classification: Tier 3 Uncertain Significance Carcinosarcoma

Open | < Previous | Next > | Use Classification | View Bibliography

Sort By: Actionability | View: [Icons]

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency
3 EGFR	c.1562G>A p.R521K	gain	Missense	37% (of 2005 reads)	0%	53.28% gnomAD (East Asian)
3 EGFR	c.2361G>A p.Q787Q	normal	Synonymous	90% (of 937 reads)	0%	66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish)
3 ERBB2	c.1963A>G p.R559V	gain	Missense	48% (of 2717 reads)	0%	25.03% gnomAD (European)
3 KRAS	c.*2505T>G	gain	-	38% (of 4295 reads)	0%	9.27% gnomAD (Ashkenazi Jewish)

Status: To be assessed (13) Assessed

Actionability: Tier 3 Tier 4 Clinical Trials

Pathogenicity: Uncertain Significance Benign Conflicting Criteria

Şekil 17. KRAS C.2505 mutasyon varyantı tespit edilen karsinosarkom olgusunun QIAGEN Clinical Insights platformunda analiz sonucu.

KARSİNOSARKOM VAKALARINDA EGFR GEN MUTASYONU İLE KLİNİKOPATOLOJİK BULGULARIN KARŞILAŞTIRILMASI

Olguların 12'sinden 11'inde (%91,7) EGFR'da QIAGEN Clinical Insights platformunda, TIER sınıflandırmasına göre önemi belirsiz (uncertain significance) olarak yorumlanan 2 farklı mutasyon varyantı saptandı (Şekil 17-19). Saptanan varyantlar şu şekilde kodlandı; ekzon 20'de saptanan C.2361 G>A ve ekzon 13'te saptanan C.1562 G>A ifadeleri nükleotid değişimini ifade ederken, ekzon 20'de saptanan p.Q787q ve ekzon 13'te saptanan p.R521K ifadeleri de aminoasit değişimini ifade etmektedir.

EGFR mutasyonu saptanan 11 adet olgunun, 5'inde (%45,5) (her iki mutasyon varyantı da mevcuttur (Şekil 17). Mutasyon taşıyan 11 olgunun 5'i (%45,5) sadece C.2361 G>A p.Q787q mutasyon varyantını taşıırken, mutasyon saptanan 11 olgunun sadece 1'inde (%9,0) tek başına diğer mutasyon varyantı (C.1562 G>A p.R521K) tespit edildi (Tablo 11).

60 yaşın altında olan 2 olgunun 2'sinde (%100,0), EGFR mutasyonu saptanırken, 60 yaşın üzerinde olan 10 olgunun 9'unda (%90,0) mutasyon tespit edildi.

Malign epitelyal komponentinin histolojik alt tipi endometrioid karsinom olan 5 olgunun tamamında (%100), seröz karsinom olan 3 olgunun tamamında (%100), endometrioid/seröz/diğer karsinomları bir arada içeren mikst karsinom olan 4 olgunun 3'ünde (%75) EGFR mutasyonu saptandı (Şekil 20). Malign mezenkimal komponentinde heterolog eleman mevcut olan 6 olgunun 5'inde (%83,3) ve içermeyen 6 olgunun tamamında (%100) mutasyon saptandı (Şekil 22). Lenfatik invazyonu olan 6 olgunun 5'inde (%83,3), olmayan 6 olgunun tamamında (%100) mutasyon saptandı (Şekil 21). Myometrial yarıyı aşmayan 3 olgunun tamamında (%100), yarıyı aşan 9 olgunun 8'inde (%88,9) mutasyon tespit edildi (Şekil 20). Diğer doku/organlara yayılımı olan 6 olgunun 5'inde (%83,3) EGFR mutasyonu saptandı, olmayan 6 olgunun ise tamamında (%100) mutasyon mevcut idi.

Klinikopatolojik parametreleri EGFR mutasyon varyantaları ile karşılaştırdığımızda ise; 60 yaşının altında olan 2 olgunun 1'si (%50,0) EGFR mutasyon varyantı olarak C.2361 taşıırken, diğer 60 yaş altındaki olgu (%50,0) C.2361 ve C.1562 varyantını birlikte içeriyordu. 60 yaşın üstünde olan 10 olgunun 4'ü (%40,0), C.2361 varyantı taşıırken, 4'ü (%40,0) C.2361 ve C.1562 varyantlarının her ikisini de taşımaktaydı. 60 yaşın üstünde olan 10 olgunun 1'inde (%10,0) ise C.1562 varyantı tek başına mevcuttu.

Malign epitelyal komponentinin histolojik alt tipi seröz karsinom olan 3 olgunun tamamı (%100,0) C.2361 varyantı taşımakta iken, epitelyal komponenti endometrioid karsinom olan 5 olgunun 1'i (%20,0) C.2361 varyantını, 1'i (%20,0) C.1562 varyantını, 3 olgu da (%60,0) her iki mutasyon varyantını taşımakta idi.

Tümör invazyon derinliği myometrial yarıyı aşan 9 olgudan 4'ü (%44,4) C.2361 varyantı ve C.1562 varyantını bir arada taşıırken 3'ü (%33,3) C.2361 varyantı. 1'i (%11,1) C.1562 varyantı taşımakta idi. Myometrial yarıyı aşmayan 3 olgunun 2'sinde (%66,7) C.2361 varyantı mevcutken diğesinde de (%33,3) her iki varyant mutasyonu saptandı. Epitelyal komponenti mikst karsinom olan 4 olgunun 1'i (%25,0) C.2361 varyantı, 2'si (%50,0) her iki varyant mutasyonu taşıyordu. Mikst karsinom olan 1 olgu ise (%25,0) EGFR mutasyonu taşıymıyordu.

Lenfatik invazyonu olan 6 olgunun 1'i (%16,7) EGFR mutasyonu taşımazken 2'si (%33,3) C.2361 varyantını, 1'i (%16,7) C.1562 varyantını ve geri kalan 2'si (%33,3) her iki varyantı içeriyordu. Lenfatik invazyonu olmayan tümü EGFR mutasyonu taşıyan 6 olgunun 3'ü (%50,0) C.2361 varyantını taşımakta idi lenfatik invazyonu olmayan diğere 3 olguda ise (%50,0) her iki varyant mutasyonu mevcut idi.

Mezenkimal komponentinde heterolog eleman içeren 6 olgunun tamamında EGFR mutasyonu saptandı; bu 6 olgunun 2'si (%33,3) C.2361 varyant EGFR mutasyonu, 4'ü (%66,7) her iki varyant EGFR mutasyonu görüldü. Mezenkimal komponentinde heterolog eleman içermeyen 6 olgunun 1'inde (%16,7) EGFR mutasyonu izlenmezken, 3'ünde (%50,0) C.2361 varyant EGFR mutasyonu, 1'inde (%16,7) C.1562 varyant EGFR mutasyonu, 1'inde (%16,7) her iki varyant EGFR mutasyonu görüldü.

Diğere doku/organlara yayılımı mevcut olan 6 olgunun 1'i (%16,7) EGFR mutasyonu taşımazken, 3'ü (%50,0) C.2361 varyantını, 1'i (%16,7) C.1562 varyantını, geri kalan 1 olguda (%16,7) C.2361 varyantı ve C.1562 varyantını bir arada taşımakta idi. Diğere doku/organlara yayılımı mevcut olmayan ve tamamı EGFR mutant olan 6 olgunun 4'ü (%66,7) C.2361 varyantı ve C.1562 varyantını bir arada taşıırken, 2 olguda (%33,3) sadece C.2361 varyantı mevcut idi.

EGFR mutasyon durumu ve mutasyon varyant durumu klinikopatolojik parametrelerle istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı.

EGFR mutasyonunun klinikopatolojik parametrelere göre durumu Tablo 11'de ve EGFR mutasyon varyantının klinikopatolojik parametrelere göre durumu Tablo 12'de gösterilmektedir.

Tablo 11. EGFR mutasyonu görülen olgularda gen mutasyon varyantlarının & dağılımı

	EGFR Mutasyon Ekzon 13**	EGFR Mutasyon Ekzon 20*	EGFR Mutasyon Ekzon 13&20	Toplam
n (olgu sayısı) adet	1	5	5	11
Dağılım %	9	45,5	45,5	100

* C.2361 G>A p.Q787q (ekzon 20) ** C.1562 G>A p.R521K (ekzon 13)

Tablo 12. EGFR gen mutasyonunun klinikopatolojik parametreler ile karşılaştırılması

Klinikopatolojik parametre		EGFR MUTASYONU		TOPLAM n (%)	p
		NEGATİF n (%)	POZİTİF n (%)		
Yaş	≤60	0(0,0%)	2(100,0%)	2(100,0%)	1,000
	>60	1(10,0%)	9(90,0%)	10(100,0%)	
Epitelyal komponentin alt tipi	Seröz Karsinom	0(0,0%)	3(100,0%)	3(100,0%)	0,336
	Endometrioid Karsinom	0(0,0%)	5(100,0%)	5(100,0%)	
	Mikst Karsinom	1(25,0%)	3(75,0%)	4(100,0%)	
Mezenkimal komponentte heterolog eleman varlığı	Var	0(0,0%)	6(100,0%)	6(100,0%)	1,000
	Yok	1(16,7%)	5(83,3%)	6(100,0%)	
Myometrial invazyon derinliği	Myometrial kalınlığın ½'sinden fazlasını aşmaktadır.	1(11,1%)	8(88,9%)	9(100,0%)	1,000
	Myometrial kalınlığın ½'sinden fazlasını aşmamaktadır.	0(0,00%)	3(100,0%)	3(100,0%)	
Lenfatik invazyon	Var	1(16,7%)	5(83,3%)	6(100,0%)	1,000
	Yok	0(0,00%)	6(100,0%)	6(100,0%)	
Kan Damarı İnvazyonu	Yok	1(8,3%)	11(91,7%)	12(100,0%)	-*
	Var	0(0,00%)	0(0,00%)	0(100,0%)	
Diğer Doku/ Organlara Yayılım	Var	1(16,7%)	5(83,3%)	6(100,0%)	1,000
	Yok	0(0,00%)	6(100,0%)	6(100,0%)	

*Kan damarı invazyonu hiçbir olguda mevcut olmadığından bu parametre ilgili istatistiksel analiz yapılmamıştır.

Tablo 10. EGFR gen mutasyon varyantının klinikopatolojik parametreler ile karşılaştırılması

Klinikopatolojik Parametre		EGFR MUTASYONU				TOPLAM n (%)	p
		Yok n(%)	Varyant				
			Ekzon 20 n(%)	Ekzon 13 n(%)	Ekzon 13&20 n(%)		
Yaş	≤60	0(0,0%)	1(50,0%)	0(0,0%)	1(50,0%)	2(100,0%)	0,923
	>60	1(10,0%)	4(40,0%)	1(10,0%)	4(40,0%)	9(100,0%)	
Epitelyal komponentin histolojik alt tipi	Seröz Karsinom	0(0,0%)	3(100,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	3(100,0%)	0,21
	Endometrioid Karsinom	0(0,0%)	1(20,0%)	1(20,0%)	3(60,0%)	5(100,0%)	
	Mikst Karsinom	1(25,0%)	1(25,0%)	0(0,0%)	2(50,0%)	3(100,0%)	
Mezenkimal komponentte heterolog eleman varlığı	Var	0(0,0%)	2(33,3%)	0(0,0%)	4(66,7%)	6(100,0%)	0,261
	Yok	1(16,7%)	3(50,0%)	1(16,7%)	1(16,7%)	6(100,0%)	
Myometrial invazyon derinliği	Myometrial kalınlığın ½'sinden fazlasını aşmaktadır.	1(11,1%)	3(33,3%)	1(11,1%)	4(44,4%)	9(100,0%)	0,721
	Myometrial kalınlığın ½'sinden fazlasını aşmamaktadır.	0(0,0%)	2(66,7%)	0(0,0%)	1(33,3%)	3(100,0%)	
Lenfatik invazyon	Var	1(16,7%)	2(33,3%)	1(16,7%)	2(33,3%)	5(100,0%)	0,494
	Yok	0(0,0%)	3(50,0%)	0(0,0%)	3(50,0%)	6(100,0%)	
Kan Damarı İnvazyonu	Yok	1(8,3%)	5(41,7%)	1(8,3%)	5(41,7%)	11(100,0%)	-*
	Var	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0(100,0%)	
Diğer Doku/Organlara Yayılm	Var	1(16,7%)	3(50,0%)	1(16,7%)	1(16,7%)	5(100,0%)	0,261
	Yok	0(0,0%)	2(33,3%)	0(0,0%)	4(66,7%)	8(100,0%)	

*Kan damarı invazyonu hiçbir olguda mevcut olmadığından bu parametre ilgili istatistiksel analiz yapılmamıştır.

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 4946-10_AIT on FPPE_DA_20190126_28 (QIAact) | Tumor Content: 90% | Age: 69 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 2.35% | Disease Prevalence: -

Gene: **EGFR** | Variant: c.1562G>A p.R521K **gain** | Somatic Frequency: 0% | Population Frequency: 53.28% gnomAD (East Asian) | Allele Fraction: 38% (of 982 reads) | Impact: missense | Computed Classification: Tier 3 Uncertain Significance | Previous Assessment: Tier 3 Uncertain Significance for Carcinoma

Open | < Previous | Next > | Use Classification | View Bibliography

Sort By: Actionability | View: [Icons]

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency
3 EGFR	c.1562G>A p.R521K gain	gain	Missense	38% (of 982 reads)	0%	53.28% gnomAD (East Asian)
3 EGFR	c.2361G>A p.Q787Q normal	normal	Synonymous	97% (of 1272 reads)	0%	66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish)

Status: To be assessed (13) Assessed

Actionability: Tier 3 Tier 4 Clinical Trials

Pathogenicity: Uncertain Significance Benign Conflicting Criteria

Şekil 17. EGFR mutasyonunun 2 farklı varyantını taşıyan olguya ait QIAGEN Clinical Insights analiz sonucu

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 434-17_AIT on FPPE_DA_20190126_23 (QIAact) | Tumor Content: 90% | Age: 45 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 2.35% | Disease Prevalence: -

Gene: **EGFR** | Variant: c.2361G>A p.Q787Q **normal** | Somatic Frequency: 0% | Population Frequency: 66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish) | Allele Fraction: 88% (of 1067 reads) | Impact: synonymous | Computed Classification: Tier 3 Uncertain Significance | Previous Assessment: Tier 3 Uncertain Significance for Lymphoma

Open | < Previous | Next > | Use Classification | View Bibliography

Sort By: Actionability | View: [Icons]

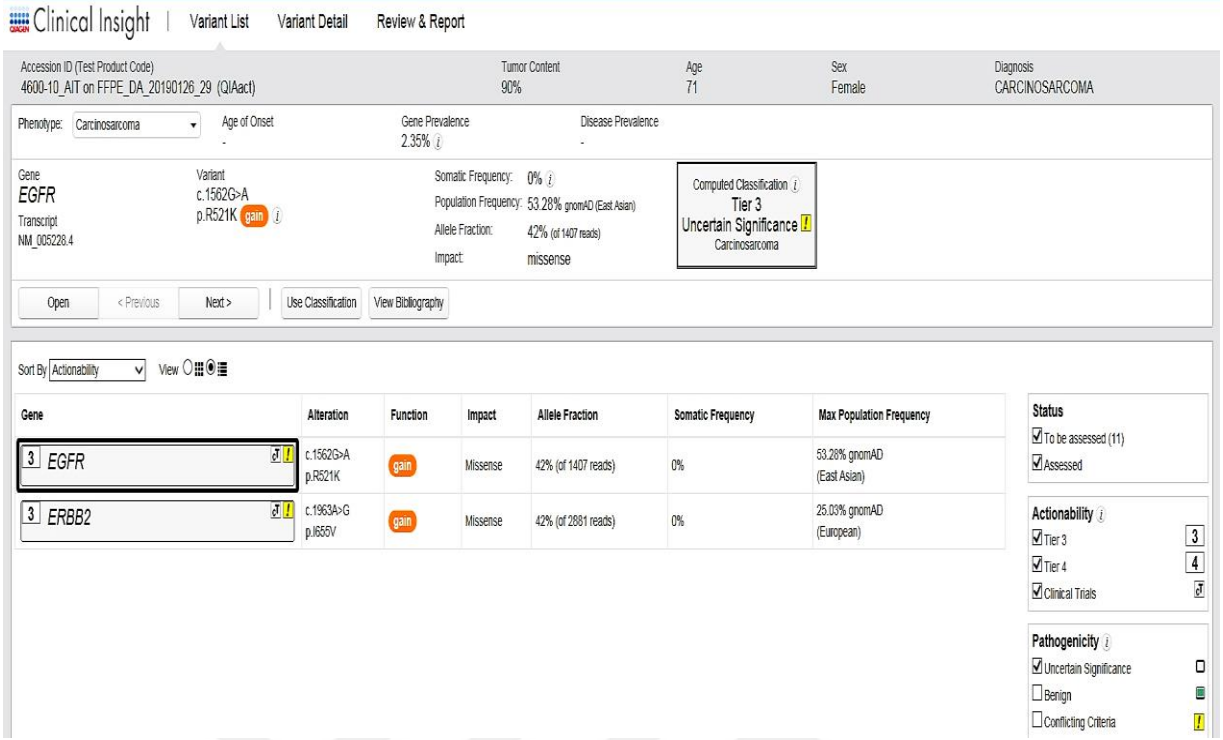
Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency
3 EGFR	c.2361G>A p.Q787Q normal	normal	Synonymous	88% (of 1067 reads)	0%	66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish)

Status: To be assessed (11) Assessed

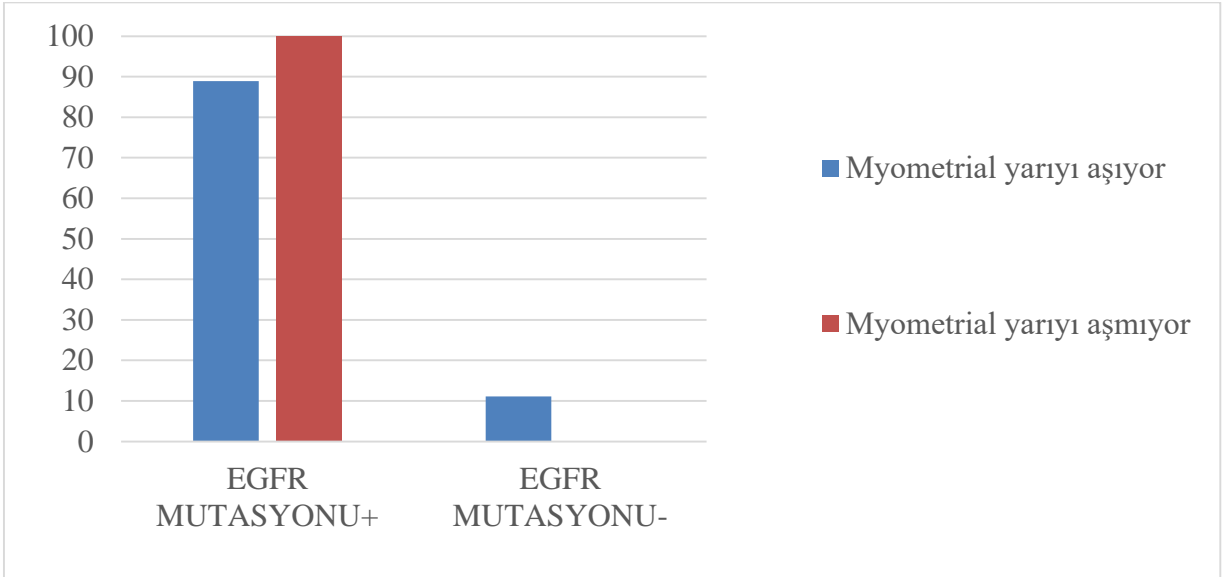
Actionability: Tier 3 Tier 4 Clinical Trials

Pathogenicity: Uncertain Significance Benign Conflicting Criteria

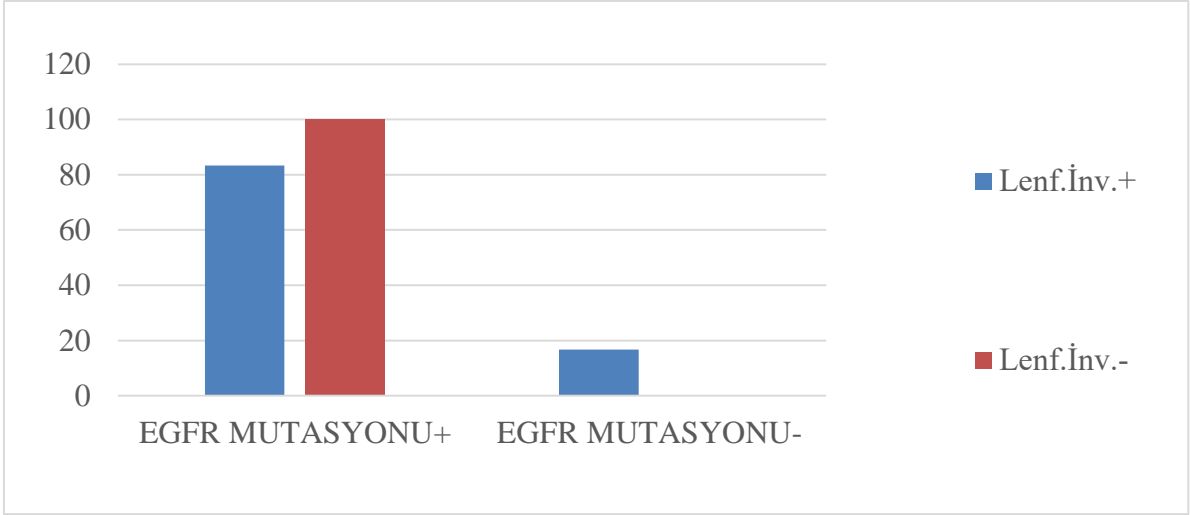
Şekil 18. Ekzon 20 bölgesinde C.2361 p.Q787Q mutasyon varyantını içeren karsinosarkom olgusunun QIAGEN Clinical Insights analiz sonucu.



Şekil 19. Ekzon 13 bölgesinde C.1562 p.R521K mutasyon varyantını içeren karsinosarkom olgusunun QIAGEN Clinical Insights analiz sonucu

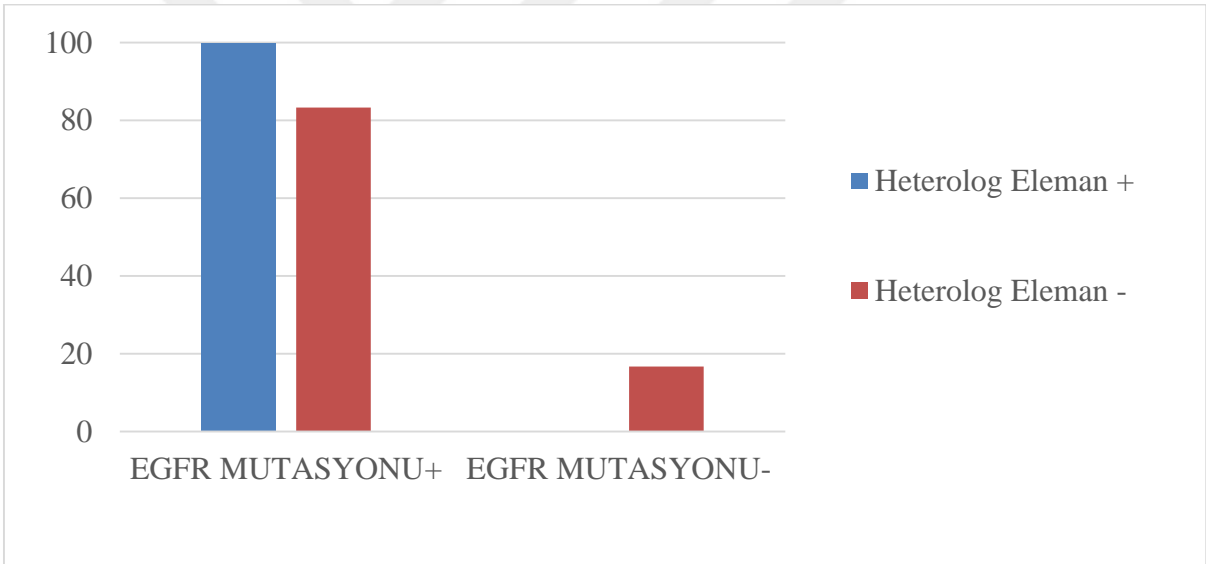


Şekil 20. Tümörlerin invazyon derinliğinin myometrial yarıyı aşmış/aşmadığına göre EGFR mutasyon durumu



Lenf. İnv.: Lenfatik invazyon.

Şekil 21. Tümörlerde lenfatik invazyon olup olmasına göre EGFR mutasyon durumu



Şekil 22. Tümörlerde mezenkimal komponentte heterolog eleman olup olmasına göre EGFR mutasyon durumu

KARSİNOSARKOM VAKALARINDA C-KİT GEN MUTASYONU İLE KLİNİKOPATOLOJİK BULGULARIN KARŞILAŞTIRILMASI

Olguların 12'sinin sadece 1'inde (%8,3) C-KİT gen mutasyonu saptanmıştır (Şekil 23). Bu olguda aynı anda 2 farklı mutasyon varyantı C-KİT mutasyonu mevcuttu. Varyantlardan biri C.2394C>T (nükleik asit değişimi) p.I798I (aminoasit değişimi) varyantı iken diğeri C.1621A>C p.M541L varyantı idi. C.2394 varyantı QIAGEN Clinical Insights platformunda karsinosarkomlar için Tier 3 sınıflandırmasında patojenik sınıfına girerken, C.1621 varyantı ise önemi belirsiz (uncertain significance) sınıfına dahil edildi.

60 yaşın üzerinde olan 10 olgunun 1'inde (%10,0) C-KİT mutasyonu saptandı. Bu olgu, malign epitelyal komponentinin histolojik alt tipi seröz karsinom olan 3 olgudan 1'i (%33,3), mezenkimal komponenti heterolog eleman içermeyen 6 olgudan 1'i (%16,7), tümöral invazyon derinliği myometriyumun yarısını aşmamakta olan 3 olgudan 1'i (%33,3), lenfatik invazyonu olmayan 6 olgudan 1'i (%16,7), diğer doku/organlara yayılımı olmayan olgulardan 1'i (%16,7) idi.

C-KİT mutasyonu klinikopatolojik parametrelerle birlikte değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı.

C-KİT mutasyonunun klinikopatolojik parametrelere göre durumu Tablo 11'de gösterilmektedir.

Tablo 11. C-KİT gen mutasyonunun klinikopatolojik parametreler ile karşılaştırılması

Klinikopatolojik parametre		C-KİT MUTASYONU		TOPLAM n (%)	p
		NEGATİF n (%)	POZİTİF n (%)		
Yaş	≤60	2(100,0%)	0(0,0%)	2(100,0%)	1,000
	>60	9(90,0%)	1(10,0%)	10(100,0%)	
Epitelyal komponentin alt tipi	Seröz Karsinom	2(66,7%)	1(33,3%)	3(100,0%)	0,195
	Endometrioid Karsinom	5(100,0%)	0(0,0%)	5(100,0%)	
	Mikst Karsinom	4(100,0%)	0(0,0%)	4(100,0%)	
Mezenkimal komponentte heterolog eleman varlığı	Var	6(100,0%)	0(0,0%)	6(100,0%)	1,000
	Yok	5(83,3%)	1(16,7%)	6(100,0%)	
Myometrial invazyon derinliği	Myometrial kalınlığın ½'sinden fazlasını aşmaktadır.	9(100,0%)	0(0,0%)	9(100,0%)	0,250
	Myometrial kalınlığın ½'sinden fazlasını aşmamaktadır.	2(66,7%)	1(33,3%)	3(100,0%)	
Lenfatik invazyon	Var	6(100,0%)	0(0,0%)	6(100,0%)	1,000
	Yok	5(83,3%)	1(16,7%)	6(100,0%)	
Kan Damarı İnvazyonu	Yok	11(91,7%)	1(8,3%)	12(100,0%)	-*
	Var	0(0,0%)	0(0,0%)	0(100,0%)	
Diğer Doku/Organlara Yayılım	Var	6(100,0%)	0(0,0%)	6(100,0%)	1,000
	Yok	5(83,3%)	1(16,7%)	6(100,0%)	

*Kan damarı invazyonu hiçbir olguda mevcut olmadığından bu parametre ilgili istatistiksel analiz yapılmamıştır.

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 2991-17_AIT on FFPE_DA_20190126_30 (QIAact) | Tumor Content: 95% | Age: 62 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinosarcoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 0.53% | Disease Prevalence: -

Gene: KIT | Variant: c.2394C>T p.1798I (normal) | Somatic Frequency: 0% | Population Frequency: 3.30% ESP (European-American) | Allele Fraction: 7.88% (of 2614 reads) | Impact: synonymous

Computed Classification: Tier 3 Pathogenic (Carcinosarcoma) | Previous Assessment: Tier 3 Uncertain Significance for Lung cancer (borademirkan@trakya.edu.tr, Oct 15, 2018)

Open | < Previous | Next > | Use Classification | View Bibliography

Sort By: Actionability | View: [Icons]

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency	Status
KIT	c.2394C>T p.1798I	normal	Synonymous	7.88% (of 2614 reads)	0%	3.30% ESP (European-American)	<input checked="" type="checkbox"/> To be assessed (16) <input checked="" type="checkbox"/> Assessed
EGFR	c.2361G>A p.Q787Q	normal	Synonymous	55% (of 777 reads)	0%	66.88% gnomAD (Ashkenazi Jewish)	<input checked="" type="checkbox"/> Actionability: Tier 3 (3) <input checked="" type="checkbox"/> Tier 4 (4) <input checked="" type="checkbox"/> Clinical Trials
ERBB2	c.1963A>G p.R559V	gain	Missense	5.94% (of 5004 reads)	0%	25.03% gnomAD (European)	<input checked="" type="checkbox"/> Pathogenic <input type="checkbox"/> Uncertain Significance <input type="checkbox"/> Benign <input type="checkbox"/> Conflicting Criteria
KIT	c.1621A>C p.M541L	gain	Missense	45% (of 1724 reads)	0%	11.19% ESP (European-American)	

Şekil 23. CKİT Tier sınıflandırmasına göre patojenik ve önemi belirsiz mutasyonu saptanan karsinosarkom olgusu

KARSİNOSARKOM VAKALARINDA PDGFRA GEN MUTASYONU İLE KLİNİKOPATOLOJİK BULGULARIN KARŞILAŞTIRILMASI

Karsinosarkom olgularının toplam 12'sinden 3'ünde (%25) PDGFRA gen mutasyonu tespit edilmiştir (Şekil 24). Bu mutasyon varyant olarak ekzon 7'de C.939T>G (nükleik asit değişimi) p.G313G (aminoasit değişimi) olarak kodlanmış olarak saptandı. QIAGEN Clinical Insights platformunda bu mutasyon, patojenitesi önemi belirsiz (uncertain significance) sınıfına dahil edildi.

Yaşları 60 yaşın altında olan 2 karsinosarkom olgumuzun 1'inde (%50,0) PDGFRA mutasyonu saptanırken, 60 yaşın üzerinde olan 10 olgudan 2'sinde (%20,0) mutasyon mevcut idi. Malign epitelyal komponentinin histolojik alt tipi seröz karsinom olan 3 olgudan 1'i (%33,3), endometrioid karsinom olan 5 olgudan 1'i (%20,0), mikst karsinom olan 4 olgudan 1'i (%25,0) PDGFRA mutasyonu taşıyordu (Şekil 26). Mezenkimal komponenti heterolog eleman içermekte olan 6 olgunun 3'ü (%50,0) (Şekil 24), lenfatik invazyonu olan 6 olgunun 3'ü (%50,0) (Şekil 25), invazyon derinliği myometriyumun yarısından fazlasını aşan 9 olgudan 3'ü (%33,3) (Şekil 27), diğer doku/organlara yayılımı olan 6 olgudan 1'i (%16,7), yayılımı olmayan 6 olgudan 2'si (%33,3) PDGFRA mutasyonu taşıyordu.

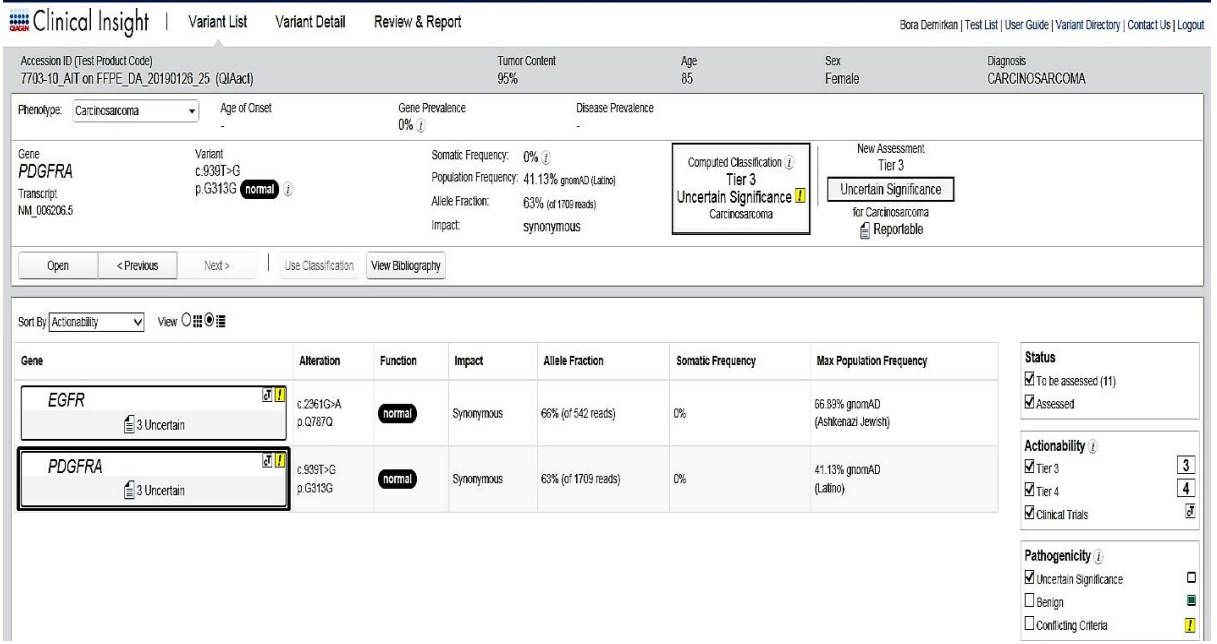
PDGFRA gen mutasyonu saptadığımız olguların tamamında tümör invazyon derinliği, myometrial yarının yarısını aşmakta idi. 2 olguda diğer doku/organlara yayılım mevcutken kalan 1 olguda diğer doku ve organlara yayılım görülmedi.

Heterolog eleman varlığı, lenfatik invazyon ve tümörün myometrial invazyon derinliği ile PFGFRA gen mutasyon durumu karşılaştırıldığında; sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmamakla birlikte heterolog eleman varlığının, lenfatik invazyonun, PDGFRA mutasyonu varlığı riskini 2 kat arttırdığı saptandı ($p=0,182$ $OR=2,0$ (%95 Güven Aralığı: 0,899 - 4,452)). Myometrial invazyonun derinliğinin myometriyumun yarısından fazlasını aşmasının ise PDGFRA gen mutasyon riskini 1,5 kat arttırdığı saptandı ($p=0,509$ $OR=1,5$ (%95 Güven Aralığı: 0,945-2,381)).

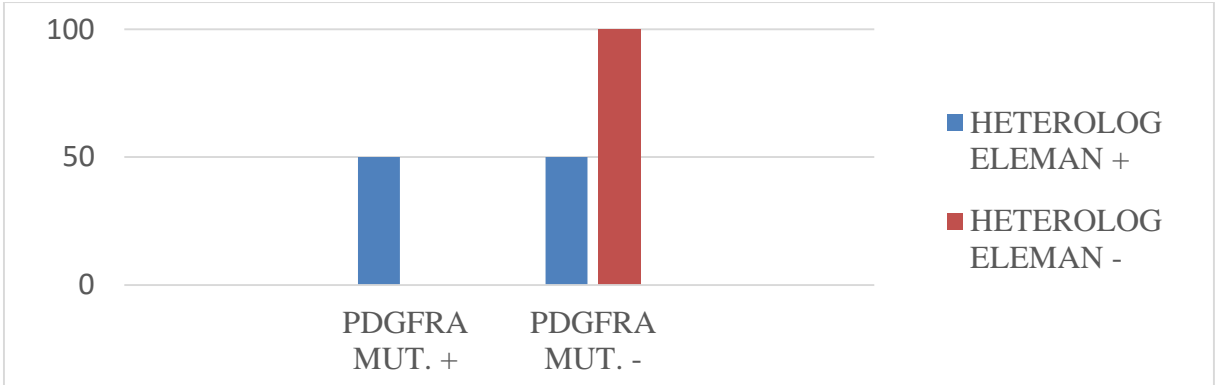
Tablo 13. PDGFRA gen mutasyonunun klinikopatolojik parametreler ile karşılaştırılması

Klinikopatolojik parametre		PDGFRA MUTASYONU		TOPLAM n (%)	P
		NEGATİF n (%)	POZİTİF n (%)		
Yaş	≤60	1(50,0%)	1(50,0%)	2(100,0%)	0,455
	>60	8(80,0%)	2(20,0%)	10(100,0%)	
Epitelyal komponentin alt tipi	Seröz Karsinom	2(66,7%)	1(33,3%)	3(100,0%)	0,915
	Endometrioid Karsinom	4(80,0%)	1(20,0%)	5(100,0%)	
	Mikst Karsinom	3(75,0%)	1(25,0%)	4(100,0%)	
Mezenkimal komponentte heterolog eleman varlığı	Var	3(50,0%)	3(50,0%)	6(100,0%)	0,182
	Yok	6(100,0%)	0(0,0%)	6(100,0%)	
Myometrial invazyon derinliği	Myometrial kalınlığın ½'sinden fazlasını aşmaktadır	6(66,7%)	3(33,3%)	9(100,0%)	0,509
	Myometrial kalınlığın ½'sinden fazlasını aşmamaktadır	3(100,0%)	0(0,0%)	3(100,0%)	
Lenfatik invazyon	Var	3(50,0%)	3(50,0%)	6(100,0%)	0,182
	Yok	6(100,0%)	0(0,0%)	6(100,0%)	
Kan Damarı İnvazyonu	Yok	9(75,0%)	3(25,0%)	12(100,0%)	-*
	Var	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	
Diğer Doku/Organlara Yayılım	Var	5(83,3%)	1(16,7%)	6(100,0%)	1,000
	Yok	4(66,7%)	2(33,3)	6(100,0%)	

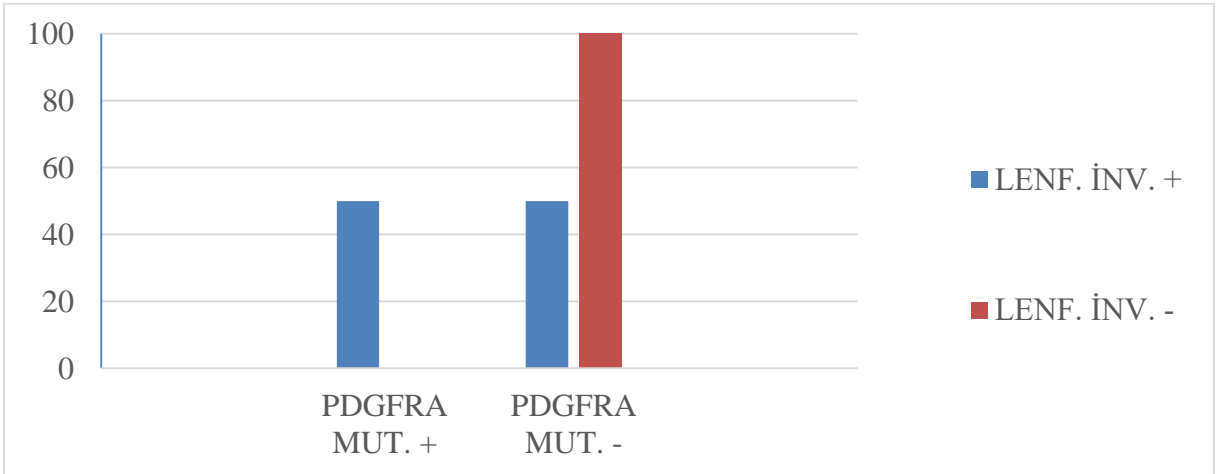
*Kan damarı invazyonu hiçbir olguda mevcut olmadığından bu parametre ilgili istatistiksel analiz yapılmamıştır.



Şekil 23. PDGFRA gen mutasyonu saptanan karsinosarkom olgusu

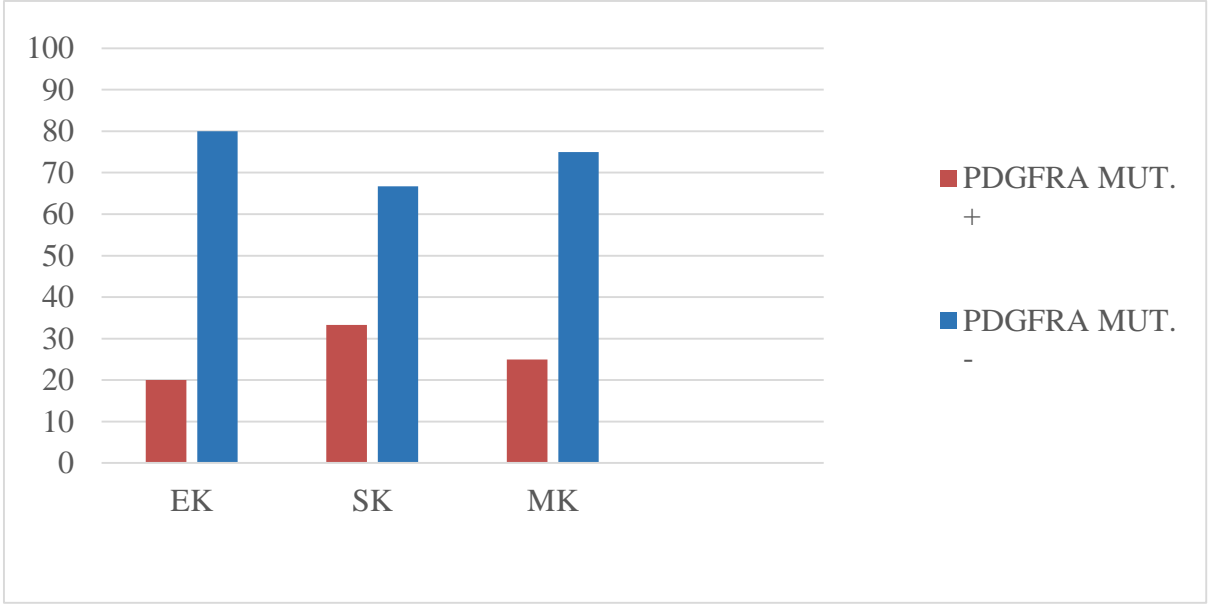


Şekil 24. Heterolog eleman olup olmasına göre PDGFRA mutasyon durumu



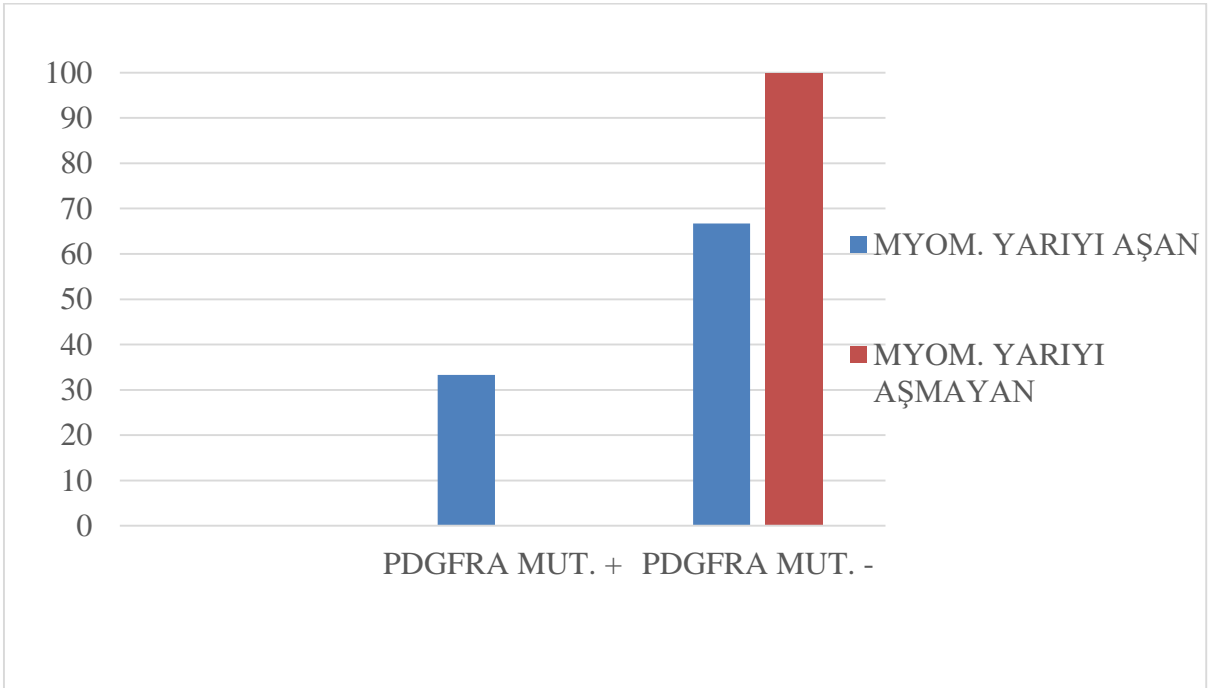
Lenf. İnv.: Lenfatik invazyon. PDGFRA Mut.: PDGFRA Mutasyonu.

Şekil 25. Olgularda lenfatik invazyon olup olmasına göre PDGFRA mutasyon durumu



EK: Endometrial Karsinom. **SK:** Seröz Karsinom. **MK:** Mikst Karsinom.

Şekil 26. PDGFRA mutasyonunun, karsinosarkom olgularının malign epitelyal komponentinin histolojik alt tipine göre pozitiflik ve negatiflik oranları



Myom.: Myometrium. **Mut.:** Mutasyon.

Şekil 27. Tümör invazyon derinliğinin myometrial kalınlığın yarısını aşıp aşmamasına göre PDGFRA mutasyon durumu

KARSİNOSARKOM VAKALARINDA ERBB2 GEN MUTASYONU İLE KLİNİKOPATOLOJİK BULGULARIN KARŞILAŞTIRILMASI

Karsinosarkom olgularımızın toplam 12'sinden 5'inde (%58,3) ERBB2 gen mutasyonu saptandı. Bu mutasyon ekzon 17'de c.1963A>G (nükleotit değişimi) p.I655V (aminoasit değişimi) varyant koduyla tespit edildi. QIAGEN Clinical Insights platformu bu mutasyon varyantını karsinosarkomlar için patojenitesi önemi belirsiz (uncertain significance) sınıfına dahil ederek değerlendirildi (Şekil 28).

Yaşları 60 yaşın üzerinde olan 10 olgunun 5'inde (%50,0) ERBB2 mutasyonu mevcut idi. Olgularda malign epitelyal komponenti endometrioid karsinom olan 5 olgunun 2'sinin (%40,0), seröz karsinom olan 3 olgunun 1'inin (%33,3), mikst karsinom olan 4 olgunun 2'sinin (%50,0) ERBB2 mutasyonu taşıdığı saptandı. Mezenkimal komponentinde heterolog eleman mevcut olan 6 olgunun 2'sinin (%33,3), heterolog eleman olmayan 6 olgunun da 3'ünün (%50) ERBB2 mutasyonu taşıdığı tespit edildi.

Myometrial invazyon derinliği myometriyumun yarısından fazlasını aşan 9 olgunun 3'ünde (%33,3), myometriyumun yarısını aşmayan invazyon derinliği olan 3 olgunun da 2'sinde (%66,7) ERBB2 mutasyonu saptandı. Diğer doku/organlara yayılımı olan 6 olgunun 3'ünde (%50), ERBB2 mutasyonu saptandı. Diğer doku/organlara yayılımı olmayan 6 olgunun 2'sinde (%33,3) ERBB2 mutasyonu mevcut idi. Lenfatik invazyonu olan 6 olgunun 2'si (%33,3), olmayan 6 olgunun da 3'ünde (%50,0) ERBB2 mutasyonu saptandı.

ERBB2 mutasyonu klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık saptandı.

Tablo 14'te ERBB2 mutasyon durumunun klinikopatolojik parametrelere göre dağılımı gösterilmektedir.

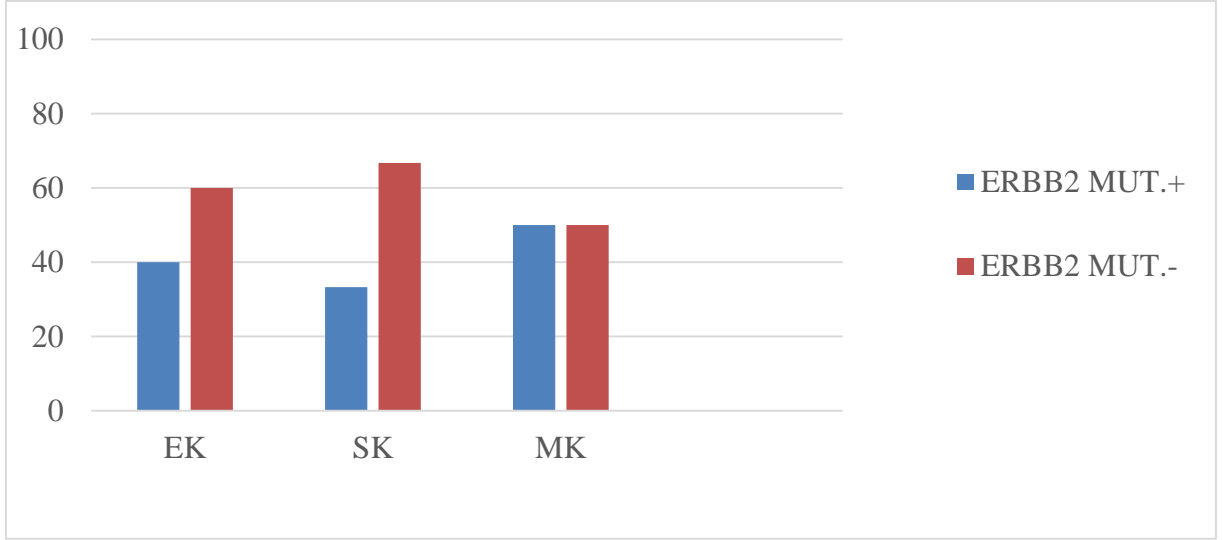
Tablo 14. ERBB2 gen mutasyonunun klinikopatolojik parametreler ile karşılaştırılması

Klinikopatolojik parametre		ERBB2 MUTASYONU		TOPLAM n (%)	P
		NEGATİF n (%)	POZİTİF n (%)		
Yaş	≤60	2(100,0%)	0(0,0%)	2(100,0%)	0,470
	>60	5(50,0%)	5(50,0%)	10(100,0%)	
Epitelyal komponentin alt tipi	Seröz Karsinom	2(66,7%)	1(33,3%)	3(100,0%)	0,902
	Endometrioid Karsinom	3(60,0%)	2(40,0%)	5(100,0%)	
	Mikst Karsinom	2(50,0%)	2(50,0%)	4(100,0%)	
Mezenkimal komponentte heterolog eleman varlığı	Var	4(66,7%)	2(33,3%)	6(100,0%)	1,000
	Yok	3(50,0%)	3(50,0%)	6(100,0%)	
Myometrial invazyon derinliği	Myometrial kalınlığın ½'sinden fazlasını aşmaktadır	6(66,7%)	3(33,3%)	9(100,0%)	0,523
	Myometrial kalınlığın ½'sinden fazlasını aşmamaktadır	1(33,3%)	2(66,7%)	3(100,0%)	
Lenfatik invazyon	Var	4(66,7%)	2(33,3%)	6(100,0%)	1,000
	Yok	3(50,0%)	3(50,0%)	6(100,0%)	
Kan Damarı İnvazyonu	Yok	7(58,3%)	5(41,7%)	12(100,0%)	-*
	Var	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	
Diğer Doku/Organlara Yayılım	Var	3(50,0%)	3(50,0%)	6(100,0%)	1,000
	Yok	4(66,7%)	2(33,3%)	6(100,0%)	

* Kan damarı invazyonu hiçbir olguda mevcut olmadığından bu parametre ilgili istatistiksel analiz yapılmamıştır.

The screenshot displays the Clinical Insight interface for a variant analysis. The top navigation bar includes 'Clinical Insight', 'Variant List', 'Variant Detail', and 'Review & Report'. The patient information section shows 'Accession ID (Test Product Code) 4600-10_AIT on FFPE_DA_20190126_29 (QIAact)', 'Tumor Content 90%', 'Age 71', 'Sex Female', and 'Diagnosis CARCINOSARCOMA'. The variant details for ERBB2 (NM_004448.3) show a c.1963A>G p.R655V gain variant with a somatic frequency of 0% and a population frequency of 25.03% gnomAD (European). The variant is classified as 'Tier 3 Uncertain Significance' for Carcinoma. The variant list below shows two variants: EGFR (c.1562G>A p.R521K, Missense, 42% of 1407 reads, 0% somatic frequency, 53.28% gnomAD (East Asian)) and ERBB2 (c.1963A>G p.R655V, Missense, 42% of 2881 reads, 0% somatic frequency, 25.03% gnomAD (European)). The ERBB2 variant is highlighted with a red box. The status section shows 'To be assessed (9)', 'Assessed', 'Actionability' (Tier 3, Tier 4, Clinical Trials), and 'Pathogenicity' (Uncertain Significance, Benign, Conflicting Criteria).

Şekil 28. ERBB2 mutasyonu içeren karsinosarkom olgusu



EK: Endometrial Karsinom. **SK:** Seröz Karsinom **MK:** Mikst Karsinom.

Şekil 29. ERBB2 mutasyonunun, karsinosarkom olgularının malign epitelyal komponentinin histolojik alt tipine göre pozitiflik ve negatiflik oranları

KARSİNOSARKOM VAKALARINDA PIK3CA GEN MUTASYONU İLE KLİNİKOPATOLOJİK BULGULARIN KARŞILAŞTIRILMASI

Olguların 12'sinden 2'sinde (%16,7) PIK3CA ekzon 2 C.317G>T P.G106V ve ekzon 21 C.3127A>G P.M1043V varyant kodu olan mutasyon saptandı (Şekil 28, 29). Bu mutasyon varyantı QIAGEN Clinical Insight platformunda karsinosarkomlar için patojen sınıfına dahil edildi.

Yaşları 60 yaşın üzerinde olan hastaların 2'sinde (%20,0) PIK3CA mutasyonu mevcut idi. Malign epitelyal komponentinin histolojik alt tipi endometrioid karsinom olan 5 olgudan 1'inde (%20,0), mikst karsinom olan 4 olgudan 1'inde (%25,0) mutasyon saptandı. Mezenkimal komponentte heterolog eleman olan 6 olgudan 1'inde (%16,7) ve heterolog eleman olmayan 6 olgudan 1'inde (%16,7), lenfatik invazyonu olan 6 olgunun 1'inde (%16,7), lenfatik invazyonu olmayan 6 olgunun 1'inde (%16,7), mutasyon saptandı. İnvazyon derinliği myometriyumun yarısından fazlasını aşmakta olan 9 olgudan 2'sinde (%22,2), diğer doku ve organlara yayılımı olan 6 olgudan 2'sinde (%33,3), PIK3CA mutasyonu belirlendi.

PIK3CA gen mutasyonu klinikopatolojik verilerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı.

Tablo 19'da PIK3CA mutasyon durumunun klinikopatolojik parametrelere göre dağılımı gösterilmektedir.

Tablo 19. PIK3CA gen mutasyonunun klinikopatolojik parametreler ile karşılaştırılması

Klinikopatolojik parametre		PIK3CA MUTASYONU		TOPLAM n (%)	p
		NEGATİF n (%)	POZİTİF n (%)		
Yaş	≤60	2(100,0%)	0(0,0%)	2(100,0%)	1,000
	>60	8(80,0%)	2(20,0%)	10(100,0%)	
Epitelyal komponentin alt tipi	Seröz Karsinom	3(100,0%)	0(0,0%)	3(100,0%)	0,657
	Endometrioid Karsinom	4(80,0%)	1(20,0%)	5(100,0%)	
	Mikst Karsinom	3(75,0%)	1(25,0%)	4(100,0%)	
Mezenkimal komponentte heterolog eleman varlığı	Var	5(83,3%)	1(16,7%)	6(100,0%)	1,000
	Yok	5(83,3%)	1(16,7%)	6(100,0%)	
Myometrial invazyon derinliği	Myometrial kalınlığın ½'sinden fazlasını aşmaktadır	7(77,8%)	2(22,2%)	9(100,0%)	1,000
	Myometrial kalınlığın ½'sinden fazlasını aşmamaktadır	3(100,0%)	0(0,0%)	3(100,0%)	
Lenfatik invazyon	Var	5(83,3%)	1(16,7%)	6(100,0%)	1,000
	Yok	5(83,3%)	1(16,7%)	6(100,0%)	
Kan Damarı İnvazyonu	Yok	10(83,3%)	2(16,7%)	12(100,0%)	_*
	Var	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	
Diğer Doku/Organlara Yayılım	Var	4	2	6(100,0%)	0,455
	Yok	6	0	6(100,0%)	

* Kan damarı invazyonu hiçbir olguda mevcut olmadığından bu parametre ilgili istatistiksel analiz yapılmamıştır.

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 8143-11_AIT on FFPE: DA_20190126_21 (QIAact) | Tumor Content: 90% | Age: 81 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinosarcoma | Age of Onset: | Gene Prevalence: 23% | Disease Prevalence: |

Gene: PIK3CA | Variant: c.317G>T p.G106V gain | Somatic Frequency: 0% | Population Frequency: 0% gnomAD | Allele Fraction: 57% (of 18012 reads) | Impact: missense | Computed Classification: Tier 2C Pathogenic Carcinosarcoma

Open | < Previous | Next > | Use Classification | View Bibliography

Sort By: Actionability | View: [Icons]

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency
2C PIK3CA	c.317G>T p.G106V	gain	Missense	57% (of 18012 reads)	0%	0% gnomAD
3 ERBB2	c.1963A>G p.R659V	gain	Missense	80% (of 4559 reads)	0%	25.03% gnomAD (European)

Status: To be assessed (10) Assessed

Actionability: Tier 2C/2D (2C 2D) Tier 3 (3) Tier 4 (4) Clinical Trials

Pathogenicity: Pathogenic Uncertain Significance Benign Conflicting Criteria

Şekil 28. Karsinosarkom olgusunda saptanan Tier sınıflandırmasına göre patojen sınıfa giren PIK3CA gen mutasyonu

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 7425-15_AIT on FFPE_DA_20190126_22 (QIAact) | Tumor Content: 90% | Age: 64 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinosarcoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 23% | Disease Prevalence: -

Gene: **PIK3CA** | Variant: c.3127A>G p.M1043V (gain) | Somatic Frequency: 0.31% | Population Frequency: 0% gnomAD | Allele Fraction: 28% (of 5606 reads) | Impact: missense | Computed Classification: Tier 2C Pathogenic Carcinosarcoma

Open | < Previous | Next > | Use Classification | View Bibliography

Sort By: Actionability | View: [Grid] [List]

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency
2C PIK3CA	c.3127A>G p.M1043V	gain	Missense	28% (of 5606 reads)	0.31%	0% gnomAD
3 EGFR	c.1562G>A p.R521K	gain	Missense	40% (of 841 reads)	0%	53.28% gnomAD (East Asian)
3 EGFR	c.2361G>A p.Q787Q	normal	Synonymous	96% (of 1067 reads)	0%	66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish)
3 ERBB2	c.1963A>G p.R656V	gain	Missense	46% (of 2427 reads)	0%	25.03% gnomAD (European)
3 ERBB2	c.1963_1964delATinsGC p.R656A	loss	Missense	4.88% (of 2461 reads)	-	0% gnomAD
4 KIT	c.1383A>G p.T461T	normal	Synonymous	7.07% (of 7445 reads)	0%	0.58% gnomAD (European)

Status
 To be assessed (16)
 Assessed

Actionability
 Tier 2C/2D (2C 2D)
 Tier 3 (3)
 Tier 4 (4)
 Clinical Trials

Pathogenicity
 Pathogenic (red)
 Uncertain Significance (grey)
 Likely Benign (green)
 Benign (blue)
 Conflicting Criteria (yellow)

Şekil 29. PIK3CA patojenik mutasyonu ve EGFR, ERBB2 patojenitesi önemi belirsiz sınıfına giren mutasyon saptanan karsinosarkom olgusu.

MUTASYON TESPİT EDİLMİYEN GEN NOKTALARI

Çalışmamızda NGS yöntemi ile moleküler inceleme yapılan 12 adet karsinosarkom olgusunun hiçbirinde ALK, BRAF, NRAS, ESRR1, ERBB3, RAF gen noktalarında mutasyon izlenmedi.

TARTIŞMA

Malign Mikst Müllerian tümörler olarak da bilinen karsinosarkomlar oldukça nadirdir ancak bifazik histoloji ile karakterize agresif tümörlerdir. Bu kanserler en sık uterusu ortaya çıkar, bunu overler, tubalar ve vajina izler (12,215). Karsinosarkom tanısı hem sarkomatöz hem de karsinomatöz bileşenlerinin varlığı ile konulur. Her ne kadar karsinosarkomların patogenezi tartışılmaya devam etse de, artan kanıtlar, iki bağımsız progenitörden ziyade sarkomatöz diferansiasyona uğrayan ortak bir epitel hücre kaynaklı kökeni desteklemektedir (7,12).

Karakteristik bifazik histolojinin tümör ilerlemesi sırasında geliştiği ve karsinosarkomların büyük çoğunluğunun monoklonal kökenli olduğuna dair artan klinik, histolojik ve moleküler kanıtlar mevcuttur. Bu, X kromozomu inaktivasyonu, mikrosatellit instabilitesi, heterozigotluk kaybı (LOH), TP53'teki değişiklikler ve KRAS'taki mutasyonlarındaki karsinomatöz ve sarkomatöz bileşenler arasındaki yüksek derecede uyum ile vurgulanmıştır (6,79,126,129,216-218). Bifazik tümör ilerlemesi ile bağlantılı moleküler heterojenite, bilinmeyen terapötik etkilere sahiptir ve yüksek dereceli endometrial karsinomlara kıyasla uterus karsinosarkomunun daha agresif klinik seyri ile ilgili olabilir (219). Bu nedenle histolojik dönüşümden önceki karsinosarkom progresyonunu tetikleyen mekanizmaların anlaşılması, tümörün her iki bileşenini de eşit şekilde hedefleyen rasyonel terapötik stratejilerin geliştirilebilmesi için oldukça önemlidir. Daha etkili bir tedavi geliştirmek için, bu tümörleri yönlendiren moleküler yolları daha iyi anlamak oldukça önemlidir (220). Karsinosarkomlarda moleküler profillerin belirlenmesi ve bu moleküler profillerin potansiyel terapötik hedefler veya prognostik belirteçler olarak tanımlanması olasılığını keşfeden hem immunohistokimyasal yöntem hem de moleküler yöntemleri de içine katan çok sayıda araştırma ve rapor mevcuttur ve terapötik ajanların araştırılması için yeni stratejiler geliştirilmiştir

(121,220,221). Bu anlamda gerçekleştirdiğimiz çalışmamızda da, uterin karsinosarkomlarda yeni nesil dizileme (NGS) yöntemi ile 12 farklı gen noktası (EGFR, ERBB2, KRAS, PIK3CA, C-KİT, PDGFRA, NRAS, RAF1, ESR1, ERBB3, BRAF ALK) değerlendirildi. Değerlendirilen bu genlerin 12 tanesinden 6 tanesinde (EGFR, ERBB2, KRAS, PIK3CA, C-KİT, PDGFRA) varyasyon saptandı, saptanan bu varyasyonlar da olguların; yaş, epitelyal komponentinin histolojik alt tipi, mezenkimal komponentinde heterolog eleman, lenfatik ve kan damarı invazyonu, diğer doku/organlara yayılım olup olmadığı gibi klinikopatolojik parametreler ile karşılaştırıldı. Çalışmamızın en dikkat çeken sonuçları ise şöyle özetlenebilir:

- i) Actionable insights tümör gen panelinden, 6 gen noktasında 10 farklı varyant halinde izlenen mutasyonların tümörlerde izlenen; bazı vakalarda birden fazla gen mutasyonu ve/veya birden fazla gen mutasyonu varyantı saptanması gibi heterojen nitelikteki sonuçların bu tümörlerin heterojen moleküler özelliklerini destekleyebileceği düşünüldü.
- ii) Olgularda tek bir gendeki mutasyon 3 olguda gözlenirken, geri kalan 9 olguda 2 ve 3 gen içeren senkron mutasyonlar kaydedildi. Senkron mutasyonlar da incelendiğinde farklı tirozin kinaz reseptörü gen mutasyonu içeren 5 olgu ve hem tirozin kinaz reseptör gen mutasyonu hem de tirozin kinaz reseptör yolaklarının alt noktalarında yer alan proteinlerin mutasyonunu içeren 4 olgu saptandı. Bu durumun da tümörlerin, farklı sinyalizasyon yolaklarını ve bu yolaklarda farklı noktaları (PI3K / AKT / MTOR ve RAS / RAF / MAPK yolakları) etkileyen mutasyonlar içerebiliyor olduğunu ve bunun da bu tümörlerin fenotipik özelliği olan heterojenitesinin sebebi olabileceği düşünüldü.
- iii) PDGFRA gen mutasyonu durumu ile heterolog eleman varlığı, lenfatik invazyon ve tümörün myometrial invazyon derinliği ile karşılaştırıldığında; sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmamakla birlikte bu mutasyonun bu parametreler ile ilişkili olabileceği saptandı.
- iv) EGFR gen mutasyonu 2 farklı varyant halinde olguların çoğunda mevcut olup en sık görülen mutasyon idi.
- v) İkinci sıklıkta görülen ERBB2 mutasyonunu taşıyan olguların çoğunda da senkron mutasyon olarak EGFR mutasyonu izlendi. İkisi de tirozin kinaz reseptörü olan EGFR ve ERBB2 gen mutasyonunun çalışmamızda sıklıkla birlikte görülmüş olması da, bu tümörlerde hedefe yönelik tedavi planlamasında göz önünde bulundurulması gereken özelliklerden biri olarak değerlendirildi.
- vi) KRAS gen mutasyonu yalnızca 2 olguda görülmüş olsa da, bu olguların ikisinin de malign epitelyal komponenti mikst karsinom olup mezenkimal komponentinde

heterolog eleman mevcut idi. Bu parametreler ve KRAS gen mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmasa da daha geniş vaka serileri ile yapılacak çalışmalarla desteklenebileceği sonucuna varıldı.

Çalışmamıza dahil olan karsinosarkom olgularında median yaş 69,5 olarak saptanarak, en sık görülme yaşı bu anlamda literatür ile uyumlu olarak değerlendirildi (26).

Olguların malign epitelyal komponentinin histolojik alt tipi çoğunlukla endometrioid karsinom idi (%41,7), bunu sıklık olarak, seröz/endometrioid/berrak hücreli karsinomu içeren mikst karsinom (%33,3) izliyordu; seröz karsinom ise %25 oranında saptandı. Bu bulgular da, karsinom komponentinin sıklıkla endometrioid karsinom, seröz veya berrak hücreli karsinom olarak özetlendiği literatürlerle uyumlu olarak değerlendirildi (4,26,51).

Malign mezenkimal komponentinde heterolog eleman izlenen 6 olgunun 2'sinde (%33,3) sadece rabdoid diferansiasyon mevcut idi ve 2 olguda (%33,3) sadece kondrosarkom komponenti mevcut iken 2 olguda da (%33,3) hem rabdoid hem de kondroid diferansiasyon aynı anda saptandı. Heterolog eleman içermeyen olguların malign mezenkimal komponenti de çoğunlukla endometrial stromal sarkom, leiomyosarkom, malign fibröz histiyositom olarak izlendi. Bu bulgularla ilgili literatür bilgileri ile karşılaştırıldığında homolog komponent içeren olgularda histolojik alt tiplerde ve sıklıklarında uyumsuzluk gözlenmemiştir, ayrıca heterolog eleman mevcut olduğunda en sık; rabdomyosarkom ve kondrosarkom ile karşılaşıldığının bilgisini elde ettiğimiz literatürler ile uyumlu olarak değerlendirildi (4, 78, 84, 97).

Olguların lenfatik damar ve kan damarı invazyonu, myometrial invazyon derinliği ve diğer doku/organlara yayılımı incelendiğinde ise; lenfatik damar invazyonu olguların yarısında mevcutken, ilginç olarak kan damarı invazyonu hiçbir olguda mevcut değildi. Myometrial invazyon derinliği, bu tümör grubunun agresifliği ile uyumlu olarak olguların %75'inde myometrial kalınlığın yarısından fazlasını aşmakta idi. Diğer doku ve organlara yayılım da olguların yarısında görüldü. Kan damarı invazyonun olmayışının ise çalışmaya dahil edilen olguların bazılarının erken evrede tanı alarak, erken dönemde opere olması ile açıklanabileceği düşünüldü. Ekstrauterin yayılım ve / veya lenfovasküler invazyon ile birlikte derin myometrial invazyonun sağkalımın bağımsız belirleyicileri olduğu, birçok farklı kaynakta belirtilmektedir (98-104). Bu prognostik belirteçlerle ilgili bulgularımız hastaların prognozu ile karşılaştırılmamış olsa da bu tümörlerin yüksek dereceli endometrial karsinoma benzer bir yayılma paterni olduğuna dair literatür bilgileri (95, 98) ile bulgularımız karşılaştırıldığında, hastaların yarısında lenfatik invazyon ve çoğunda myometrial invazyon görülmesi nedeniyle bu kaynaklardan elde edilen bilgiler ile bulgularımızın uyumsuzluk göstermediği sonucuna varılmıştır.

Bu tümörlerde, tümörlerin moleküler özellikleri ile ilgili ulaşabildiğimiz literatürde, yeni nesil dizileme yöntemiyle yapılan moleküler analiz çalışması azdır. Ancak farklı çalışmalarda birden fazla geni hedefleyen çalışmalar mevcuttur (9-11,172,222). Kanthan ve ark. (220) tarafından yayınlanan, 2000-2011 yılları arasında karsinosarkomlar ile ilgili yapılan tüm çalışmaların incelenip derlendiği çalışmada, özellikle HER-2, EGFR ve KIT gibi tirozin kinaz reseptörlerinin aşırı ekspresyonunun öne çıkmış olduğu, bu tirozin kinaz reseptörlerinin karsinosarkomun alt gruplarında terapötik kullanım için potansiyel hedefleri ortaya koyabileceği vurgulanmıştır. (11,118,172,223). Bizim çalışmamızda da, bu derlemede bahsedilen bu 3 gen noktasında; EGFR gen noktası için TIER sınıflandırmasında önemi belirsiz sınıfa giren 2 farklı varyant, ERBB2 gen noktası için TIER sınıflandırmasında önemi belirsiz sınıfa giren tek varyant ve C-KIT gen noktası için de aynı sınıflandırmada biri patojenik sınıfa, diğeri önemi belirsiz sınıfa giren 2 farklı varyant halinde mutasyonlar saptandı. Çalışmamızda ERBB2 v EGFR gen noktalarında görülen mutasyonlar için kesin patojenik varyant tanımlanmadı. Etkilenen gen lokalizasyonları daha önceki çalışmalar ile benzer olmasına rağmen patojenik varyant tanımlanamamış olmasının muhtemel sebepleri, vaka serimizin küçük olması ve kullanılan biyoinformatik sistemi içerisinde bu genler ile ilgili NGS gibi anahtar kelimeleri içeren çalışmaların az olması olabilir. Bu nedenle büyük vaka serileri içeren gelecekteki çalışmaların gerçekleştirilmesi ve bu konu ile ilgili veri akümüülasyonunun artmasıyla bu genlerdeki varyasyonların önemi daha iyi ortaya koyulabilir.

Tirozin kinaz reseptörü olan EGFR, PI3K / AKT / MTOR ve RAS / RAF / MAPK yollarının aktivasyonu ile gerçekleşen hücre büyümesi ve farklılaşmasında rol oynayan bir onkogendir. Amplifikasyon, fonksiyon kazancına sebep olan mutasyonlar ve aşırı protein ekspresyonu EGFR aktivasyonuna neden olur (167). EGFR mutasyonlarının, küçük hücreli dışı akciğer kanserinde ALK ve KRAS mutasyonları ile birlikte önemli bir yeri olduğu bildirilmektedir (224-226). Çalışmamızda da 12 karsinosarkom olgumuzun 11'inde (%91,7) 2 farklı varyanta sahip ekzon 20 (C.2361 p.Q787q) ve ekzon 13 (C.1562 p.R521K) EGFR mutasyonu saptandı. Bu varyantlarda EGFR mutasyonu taşıyan, ileri evre, metastatik, solid, tümörlerde, hedefe yönelik tedavi ajanı olarak kullanılan EGFR inhibitörlerinin kullanılarak yapıldığı klinik araştırma çalışmaları mevcuttur (227,228). Özellikle EGFR tirozin kinaz inhibitörleri (TKI'ler), gefitinib ve erlotinib ile tedavi, KHDAK'li hasta alt grubunda dramatik antitümör aktivitesi ile sonuçlanmaktadır (229).

Karsinosarkom hastalarında EGFR mutasyonu ile ilgili yapılan çalışmalardan biri olan Swisher ve ark. (223) yaptığı bir çalışmada 20 karsinosarkom olgusunda İHK'sal yöntem ile EGFR ekspresyonu incelenmiş olup bu çalışmada EGFR aşırı ekspresyonu, 20 olgunun 9'unda

(%35) saptanmış, EGFR ekspresyon sıklığının sarkomatöz alanda, karsinomatöz alandan önemli derecede daha sık olduğu sonucuna varılmıştır (P = 0.03). Bizim çalışmamızda da, KS'larda en sık izlenen varyasyon EGFR genindeki değişikliklerdi. Ancak, NGS yönteminde izole edilen DNA hem karsinomatöz hem de sarkomatöz alanı içerdiği için bu ayrımın yapılması mümkün olmadığından Swisher ve ark. (223) bulgularıyla bu anlamda karşılaştırma yapılamadı. Ayrıca NGS yöntemiyle, protein ürününün gösterilebildiği immunohistokimyasal yöntemden farklı olarak EGFR'daki translasyon öncesi basamaklardaki ve noktalardaki (birden fazla kodon, ekzon gibi) farklı değişikliklerin de değerlendirilebilmesi, mutasyon saptanma olasılığını kat be kat artmaktadır.

Livasy ve ark. (118) yaptığı 55 karsinosarkom olgusu içeren, bu olguların, İHK ve FISH yöntemiyle hem EGFR ekspresyonuna hem de HER2 ekspresyon/amplifikasyon durumuna bakıldığı çalışmada, EGFR ekspresyonu, tümörlerin çoğunda (%82) tanımlanmış olup, çalışmamızla benzer nitelikte olarak değerlendirilmiştir. HER2 aşırı ekspresyonu, %25 vakada, HER2 gen amplifikasyonu %20 oranında görülmüştür. Bu bulgular çalışmamızda %45,5 oranında saptadığımız HER 2 gen mutasyonu oranı ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir. Aynı çalışmada EGFR ekspresyonu ve HER2 gen amplifikasyonu, hastalık progresyonu, hastaliksız veya genel sağkalım ile anlamlı bir korelasyon göstermemiştir. Çalışma sonucunda da EGFR ve HER2'inin, endometrial karsinosarkomların kanserogenezinde rol oynuyor olabileceği ve bu tümörlerde HER2 veya EGFR hedefli tedavinin klinik faydasını değerlendiren çalışmalarla desteklenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Çalışmamızın sonuçları da bu bulguları destekler nitelikte olup KS'larda birden fazla reseptör ve sinyalizasyon yolağının aktif olabileceğini dolayısıyla bu değişikliklerin tümorenezin hangi evresinde ortaya çıktığının dokumante edilebildiği çalışmaların faydalı olabileceğini akla getirmektedir. Ayrıca, bu tümörler için hedefe yönelik tedavi çalışmalarında da birden fazla yolağın aktif olabileceği bilgisinin göz önünde tutulması ve bu anlamda çalışmalar yapılması bu tümörlerin klinik yönetiminde katkı sağlayabilir.

Sawada ve ark. (172) yaptığı çalışmada 16 adet karsinosarkom tanısı almış rezeksiyon olgusu incelenmiş, İHK ve FISH yöntemi ile EGFR, KIT ve HER-2 ekspresyonu araştırılmış olup, olguların epitelyal komponentinde KIT, EGFR ve HER-2'nin artmış ekspresyon oranları epitelyal ve mezenkimal komponente göre verilmiştir. Epitelyal komponentte KIT, EGFR ve HER-2 sırasıyla %25, %31, ve %56 olguda tespit edilmişken, mezenkimal bileşende bu artmış ekspresyon sırasıyla %38, %50 ve %6 vakada tespit edilmiştir. Kromozomların yapısal ve / veya sayısal değişikliklerinin, bu tümör tipinde EGFR ve / veya HER-2 aşırı ekspresyonunda kısmen yer alabileceği sonucuna varılmıştır. Çalışmamızda 11/12 olguda (%91,7) oranında

ekzon 13 ve ekzon 20 'de EGFR mutasyonu, 5/11 olguda (%41,7) ERBB2 mutasyonu tespit etmemiz ise bu çalışmanın, ileride yapılacak çalışmalarla ilgili olan öngörüsünü destekler niteliktedir. Ancak, epitelyal ve mezenkimal komponentteki değişiklikler ayrı ayrı tanımlanamamaktadır. Dolayısıyla, tümör komponentlerinin ayrı ayrı değerlendirildiği NGS ile yapılacak olan çalışmalar bu konuda katkı sunabilir.

Cimbaluk ve ark. (117) yaptığı çalışmada uterin korpusta yerleşim gösteren karsinosarkom tanısı almış 30 rezeksiyon olgusuna monoklonal HER-2, VEGF, c-KIT, COX-2 ve EGFR uygulanmış olup, EGFR ekspresyonu epitelyal komponentte 30% olguda, mezenkimal komponentte ise 67% oranında saptanmış ve EGFR ekspresyonunun epitelyal ve mezenkimal komponentte farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Aynı çalışma sonucunda VEGF, COX-2 ve EGFR'yi içeren hedefe yönelik tedavinin araştırılması gerektiğini, çünkü bu proteinlerin uterin karsinosarkomlarda eksprese edildiğini ve HER-2 ve C-KIT'in ise, uterin karsinosarkomlar için zayıf terapötik hedefler olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda saptadığımız EGFR mutasyonlarının NGS yöntemi ile epitelyal ve mezenkimal komponent ayrımı yapılmadı; fakat çalışmamızdaki EGFR gen mutasyon analiz sonuçları bu çalışmayı destekler nitelikte saptandı.

Biscuola ve ark. (10) yaptığı çalışmada, 76 endometrial KS'un 54'ünde (%71) güçlü ve yaygın EGFR ekspresyonu ve 2 vakada ekzon 15 EGFR mutasyonu, %14.5 oranında EGFR amplifikasyonu bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise EGFR gen noktasında ekzon 13 ve ekzon 20 mutasyonu saptanmıştır.

Saglam ve ark. (222) ise EGFR immunohistokimyasal boyama ile yaptıkları çalışmada EGFR immünekspresyonunu 21/37 olguda pozitif saptayarak bizim çalışmamızdan farklı olarak anlamlı bulmadıklarını bildirmektedirler. Yazarlar, farklı EGFR ekspresyon oranlarının; vaka sayısının değişken olması, kullanılan inceleme yönteminin farklılığı, İHK'sal boyama yöntemi ile EGFR aşırı ekspresyonu araştırıldığında monoklonal antikor kullanılması ve kullanılan klonun farklılık göstermesi, söz konusu FISH çalışmalarında sadece amplifikasyon durumunun gösterilebilmesi ve bu tümör çeşidinin oldukça heterojen niteliği nedeniyle ortaya çıkmış olabileceği ile ilişkili olabileceğini ifade etmektedirler. Tüm bu bulgular ile, farklı yöntemleri içeren, genom, transkripton ve protein düzeyinde yapılacak olan geniş olgu serilerindeki çalışmalar bu gendeki değişiklikleri ve bu tümörlerdeki önemi ile ilgili daha fazla bilgi edinilmesini sağlayabilir.

Çalışmamızda ekzon 13 ve ekzon 20 EGFR mutasyonunu karsinosarkom vakalarının %91,7'sinde saptayarak bu mutasyonun olgularımızda anlamlı bir yere sahip olduğu sonucunu elde ettik. Saptanan varyantların da dağılımına bakıldığında ekzon 20 mutasyonu %45,5, ekzon

13 mutasyonu %9, iki mutasyon varyantının bir arada görülmesi ise %45,5 oranında saptandı. Bu durum da mutasyonların tekrarlayan ve aynı noktalarda meydana gelen mutasyonlar olabileceğini ifade edebilir. Bu tekrarlayan mutasyon varyantları, ilgili literatürler detaylıca incelenerek tarandığında, konu ile ilgili yapılan çalışmalarda bu mutasyon varyantlarına rastlanmadığı görüldü. Diğer taraftan, EGFR gen mutasyonu ile klinikopatolojik verilerimizi karşılaştırdığımızda ise; istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır. Ancak, bu veriler ışığında, geniş vaka gruplarında, birden fazla yöntemi içeren klinikopatolojik çalışmalar EGFR gen varyasyonlarının KS'lardaki klinik bulgulara etkisini ve hedefe yönelik tedavi için önemlerini açıklayabilir.

ERBB2 (HER 2) de EGFR gibi bir tirozin kinaz reseptörü olup, epidermal büyüme faktörü reseptör kinaz ailesindedir ve hücre büyümesi ve farklılaşmasında rol oynayan bir onkogendir (230). HER2 aşırı ekspresyonu meme kanseri tanılı olguların %30'unda saptanmakla birlikte over, mide, mesane, tükürük bezi, akciğer karsinomunu içeren diğer, çok sayıda kanser tipinde de görülebilmektedir (231,232). HER2 aşırı ekspresyonu genellikle daha kısa sürede relaps, daha agresif tümör fenotipi, daha kötü prognoz ile ilişkilidir. HER2 gen amplifikasyonu saptanan hastalarda kullanılan Trastuzumab HER2 reseptörünün hücre yüzeyindeki epitopuna karşı geliştirilmiş monoklonal antikordur (233). Trastuzumab, ErbB2 hedefleme tedavilerinin mükemmel bir örneğini temsil etmektedir ve kemoterapötik kombinasyon ile birlikte verildiğinde dikkat çekici terapötik etkinlik göstermektedir (232). Çalışmamızda ERBB2 (HER 2) gen mutasyonu, 12 olgunun 5'inde (%41,7) oranında saptanmış olup C.1963A>G p.I655V varyant koduyla TIER sınıflamasında patojenitesi önemi belirsiz kategorisinde değerlendirilmiştir. Solid, metastatik ve ileri evre, HER-2 mutasyonu/amplifikasyonu taşıyan tümörlerde pan-HER inhibitörlerinin denendiği, halen devam etmekte olan klinik çalışmalar mevcuttur (242).

Karsinosarkomlarda HER2 ve EGFR'ın ekspresyon durumunu / amplifikasyonu / mutasyonunu birlikte araştıran çalışmalar mevcuttur (118,222). Çalışmamızda da ERBB2 mutasyonu saptanan 5 olgunun 4'ünde aynı zamanda EGFR mutasyonu tespit edildi. İkisi de tirozin kinaz reseptörü olan bu gen noktalarının karsinosarkomların patogeneziinde aynı anda yer alabileceği, EGFR ve ERBB2 gen mutasyonunun çalışmamızda sıklıkla birlikte görülmüş olması da, bu tümörlerde hedefe yönelik tedavi planlamasında göz önünde bulundurulması gereken özelliklerden biri olarak değerlendirilmiştir.

Birçok grup uterin karsinosarkomlarda HER2 ekspresyon seviyelerini araştırmıştır. Raspollini ve ark. (11) immünohistokimya ile test edilen 24 karsinosarkom vakasının 7'sinde HER2 aşırı ekspresyonunu bildirmektedirler (%29.2). Sawada ve ark. (172) ve Amant ve ark.

(234) aynı zamanda KS'lerde daha yüksek HER2 aşırı ekspresyonu tanımlamışlardır, yani immünohistokimya ile hem 2 hem de 3+ pozitifliği dikkate alındığında sırasıyla 16 vakanın dokuzu (% 56) ve yedi vakanın üçü'nde (%43) pozitiflik saptanmıştır. Son olarak, Livasy ve ark. (118) karsinosakom olgularının %25'ine (14/55 vaka) immünohistokimya ile 3+ seviyelerinde HER2 ekspresyonu bildirmişlerdir. Bu çalışma sonuçları ve bu bahsedilen çalışmalar karşılaştırıldığına çalışmamızın sonucunda elde ettiğimiz %41,7 (5/12 vaka) oranındaki ERBB2 gen mutasyon varlığı, olgu sayılarımızın farklılığı da göz önüne alınarak değerlendirildiğinde, bahsi geçen çalışmaların sonuçlarının ortalama değerleri ile benzer niteliktedir. Livasy ve ark. (118) tarafından yapılan çalışmada hem EGFR hem de HER2 'nin, endometrial KS'ların kanserogenezinde rol oynadığı sonucuna varıldığından bahsedilmiştir. Amant ve ark. (234) tarafından yapılan uterin sarkomlarda EGFR aşırı ekspresyonun ve amplifikasyonun araştırıldığı çalışmada gen amplifikasyonu uterin KS'ların %14'ünde görülmüş ve ERBB-2 geninin uterin karsinosarkomda biyolojik rolü olabileceği sonucuna varılmıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz %41,7 oranında ERBB2 gen mutasyonu varlığı da, KS'ların kanserogenezinde ERBB2 geni alterasyonlarının yer alabileceğini desteklemektedir.

Nicoletti ve ark. (235) yaptığı çalışmada 8 adet primer over ve uterus karsinosarkomdan elde edilen ksenograftların verildiği farelere HER-2 inhibitörü tedavisi verilmiştir. Her ikisi de HER-2 tirozin kinaz inhibitörü olan Trastuzumab emtansine ve Trastuzumab'ın karşılaştırıldığı çalışmada Trastuzumab emtansine KS tedavisinde daha etkin bulunmuştur. Trastuzumab emtansine'in kemoterapiye dirençli hastalığı olan HER-2 pozitif KS hastalarının alt kümesi için yeni bir tedavi seçeneğini temsil edebileceği sonucuna varılmıştır. Schwab ve ark. (236) ve Nicoletti ve ark. (235) yaptığı bu iki çalışma sonuçlarına göre, HER-2 inhibitörlerinin, HER-2 aşırı ekprese eden/amplifiye/mutant KS olgularında tedavi için iyi bir potansiyel oluşturdukları görülmekte olup, bu konuyla ilgili KS olgularında hem HER-2 gen mutasyon durumunu araştıran hem de HER-2 inhibitör tedavilerinin bu tümör grubunda etkisini gösteren daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

Schwab ve ark. (236) yaptığı HER-2 amplifiye karsinosarkomların tedavisinde, küçük bir oral tirozin kinaz inhibitörü olan neratinibin etkinliğini, in vitro ve in vivo olarak belirlemeyi amaçlayan, HER-2 amplifiye karsinosarkom ksenograftlarını barındıran farelerin tedavisinde neratinib kullanılarak yapılan çalışmada, HER-2 amplifiye karsinosarkom proliferasyonunu, sinyallerinin, hücre döngüsü ilerlemesini ve in vitro tümör büyümesini inhibe ettiği ve HER-2 amplifiye ksenograft büyümesini inhibe ederek genel hayatta kalma süresini arttırdığı sonucuna varılmıştır. Sonuçlarımızda elde ettiğimiz %41,7 oranında ERBB2 gen mutasyonu ise, bu

tirozin kinazin, karsinosarkomlarda hedefe yönelik tedavi için potansiyel bir hedef olabileceğini ve bunun da daha fazla klinik çalışma ile desteklenmesi gerektiği sonucunu doğurmuştur.

Vitale ve ark. (3) tarafından 1952-2016 yılları arasında yapılmış, karsinosarkomlarla ilgili hedefe yönelik en son tedaviler ile ilgili mevcut bulguları içeren çalışmaları kapsayan ve geleceğe yönelik perspektifler elde etmek amacıyla bir derleme çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada HER2 onkogeninin, kadın genital sistemin KS'ünü içeren çeşitli tümör tiplerinde aşırı eksprese edildiği ve / veya amplifiye olduğunu bildiren çalışmalardan (11,172,237-239) bahsedilmektedir. Bu derlemede, HER2'i aşırı eksprese eden kanserler, non-amplifiye HER2 ile karşılaştırıldığında, hastalığın erken evrelerinde daha yüksek bir ölüm oranı, kısa nüksleme süresi ve yüksek metastaz insidansı gibi özellikler nedeniyle kötü prognoz ile bağlantılı olduğunu bildiren çalışmalardan bahsetmektedir (117,240). Çalışmamızda elde ettiğimiz ERBB2 gen mutasyon durumu ile klinikopatolojik parametreler arasında istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır. HER2'nin hedefe yönelik tedavi alanında yeni olanaklar ortaya koyduğu sonucu ise derleme çalışmasının can alıcı noktalarından biridir. Çalışmamızda gösterdiğimiz ERBB2 gen mutasyonunun, olguların neredeyse yarısında saptanmasının ve bu gen mutasyonunun da tek varyant halinde görülmesinin anlamlılığının ve hedefe yönelik tedavi alanlarında potansiyel bir hedef olabilmesi ile ilgili, daha geniş vaka serileri ile mutasyon analiz çalışmaları yapılması gerektiği düşünülmüştür.

Bilinen kanser genlerinin, yeni nesil hedefli dizilim yöntemini (NGS) uterus karsinosarkomuna uygulayarak yakın zamanda, karsinosarkomların monoklonal ilişkileriyle uyumlu olarak eşleşmiş karsinom ve sarkom komponentleri arasında paylaşılan mutasyon profilleri gösterilmiştir (9,241). Bunlar arasında PI3K yolunu aktive eden ve PIK3CA'da tekrarlayan değişiklikler tespit edilmiştir (9, 10).

PIK3CA, PI3K / AKT / MTOR yolunun aktivasyonu aracılığıyla hücre büyümesi, apoptoz, transformasyon, motilite ve adezyonda rol oynayan bir onkogendir (242). PIK3CA ile ilgili, bu genin mutasyonun taşıyan ileri evre, metastatik tümörlerde bu geni hedefleyen ajanlar ile yapılan klinik araştırma çalışmaları mevcuttur (243). PI3K'nın p110a katalitik alt birimini kodlayan PIK3CA genindeki mutasyonlar, ağırlıklı olarak ekzon 9 ve 20'de bulunur. Bu değişiklikler, seröz karsinomların %15'inde ve endometrioid endometrial karsinomların %24-40'ında bildirilmiştir (10,242).

Biscuola ve ark. (10) yaptığı çalışmada 76 adet karsinosarkom olgusunda, FISH yöntemi ile EGFR amplifikasyonu ve ALK incelemesi, immunohistokimyasal yöntem ile HER2 ve C-KIT ekspresyonu araştırılması yapılmıştır. Bu çalışmada 34 hastaya aynı zamanda, AKT-1, AKT-2, BRAF, EGFR, ERBB2, KIT, MET, PDGFRA, PIK3CA, H-RAS, K-RAS, NRAS gibi

sık görülen genleri içeren 19 adet gen noktası bulunan gen paneli ile NGS yöntemi uygulanmıştır. Karsinosarkomlarda onkogen değişimlerinin araştırıldığı bu çalışmada KS'ların %44'ünde 9 farklı onkogende 23 mutasyon bulunmuş olup; bu mutasyonlardan PI3K / AKT yolağı, tümörlerin %32'sinde (6 mutasyon PIK3CA ve 1 mutasyon AKT1 de görülmüştür) mevcut olan en yaygın değişmiş yolak olarak saptanmıştır (10). %17 oranında saptanan PIK3CA mutasyonu dağılımına bakıldığında; 3 olgu ekzon 9'da; 2 olgu, ekzon 20'de ve 1 olgu da ekzon 1'de mutasyon göstermiştir. Bizim çalışmamızda ise %16,7 oranında saptadığımız PIK3CA mutasyonlarına bakıldığında 1 olguda ekzon 2; 1 olguda da ekzon 21 mutasyonu izlenmiştir. PIK3CA geninde ağırlıklı olarak gösterildiği bildirilen (244) ekzon 19 ve ekzon 20'de mutasyon saptanmamıştır. Bicuola ve ark. (10) tarafından yapılan çalışmadan önce yapılan 2 çalışmada daha PIK3CA mutasyonları analiz edilmiştir. Growdon ve ark. (245) değerlendirilen 31 endometrial KS'da genotiplendirme çalışmasında 10 (%32) PIK3CA mutasyonu bulmuşlardır. Ek olarak, Murray ve ark. (246), 18 endometrial KS'da yapılan mutasyonel analiz çalışmasında toplam 2 (%11) PIK3CA mutasyonu bulmuşlardır. Biscuola ve ark. (10) yaptığı çalışmadan sonra Bashir ve ark. (247) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, 20 karsinosarkom vakasında %15 oranında PIK3CA mutasyonu ekzon 20 ve ekzon 6'da saptanmış olup, bu mutasyonlar PCR yöntemi ile gösterilmiştir.

PIK3CA gen mutasyonunun karsinosarkomlardaki durumu ile ilgili yapılan çalışmalardan biri olan McConechy ve ark. (9) yaptığı 30 uterin karsinosarkom olgusunda NGS yöntemi ile 27 farklı uterin sarkom ve karsinom gen noktasının araştırıldığı ve immunohistokimyasal çalışmanın da kullanıldığı çalışmada ise karsinosarkom vakalarında PI3K sinyal yolağı, en sık mutasyon tespit edilen sinyal yolağı olmuştur. Bunun sebebi ise en sık PIK3CA mutasyonunun 12/30 (40%) ve PTEN mutasyonunun 8/30 (27%) olguda saptanmış olmalarıdır. PIK3CA gen mutasyonları yukarıda bahsedilen daha önceki çalışmaların (245, 247) aksine klasik mutasyon noktaları olan ekzon 9 ve ekzon 20'de saptanmıştır. Aynı çalışmada PI3K yolu mutasyonlarının karsinosarkomun tümörojenezinde nispeten erken meydana geldiğini ve muhtemelen PIK3CA / mTOR inhibitörleri ile hedeflenebilecek önemli onkogenik sürücü olayları temsil ettiği sonucuna varılmıştır. Zhao ve ark. (12) yaptığı 44 uterin, 24 ovaryan KS olgusu içeren mutasyonel analiz çalışmasında, PIK3CA gen mutasyonu saptayarak, elde ettikleri bu sonuçların, bu sinyal yolağını hedefleyen tedavilerin olasılığını arttırdığını vurgulamıştır. Bizim çalışmamızda da %16,7 oranında PIK3CA gen mutasyonu tespit edilmiştir. 2 olguda saptanan PIK3CA mutasyonu 2 farklı varyant halinde idi ve bu varyantlar TIER sınıflandırmasına göre patojenik olarak değerlendirildi. Bununla ilgili daha önce yapılan çalışmalarlar birlikte incelendiğinde; PIK3CA'nın endometrial karsinomlar için

gösterildiği gibi endometrial KS'da da en sık mutasyona uğramış onkogenlerden biri olabileceği düşünüldü. Bu konuyla ilgili daha geniş vaka serilerini içeren çalışmalarla PIK3CA mutasyonlarının bu nadir tümör tipinde daha fazla çalışılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

C-KİT, RAS / RAF / MAPK ve PI3K / AKT / MTOR yollarının aktivasyonu ile hücre çoğalması ve hayatta kalmasında rol oynayan onkogendir (248). C-KİT mutasyonları GIST (Gastrointestinal tümör) ve hematolojik proliferatif malignitelerde bildirilmiştir. Imatinib (STI-571) gibi tirozin kinaz inhibitörlerinin kullanılması, KIT-pozitif hematolojik neoplazmalar ve GIST'in başarılı bir şekilde tedavi edilmesiyle sonuçlanmıştır (249). Karsinosarkomdaki C-KİT ekspresyonunu kapsayan ve daha önce yapılan kısıtlı sayıdaki çalışmalarda birbirleriyle uyumsuz sonuçlar elde edilmiştir. Kaygusuz ve ark. (250) tarafından yapılan uterin karsinosarkomlarda immunohistokimyasal olarak C-KIT ekspresyonunun değerlendirilmesi çalışmasında karsinosarkom tanısı almış 20 uterus rezeksiyon materyalinde İHK'sal yöntemle C-KİT ekspresyonu değerlendirilmiş, 10/20 olguda hafif şiddette boyanma saptanarak, C-KİT bu tümörlerin karsinogenezinde muhtemelen major bir rol oynamadığını destekler nitelikte sonuçlara ulaşılmıştır (250). Winter ve ark. (251) tarafından 21 KS olgusunda poliklonal C-KİT reseptörü kullanılarak yapılan İHK'sal çalışmada %43 oranında ekspresyon izlenmiştir. Raspollini ve ark. (11) yaptığı bir çalışmada, 24 uterin karsinosarkom tanısı almış hastada C-KİT ekspresyonu araştırılmış olup, sadece 4 hastada C-KİT ekspresyonu tespit edilmiş olup anlamsız olarak değerlendirilmiştir. Menczer ve ark. (249) tarafından yapılan İHK'sal yöntem ile 20 uterin KS olgusunda C-KİT ekspresyonu araştırılması çalışmasında ise 9/20 olguda sadece epitelyal komponentte ekspresyon görülmüştür. Bicuola ve ark. (10) yaptığı çalışmada 76 KS olgusunda 1 olguda ilk kez C-KİT mutasyonu saptandığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise C-KİT mutasyonu yalnızca 1 hastada (%8,3) 2 varyant halinde tespit edilmiştir. Bu varyantlardan biri (ekzon 17) KS için patojenik sınıfına girerken, diğer varyant (ekzon 10) önemi belirsiz sınıfında dahil olmuştur. Uterus karsinosarkomlarının C-KİT eksprese ettiğini gösteren kanıtlar bazı çalışmalarda sağlanmış olsa da, bununla birlikte, C-KİT inhibitörü kompetatif bir tirozin kinaz inhibitörü olan STI571'i (imatinib) (11) kullanan yenilikçi hedefe yönelik tedaviler için bu belirteci kullanma olasılığının kanıtlanması gerekmektedir. Ayrıca ekspresyon sıklığı, prognostik ve klinik değer ile ilgili tartışmalı konuları çözmek için daha geniş karsinosarkom serilerinde C-KİT ekspresyonu/mutasyonu ile ilgili ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Bir protoonkogen olan KRAS, RAS / MAPK sinyal yolağında EGFR sinyal kaskadının aşağısında yer alan bir G proteindir (252). KRAS mutasyonları; KHDAK, kolorektal ve pankreas kanserlerinde bildirilmiştir (148,149). Wada ve ark. (129) yaptığı 25 KS olgusunda,

K-RAS mutasyonlarına PCR yöntemi ile bakılan çalışmada, K-RAS gen mutasyonu %24 oranında saptanmış olup, bunun sonucunda, K-RAS gen mutasyonunun muhtemelen tümörlerin bifazik farklılaşmasından önce erken bir olay olarak ortaya çıktığı düşünülmüştür. Growdon ve ark. (245) tarafından yapılan primer jinekolojik karsinosarkomlarda 14 kanser geninin araştırıldığı genotiplendirme çalışmasında, jinekolojik karsinosarkomdaki spesifik gen noktaları değerlendirilmesinde, KRAS (%15) ve NRAS (%2) genlerinde mutasyonlar ortaya çıkmış olup, bu da, özellikle uterin karsinosarkomlardaki KRAS mutasyonlarının eşit histolojik dağılımına dair Wada ve ark. (129) tarafından yapılan çalışmanın sonuçları ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir. İlginç bir şekilde, PI3K / AKT / MTOR yolu (PIK3CA) ve / veya MAPK kaskadı (KRAS ve NRAS) mediatörlerindeki fonksiyon mutasyonları, yalnızca; bu vakaların yaklaşık %50'sini oluşturan uterus kökenli karsinosarkomlarda bulunmuştur. Bu sonuçlarla da KRAS, NRAS ve PIK3CA'daki aktif mutasyonların, sadece uterus kökenli karsinosarkomların yaklaşık %50'sinde gösterilmiş olması nedeniyle, MAPK ve / veya PI3K / AKT / MTOR yollarını hedef alan modern tedavilerin bu hastalarda etkili olabileceği vurgulanmıştır (245). Bizim çalışmamızda da KRAS gen mutasyonu da 2 vakada (%16,7) tespit edilmiştir. Saptanan bu oranlar yukarıda bahsedilen çalışmada tespit edilen mutasyon oranları ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda hiçbir olguda NRAS mutasyonu görülmemiştir. KRAS mutasyonu, klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırıldığında; mutasyonun saptandığı olguların tamamının da malign epitelyal komponentinin alt tipi seröz/endometrioid/diğer karsinomları içeren mikst karsinom olduğu saptanmıştır. KRAS mutasyonu ve klinikopatolojik parametrelerden epitelyal komponentinin alt tipi arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamış olsa da (p=0,091) geniş vaka serilerini içeren çalışmalar ile daha anlamlı sonuçlara ulaşılabileceği düşünülmektedir.

PDGFRA reseptör tirozin kinazlar (RTK'ler) olarak adlandırılan bir protein ailesinin bir parçasıdır. RAS / RAF / MAPK ve PI3K / AKT / MTOR yollarının aktivasyonu ile hücre çoğalması ve hayatta kalmasında rol oynayan onkogendir (248). GIST'lerin çoğu, C-KİT veya PDGFRA onkojenik mutasyonlara sahiptir ve bu mutant proteinleri kinaz inhibitörleriyle hedeflemek, ileri hastalığı olan hastalarda etkilidir (248). Adams ve ark. (253) tarafından yapılan uterin sarkomlarda PDGFRA immunekspresyonu araştırılması çalışmasında 18'inin karsinosarkom olduğu 41 adet uterin sarkom olgusunun içinden karsinosarkom olgularında %66 oranında PDGFRA için güçlü boyanma tespit edilmiştir. Aynı çalışmada normal endometriumda çok az miktarda PDGFRA ekspresyonu saptanması, PDGFRA ekspresyonunun endometriumun, karsinosarkoma malign transformasyonu sırasında sonradan kazanıldığına inanılmasına yol açmıştır. Bicuola ve ark. (10) yaptığı çalışmada 76 KS olgusunda 3 olguda

PDGFRA gen mutasyonu saptanarak, bu çalışmada ilk kez PDGFRA mutasyonu saptandığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise PDGFRA gen mutasyonu 3/12 olguda (%25) tespit edilmiştir. Tek varyant halinde görülen bu mutasyon, TIER sınıflandırmasına göre önemi belirsiz kategorisine girmiştir. Bu mutasyon klinikopatolojik verilerden heterolog eleman varlığı, lenfatik invazyon ve tümörün myometrial invazyon derinliği ile PDGFRA gen mutasyon durumu karşılaştırıldığında; sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmamakla birlikte heterolog eleman varlığının, lenfatik invazyonun, PDGFRA mutasyonu varlığı riskini 2 kat arttırdığı saptanarak, bunun da klinik olarak önemli olabileceği düşünülmüştür (p=0,182 OR=2,0 (%95 Güven Aralığı: 0,899-4,452)). Myometrial invazyonun derinliğinin myometriyumun yarısından fazlasını aşmasının ise PDGFRA gen mutasyon riskini 1,5 kat arttırdığı saptanarak, bunun da klinik olarak önemli olabileceği düşünülmüştür (p=0,509 OR=1,5 (%95 Güven Aralığı: 0,945-2,381)).

Mutasyon izlenmeyen diğer genler BRAF, ALK, NRAS, ERBB3, RAF, ESR1 gen nokataları ile ilgili yapılan çalışmalar incelenecek olursa, bu genlerden sadece NRAS mutasyonu Growdon ve ark. (245) yaptığı çalışmada %2 oranında saptanmıştır.

Özet olarak; kanserlerde, hedefe yönelik tedavilerde kullanılan ilacın hedeflediği sinyal proteinlerinde moleküler anormallikleri barındıran tümörlerin alt kümesinde, hedefe yönelik tedavilerin klinik yanıtlarının esas olarak alınabildiğine dair özellikle son yıllarda artan çok sayıda kanıt ve çalışma mevcuttur (245,254). Hedefe yönelik tedavide kullanılan tirozin kinaz inhibitörlerinin özellikle KHDAK'larındaki başarısı nedeniyle, kemoterapiye ve radyoterapiye dirençli tümörlerin tedavi olasılıklarında yerini alabilmesi için bu alanda çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Bizim çalışmamızda da en dikkat çekici sonuçlardan biri de EGFR gen mutasyonunun 12 olgunun 11'inde (%91,7) saptanması ve bu mutasyonların da 2 varyant halinde ekzon 13 ve ekzon 20'de gösterilmiş olmasıdır. Bu mutasyonların tekrarlayan şekilde aynı gen noktasında saptanması, EGFR gen noktası mutasyonunun sürücü mutasyon olma olasılığını göstererek, karsinosarkomların metaplastik karsinom olduğu ile ilgili olan teorileri desteklemektedir. Tirozin kinaz reseptörü olan EGFR'in karsinosarkomlarda hedefe yönelik tedavide potansiyel bir hedef olup olmadığının kesin olarak kanıtlanabilmesi ve bu tümörlerin karsinosarkoma dönüşmesinde EGFR gen mutasyonunun sürücü mutasyon rolüne sahip olup olmadığı ile ilgili daha geniş vaka serilerini içeren klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Son yıllarda KS'larda özellikle PI3K / AKT yolağının en sık mutasyona uğrayan sinyal yolağı olduğunu gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur. Dünya Sağlık Örgütü'nün güncel jinekolojik tümör sınıflandırmasında da, karsinosarkomların moleküler alterasyonlarından bahsedilmiş, en sık görülen mutasyonların, tümörlerin yaklaşık %20'sinde görülen PIK3CA'yı

etkileyen mutasyonlar olduğu bildirilmiştir (1) alışmamızda saptadığımız 2 varyant halinde görülen PIK3CA gen mutasyonu bu literatür bilgilerine katkı sağlamıştır.

Diğer dikkat çekici bir sonuç da karsinosarkomların, endometrial karsinomlarda görülen heterojenliğe benzer şekilde, bazıları endometrioid karsinom benzeri ve diğerleri seröz karsinom benzeri mutasyon profilleri gösteren heterojen moleküler özellikler sergilemiş olmasındır.

Sonuç olarak, çalışmamız; uterin karsinosarkomların onkogenезinin daha iyi kavranmasına, erken onkojenik olayları temsil eden hedeflenebilir mutasyonların tanımlanmasına, endometrial karsinomdaki moleküler tiplere paralel olarak uterin karsinosarkomlarda da farklı moleküler bulguların ortaya çıkarılmasına ve bununla birlikte hedefe yönelik tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

SONUÇLAR

- 1) Çalışmamıza dahil olan olguların yaş aralığı literatür bulguları ile uyumlu saptandı.
- 2) Olguların malign epitelyal ve malign mezenkimal komponentlerinin histolojik alt tipleri literatür bilgileri ile karşılaştırıldığında uyumsuzluk saptanmadı.
- 3) Lenfatik invazyon, myometrial invazyon derinliği ve diğer doku/organlara yayılım bu tümör grubunun agresif natürü ile uyumlu olarak değerlendirildi.
- 4) Kan damarı invazyonunun bazı olguların erken evrede saptanarak, opere edilmesi nedeniyle olguların hiçbirinde izlenmemiş olabileceği düşünüldü.
- 5) NGS yöntemi ile çalışılan, 12 gen noktası içeren Actionable Insights tümör gen panelinden 6 gen noktasında (EGFR, ERBB2, KRAS, PIK3CA, PDGFRA, C-KİT) tespit edilen mutasyonlar, bu tümör grubunun heterojen fenotipi ile uyumlu şekilde heterojen nitelikte olduğu tespit edildi.
- 6) En sık mutasyon EGFR gen noktasında idi. Bunu izleyen gen ise ERBB2 olarak saptandı. Bu tirozin kinaz reseptörlerinin tümörlerin patogenezisinde yer alabileceği sonucuna varıldı.
- 7) Moleküler incelemenin sonucunda olguların tamamında gen mutasyonu tespit edilmiş olup bazı olgularda senkron mutasyon görülmesi nedeniyle, bu tümör grubunda birden fazla sinyalizasyon yolağının etkilenmiş olabileceği düşünüldü.
- 8) Tespit edilen gen mutasyonları ile klinikopatolojik parametreler ile karşılaştırıldığında hiçbirinde istatistiksel anlamlılık saptanmadı ancak, heterolog eleman varlığı, lenfatik invazyon ve tümörün myometrial invazyon derinliği ile PDGFRA gen mutasyon durumu karşılaştırıldığında; sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmamakla birlikte heterolog

eleman varlığının, lenfatik invazyonun, myometrial invazyonun derinliği ile PDGFRA mutasyonunun ilişkili olabileceği düşünöldü.

- 9) Olguların 2'sinde PIK3CA gen mutasyonu saptanmasının da, literatürde bu tümörlerde etkilenen en sık yolak olan PI3K/AKT yolağı olduğı bilgisine katkı sağlayabileceğı düşünöldü.
- 10) Gen panelinde mutasyon saptanmayan ALK, BRAF, RAF1, ESR1, ERBB3, NRAS gen noktalarının da daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olarak değerlendirildi bu noktalarının varyasyonlarının bu tümörlerin patogeneğinde rolü olmayabileceğı düşünöldü.
- 11) Çalışmamızın; uterin karsinosarkomların onkogeneğinin daha iyi kavranmasına, erken onkojenik olayları temsil eden hedeflenebilir mutasyonların tanımlanmasına, endometrial karsinomdaki moleküler tiplere paralel olarak uterin karsinosarkomlarda da farklı moleküler bulguların ortaya çıkarılmasına ve bununla birlikte hedefe yönelik tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine katkı sağlayabileceğı sonucuna varıldı.

ÖZET

Endometrial karsinosarkomlar, yüksek dereceli karsinom ve sarkomatöz elementlerden oluşan, nadir görülen fakat; oldukça agresif neoplazilerdir. Bu tümörlerin patogenezindeki genetik değişiklikler iyi bilinmemektedir.

Endometrial karsinosarkomların patogenezinde rol oynayan onkojenlerdeki değişiklikleri analiz ettiğimiz çalışmamızda, NGS yöntemi ile karsinosarkomlarda 12 gen 1237 varyanttan oluşan gen panelindeki varyasyonlar ile klinikopatolojik verilerin karşılaştırılması amaçlandı. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden uterus yerleşimli karsinosarkom tanısı alan 12 adet olgu dahil edildi. Olgulara ait H&E kesitleri ışık mikroskopunda incelendi. Olgular, güncel sınıflandırmaya (DSÖ) göre değerlendirilerek histolojik alt tiplendirme yapıldı. Heterolog eleman varlığı, myometrial invazyon derinliği, lenfovasküler invazyonu, diğer doku/organlara yayılım değerlendirildi.

Olguların %91,7'sinde EGFR, %41,7'inde ERBB2, %25'inde PDGFRA, %16,7'sinde KRAS ve PIK3CA, %8,3'ünde C-KİT mutasyonu saptandı. Endometrial karsinosarkomların da endometrial karsinomlarda görülen heterojenliğe benzer şekilde, heterojen moleküler özellikler sergilediği sonucuna varıldı. Saptanan gen mutasyonları ile klinikopatolojik veriler arasında istatistiksel anlamlılık saptanmamış olsa da PDGFRA gen mutasyonunun myometrial invazyon derinliği, lenfatik invazyon ve heterolog eleman varlığı ile ilişkili olabileceği sonucuna varıldı.

Sonuç olarak, çalışmamızda tespit ettiğimiz EGFR ve ERBB2 varyasyonlarının, KS'ların patogenezinde sürücü mutasyon rolü olup olmadığının, tirozin kinaz inhibitörlerinin bu varyasyonları hedefleyebilme potansiyeli ile ilgili daha geniş vaka serileri ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Karsinosarkomlarda en dikkat çekici mutasyonlardan biri olan PIK3CA ve KRAS gen mutasyonu ise çalışmamızda 2 olguda gösterilmiştir. Bu gen noktalarının KS'ların patogeneğinde yer alması ve inovatif tedavi seçeneklerinde hedef olarak kullanılmasının sağlanabilmesi için de, çoklu gen panelleri ile moleküler yöntemlerin kullanılacağı daha geniş vaka serileri ile yapılacak klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: karsinosarkom, moleküler profil, sekanslama, PIK3CA, EGFR, ERBB2, C-KIT, PDGFRA, KRAS, mutasyon, hedefe yönelik tedavi

MOLECULAR ANALYSIS OF UTERINE CARCINOSARCOMAS

SUMMARY

Endometrial carcinosarcomas are very aggressive but rarely seen neoplasms that contain both high-grade carcinomatous and sarcomatous elements. The underlying pathogenesis and specific genetic changes are still not well known.

In this study, we analyzed oncogenes which play a role in the pathogenesis of endometrial carcinosarcomas by NGS using tumor panel containing 12 genes and 1237 variant and compared with the clinicopathological data. The 12 patients who diagnosed as carcinosarcoma in Trakya University Faculty of Medicine, Department of Medical Pathology; were included in the study. Hematoxylin&Eosin sections were reviewed in light microscope. Histological subtyping was performed according to the current tumor classification (WHO). Existence of heterologous element, the depth of myometrial invasion, lymphovascular invasion and spread to other tissues/organs was evaluated.

Detected mutation rates were 91.7% in EGFR, 41.7% in ERBB2, 25% in PDGFRA, 16.7% in KRAS/PIK3CA, and 8.3% in C-KIT genes, respectively. Endometrial carcinosarcomas exhibited similar heterogeneity like endometrial carcinomas. Although there was no statistical significance between the detected gene mutations and the clinicopathological data, it was concluded that PDGFRA gene mutation may be related to the depth of myometrial invasion, lymphatic invasion and the presence of heterologous component.

As a result, findings in our study about EGFR and ERBB2 variations, to explain the role of driver mutation in the pathogenesis of CSs and the potential of tyrosine kinase inhibitors to

target these variations need more studies. PIK3CA and KRAS gene mutation, which are one of the most remarkable mutations in CSs, were shown in 2 cases in our study. In order to consider these gene points in the pathogenesis of CSs and to be used as a target for innovative treatment options, clinical studies with larger gene series and multiple gene panels are needed.

Keywords: carcinosarcomas, molecular profiles, sequencing, PIK3CA, EGFR, ERBB2, C-KIT, PDGFRA, KRAS, mutation, targeted treatment.



KAYNAKLAR

1. Kurman RJ CM, Herrington S, Young RH. WHO classification of tumours of female genital reproductive organs. vol. 4. Lyon: International Agency for Research on Cancer 2014.
2. Gonzalez Bosquet J, Terstriep SA, Cliby WA, Brown-Jones M, Kaur JS, Podratz KC, et al. The impact of multi-modal therapy on survival for uterine carcinosarcomas. *Gynecol Oncol*. 2010;116(3):419-23.
3. Vitale SG, Laganà AS, Capriglione S, Angioli R, La Rosa VL, Lopez S, et al. Target therapies for uterine carcinosarcomas: current evidence and future perspectives. *International journal of molecular sciences*. 2017;18(5):1100.
4. Ferguson SE, Tornos C, Hummer A, Barakat RR, Soslow RA. Prognostic features of surgical stage I uterine carcinosarcoma. *Am J Surg Pathol*. 2007;31(11):1653-61.
5. Norris HJ TH. Mesenchymal tumors of the uterus. A clinical and pathologic study of 31 carcinosarcomas. *Cancer* 1966;19(10):1459-65.
6. Kounelis S, Jones MW, Papadaki H, Bakker A, Swalsky P, Finkelstein SD. Carcinosarcomas (malignant mixed mullerian tumors) of the female genital tract: comparative molecular analysis of epithelial and mesenchymal components. *Human Pathol* 1998;29(1):82-7.
7. McCluggage wG. Uterine carcinosarcomas (malignant mixed Mullerian tumors) are metaplastic carcinomas. *Int J Gynecol Cancer* 2002;Volume 12 - Issue 6 - p 687–90.
8. Zelmanowicz A, Hildesheim A, Sherman ME, Sturgeon SR, Kurman RJ, Barrett RJ, et al. Evidence for a common etiology for endometrial carcinomas and malignant mixed mullerian tumors. *Gynecol Oncol* 1998;69(3):253-7.
9. McConechy MK, Hoang LN, Chui MH, Senz J, Yang W, Rozenberg N, et al. In-depth molecular profiling of the biphasic components of uterine carcinosarcomas. *J Pathol Clin Res* 2015;1(3):173-85.

10. Biscuola M, Van de Vijver K, Castilla MA, Romero-Perez L, Lopez-Garcia MA, Diaz-Martin J, et al. Oncogene alterations in endometrial carcinosarcomas. *Hum Pathol* 2013;44(5):852-9.
11. Raspollini MR, Susini T, Amunni G, Paglierani M, Taddei A, Marchionni M, et al. COX-2, c-KIT and HER-2/neu expression in uterine carcinosarcomas: prognostic factors or potential markers for targeted therapies? *Gynecol Oncol* 2005;96(1):159-67.
12. Zhao S, Bellone S, Lopez S, Thakral D, Schwab C, English DP, et al. Mutational landscape of uterine and ovarian carcinosarcomas implicates histone genes in epithelial-mesenchymal transition. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016;113(43):12238-43.
13. Ferrari F, Bellone S, Black J, Schwab CL, Lopez S, Cocco E, et al. Solitomab, an EpCAM/CD3 bispecific antibody construct (BiTE(R)), is highly active against primary uterine and ovarian carcinosarcoma cell lines in vitro. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR.* 2015;34:123.
14. Carter D, Joel K. Greenson, Reuter VE, Stoler MH, Mills SE. *Sternberg's diagnostic surgical pathology.* Lippincott Williams & Wilkins; 2015.
15. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1977;74(12):5463-7.
16. *Molecular Pathology.* In: Shaaban A, Schmitt F, Bartlett JMS, editors. *Molecular pathology: a practical guide for the surgical pathologist and cytopathologist.* Cambridge: Cambridge University Press; 2015. p. i-ii.
17. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001;409(6822):860-921.
18. Metzker ML. Sequencing technologies — the next generation. *Nature Reviews Genetics.* 2009;11:31.
19. Aplin JD, Fazleabas AT, Glasser SR, Giudice LC. *The endometrium: molecular, cellular and clinical perspectives, Second Edition Reproductive Medicine and Assisted Reproductive Techniques Series April 7, 2008.*
20. Sadler TW. *Langman's medical embryology: Lippincott Williams & Wilkins; 2011.*
21. Mills SE. *Histology for pathologists. 4th ed. / editor SEM, editor Philadelphia : Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, c2012.*
22. Strauss JI, Barbieri R. The structure, function, and evaluation of the female reproductive tract. In: Strauss JFIII, Barbieri RL, eds. *Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology. Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management.* Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2004:255–306.
23. Patton G KR. *Atlas of infertility surgery. Boston, MA: Little, Brown and Company; 1984.*
24. Tulac S NN, Kao LC, et al. Identification, characterization, and regulation of the canonical Wnt signaling pathway in human endometrium. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:3860–6.

25. Lamps L. Diagnostic Pathology: Normal histology: Published by Amirsys 1st edition 2013 ISBN:978-1931884662
26. Mutter GSR, Mutter G, Prat J, Bentley R, Russell P, Anderson M. Robboy's pathology of the female reproductive tract 2nd Edition 2008.
27. Gray H WP, Warwick R, et al. . Grays anatomy, Churchill Livingstone; 1989.
28. McLean J. Embryology and anatomy of the female genital tract. In: Fox H, Wells M, eds. Haines and Taylor obstetrical and gynecological pathology. Edinburgh UK: Churchill Livingstone; 2002:1–40.
29. Langlois P. The size of the normal uterus. J Reprod Med 1970;4:220–228.
30. Zemlyn S. The length of the uterine cervix and its significance. Clin Ultrasound 1981;9:267–9.
31. Kurz K TE, Haspels A. In vivo measurements of uterine cavities in 795 women of fertile age. Contraception 1984;29:495–510. .
32. Greiss FJ RJ. Vascular physiology of the nonpregnant uterus. In: Wynn R, Jollie W, eds. Biology of the uterus. New York, NY: Plenum; 1989:69–88.
33. Wydrzynski M. Anatomical principles of microsurgery of the tubal arteries. Anat Clin 1985;7:233–236.
34. Sherman ME, Bur ME, Kurman RJ. p53 in endometrial cancer and its putative precursors: Evidence for diverse pathways of tumorigenesis. Human Pathology 1995;26(11):1268-74.
35. McDonnell JM, Emens JM, Jordan JA. The congenital cervicovaginal transformation zone in sexually active young women. British J Obstet Gynaecol 1984;91(6):580-4.
36. Singer A, Chow C. Anatomy of the cervix and physiological changes in cervical epithelium. In: Fox H, Wells M, eds. Haines and Taylor obstetrical and gynecological pathology. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2002:247–272.
37. Hiersche HD, Nagl W. Regeneration of secretory epithelium in the human endocervix. Arch Gynecol 1980;229(2):83-90.
38. Leppert PC, Yu SY. Three-dimensional structures of uterine elastic fibers: scanning electron microscopic studies. Connect Tiss Res 1991;27(1):15-31.
39. Aspden RM. Collagen organisation in the cervix and its relation to mechanical function. Coll Related Res 1988;8(2):103-12.
40. Ferenczy A, Bergeron C. Histology of the human endometrium: from birth to senescence. Ann New York Acad Sci 1991;622:6-27.
41. Denholm RB, More IA. Atypical cilia of the human endometrial epithelium. J Anat 1980;131(2):309-15.

42. Mary T Comer, Alison C Andrew, Henry J Leese, Ludwik K Trejdosiewicz, Southgate J. Application of a marker of ciliated epithelial cells to gynaecological pathology. *J Clin Pathol* 1999;52:355–357.
43. Kearns M, Lala PK. Life history of decidual cells: a review. *Am J Reprod Immunol* 1983;3(2):78-82.
44. Whitelaw P, Croy B. Granulated lymphocytes of pregnancy. *Placenta* 1996;17:533–543.
45. Kayisli UA, Guzeloglu-Kayisli O, Arici A. Endocrine-immune interactions in human endometrium. *Ann New York Acad Sci* 2004;1034:50-63.
46. Bulmer JN, Lash GE. Human uterine natural killer cells: a reappraisal. *Mol Immunol* 2005;42(4):511-21.
47. Tabibzadeh S. Proliferative activity of lymphoid cells in human endometrium throughout the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70(2):437-43.
48. Givan AL, White HD, Stern JE, Colby E, Gosselin EJ, Guyre PM, et al. Flow cytometric analysis of leukocytes in the human female reproductive tract: comparison of fallopian tube, uterus, cervix, and vagina. *Am J Reprod Immunol* 1997;38(5):350-9.
49. Ramsey E. Anatomy of the uterus. In: Chard T, Grudzinskas J, eds *The uterus* New York, NY: Cambridge University Press;. 1994:18–40.
50. Kawaguchi K, Fujii S, Konishi I, Nanbu Y, Nonogaki H, Mori T. Mitotic activity in uterine leiomyomas during the menstrual cycle. *Am J Obstet Gynecol* 1989;160(3):637-41.
51. Dey P. *Color atlas of female genital tract pathology* 1st ed.2019.
52. Talhouk A, McAlpine JN. New classification of endometrial cancers: the development and potential applications of genomic-based classification in research and clinical care. *Gynecol Oncol Res Pract* 2016;3:14.
53. Rose P. Endometrial carcinoma. *N Engl J Med* 1996;335(9):640–9. Review. Erratum in: *N Engl J Med* 1997;336(18):1335.
54. Amin M, Edge S, Greene F, Byrd D, Brookland R, Washington M. Organization of the AJCC cancer staging manual. *AJCC Cancer Staging Manual: Springer International Publishing*.2016:31-7.
55. Doll A, Abal M, Rigau M, Monge M, Gonzalez M, Demajo S, et al. Novel molecular profiles of endometrial cancer-new light through old windows. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008;108(3-5):221-9.
56. Silverberg S, Kurman R. *Endometrial Carcinoma. Tumors of the Uterine Corpus and Gestational Trophoblastic Disease*. Washington, DC: Armed Forces Inst of Pathology; 1991:47–89.
57. Zaino RJ, Kurman RJ, Brunetto VL, Morrow CP, Bentley RC, Cappellari JO, et al. Villoglandular adenocarcinoma of the endometrium: a clinicopathologic study of 61 cases: a Gynecol Oncol Group Study. *Am J Surg Pathol* 1998;22(11):1379-85.

58. Ambros RA, Malfetano JH. Villoglandular adenocarcinoma of the endometrium. *Am J Surg Pathol* 2000;24(1):155.
59. Clement PB, Young RH. Endometrioid carcinoma of the uterine corpus: a review of its pathology with emphasis on recent advances and problematic aspects. *Adv Anat Pathol* 2002;9(3):145-84.
60. Pandey P, Mittal S, Goel A, Dixit A. Secretory endometrial adenocarcinoma. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada* 2011;33(5).
61. Ross JC, Eifel PJ, Cox RS, Kempson RL, Hendrickson MR. Primary mucinous adenocarcinoma of the endometrium. A clinicopathologic and histochemical study. *Am J Surg Pathol* 1983;7(8):715-29.
62. Melhem MF, Tobon H. Mucinous adenocarcinoma of the endometrium: a clinicopathological review of 18 cases. *Int J Gynecol Pathol* 1987;6(4):347-55.
63. Vera M. AMD, Kjell E. KMD, Ph.D. Clear cell carcinoma of the endometrium: a histopathological and clinical study of 97 cases. *Gynecol Oncol* 1990;40(3):207-17.
64. Carcangiu M, Chambers J. Early pathologic stage clear cell carcinoma and uterine papillary serous carcinoma of the endometrium: comparison of clinicopathologic features and survival. *Int J Gynecol Pathol* 1995;14:30–8.
65. Robert A Ambros, Mark E Sherman, Christopher M Zahn, Pincas Bitterman, Robert J Kurman. Endometrial intraepithelial carcinoma: a distinctive lesion specifically associated with tumors displaying serous differentiation. *Human Pathol* 1995;26(11):1260-7.
66. Hendrickson M, Martinez A, Ross J, Kempson R, Eifel P. Uterine papillary serous carcinoma, a highly malignant form of endometrial adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 1982;6:93–108.
67. Brinton LA, Felix AS, McMeekin DS, Creasman WT, Sherman ME, Mutch D, et al. Etiologic heterogeneity in endometrial cancer: evidence from a Gynecol Oncol Group trial. *Gynecol Oncol* 2013;129(2):277-84.
68. del Carmen MG, Birrer M, Schorge JO. Uterine papillary serous cancer: a review of the literature. *Gynecol Oncol* 2012;127(3):651-61.
69. Garg K, Leitao MM, Jr., Wynveen CA, Sica GL, Shia J, Shi W, et al. p53 overexpression in morphologically ambiguous endometrial carcinomas correlates with adverse clinical outcomes. *Mod Pathol* 2010;23(1):80-92.
70. King ME, Dickersin GR, Scully RE. Myxoid leiomyosarcoma of the uterus. A report of six cases. *Am J Surg Pathol* 1982;6(7):589-98.
71. Pelmus M, Penault-Llorca F, Guillou L, Collin F, Bertrand G, Trassard M, et al. Prognostic factors in early-stage leiomyosarcoma of the uterus. *Int J Gynecol Cancer* 2009;19(3):385-90.
72. Kurman RJ, Ellenson LH, Ronnett BM. Blaustein's pathology of the female genital tract. New York: Springer. 2011.

73. Zaloudek CJ, Norris HJ. Adenofibroma and adenosarcoma of the uterus: a clinicopathologic study of 35 cases. *Cancer* 1981;48(2):354-66.
74. Sinkre P, Miller DS, Milchgrub S, Hameed A. Adenomyofibroma of the endometrium with skeletal muscle differentiation. *Int J Gynecol Pathol* 2000;19(3):280-3.
75. Clement PB, Scully RE. Mullerian adenosarcoma of the uterus: a clinicopathologic analysis of 100 cases with a review of the literature. *Hum Pathol.* 1990;21(4):363-81.
76. Gallardo A, Prat J. Mullerian adenosarcoma: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 55 cases challenging the existence of adenofibroma. *Am J Surg Pathol* 2009;33(2):278-88.
77. Soslow RA, Ali A, Oliva E. Mullerian adenosarcomas: an immunophenotypic analysis of 35 cases. *Am J Surg Pathol* 2008;32(7):1013-21.
78. Silverberg SG, Major FJ, Blessing JA, Fetter B, Askin FB, Liao SY, et al. Carcinosarcoma (malignant mixed mesodermal tumor) of the uterus. A Gynecol Oncol Group pathologic study of 203 cases. *Int J Gynecol Pathol* 1990;9(1):1-19.
79. Fujii H, Yoshida M, Gong ZX, Matsumoto T, Hamano Y, Fukunaga M, et al. Frequent genetic heterogeneity in the clonal evolution of gynecological carcinosarcoma and its influence on phenotypic diversity. *Cancer Res* 2000;60(1):114-20.
80. Seidman JD, Chauhan S. Evaluation of the relationship between adenosarcoma and carcinosarcoma and a hypothesis of the histogenesis of uterine sarcomas. *Int J Gynecol Pathol* 2003;22(1):75-82.
81. Evans MJ, Langlois NE, Kitchener HC, Miller ID. Is there an association between long-term tamoxifen treatment and the development of carcinosarcoma (malignant mixed Mullerian tumor) of the uterus? *Int J Gynecol Cancer* 1995;5(4):310-3.
82. Djordjevic B, Gien LT, Covens A, Malpica A, Khalifa MA. Polypoid or non-polypoid? A novel dichotomous approach to uterine carcinosarcoma. *Gynecol Oncol* 2009;115(1):32-6.
83. McCluggage WG, Abdulkader M, Price JH, Kelehan P, Hamilton S, Beattie J, et al. Uterine carcinosarcomas in patients receiving tamoxifen. A report of 19 cases. *Int J Gynecol Cancer* 2000;10(4):280-4.
84. Ferguson SE, Soslow RA, Amsterdam A, Barakat RR. Comparison of uterine malignancies that develop during and following tamoxifen therapy. *Gynecol Oncol* 2006;101(2):322-6.
85. Hagiwara T, Mori T, Kaku T. Development of endometrial cancer following radiation therapy for cervical carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 26:191–195. 2005.
86. Pothuri B, Ramondetta L, Eifel P, Deavers MT, Wilton A, Alektiar K, et al. Radiation-associated endometrial cancers are prognostically unfavorable tumors: a clinicopathologic comparison with 527 sporadic endometrial cancers. *Gynecol Oncol* 2006;103(3):948-51.
87. Ostor A, Rollason T. Mixed tumours of the uterus. In: Haines & Taylor obstetrical and gynecological pathology Fox H, Wells M, eds Churchill Livingstone: 549-584. 2003.

88. de Brito PA, Silverberg SG, Orenstein JM. Carcinosarcoma (malignant mixed mullerian (mesodermal) tumor) of the female genital tract: immunohistochemical and ultrastructural analysis of 28 cases. *Hum Pathol* 1993;24(2):132-42.
89. D'Angelo E, Prat J. Pathology of mixed Mullerian tumours. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2011;25(6):705-18.
90. Chuang JT, Van Velden DJ, Graham JB. Carcinosarcoma and mixed mesodermal tumor of the uterine corpus. Review of 49 cases. *Obstet Gynecol* 1970;35(5):769-80.
91. Norris HJ, Taylor HB. Mesenchymal tumors of the uterus: III. A clinical and pathologic study of 31 carcinosarcomas. *Cancer* 1966;19(10):1459-65.
92. Sreenan JJ, Hart WR. Carcinosarcomas of the female genital tract. A pathologic study of 29 metastatic tumors: further evidence for the dominant role of the epithelial component and the conversion theory of histogenesis. *Am J Surg Pathol* 1995;19(6):666-74.
93. Bitterman P, Chun B, Kurman RJ. The significance of epithelial differentiation in mixed mesodermal tumors of the uterus. A clinicopathologic and immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol* 1990;14(4):317-28.
94. Lopez-Garcia MA, Palacios J. Pathologic and molecular features of uterine carcinosarcomas. *Semin Diagn Pathol* 2010;27(4):274-86.
95. Ferguson S, Carmen H, Amanda P, Barakat RR, Soslow RA. Prognostic features of surgical stage I uterine carcinosarcoma. *Am J Surg Pathol* 2007;31(11):1653-61.
96. Ferguson SE, Gerald W, Barakat RR, Chi DS, Soslow RA. Clinicopathologic features of rhabdomyosarcoma of gynecologic origin in adults. *Am J Surg Pathol* 2007;31(3):382-9.
97. Chen X, Arend R, Hamele-Bena D, Tergas AI, Hawver M, Tong GX, et al. Uterine carcinosarcomas: clinical, histopathologic and immunohistochemical characteristics. *Int J Gynecol Pathol* 2017;36(5):412-9.
98. Nordal RR, Kristensen GB, Stenwig AE, Nesland JM, Pettersen EO, Trope CG. An evaluation of prognostic factors in uterine carcinosarcoma. *Gynecol Oncol* 1997;67(3):316-21.
99. Yamada SD, Burger RA, Brewster WR, Anton D, Kohler MF, Monk BJ. Pathologic variables and adjuvant therapy as predictors of recurrence and survival for patients with surgically evaluated carcinosarcoma of the uterus. *Cancer* 2000;88(12):2782-6.
100. Arrastia CD, Fruchter RG, Clark M, Maiman M, Remy JC, Macasaet M, et al. Uterine carcinosarcomas: incidence and trends in management and survival. *Gynecol Oncol* 1997;65(1):158-63.
101. Barwick KW, LiVolsi VA. Malignant mixed müllerian tumors of the uterus. A clinicopathologic assessment of 34 cases. *Am J Surg Pathol* 1979;3(2):125-35.
102. Bodner-Adler B, Bodner K, Obermair A, Czerwenka K, Petru E, Leodolter S, et al. Prognostic parameters in carcinosarcomas of the uterus: a clinico-pathologic study. *Anticancer Res* 2001;21(4b):3069-74.

103. Inthasorn P, Carter J, Valmadre S, Beale P, Russell P, Dalrymple C. Analysis of clinicopathologic factors in malignant mixed Müllerian tumors of the uterine corpus. *Int J Gynecol Cancer* 2002;12(4):348-53.
104. Rovirosa A, Ascaso C, Ordi J, Abellana R, Arenas M, Lejarcegui JA, et al. Is vascular and lymphatic space invasion a main prognostic factor in uterine neoplasms with a sarcomatous component? A retrospective study of prognostic factors of 60 patients stratified by stages. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002;52(5):1320-9.
105. Denny L, Quinn M. FIGO Cancer Report 2015. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*. 2015;131(2):75.
106. Amin M, Edge S, Greene F, Byrd D, Brookland R, Washington M. Organization of the AJCC cancer staging manual. 8th ed. *AJCC Cancer Staging Manual: Springer International Publishing*. 2017:31-7.
107. Dinh TV, Slavin RE, Bhagavan BS, Hannigan EV, Tiamson EM, Yandell RB. Mixed mullerian tumors of the uterus: a clinicopathologic study. *Obstet Gynecol* 1989;74(3):388-92.
108. Podczaski ES, Woomert CA, Stevens CW, Jr., Manetta A, Larson JE, Zaino RJ, et al. Management of malignant, mixed mesodermal tumors of the uterus. *Gynecol Oncol* 1989;32(2):240-4.
109. Nielsen SN, Podratz KC, Scheithauer BW, O'Brien PC. Clinicopathologic analysis of uterine malignant mixed mullerian tumors. *Gynecol Oncol* 1989;34(3):372-8.
110. George E, Lillemoe TJ, Twiggs LB, Perrone T. Malignant mixed mullerian tumor versus high-grade endometrial carcinoma and aggressive variants of endometrial carcinoma: a comparative analysis of survival. *Int J Gynecol Pathol* 1995;14(1):39-44.
111. Spanos WJ, Jr., Wharton JT, Gomez L, Fletcher GH, Oswald MJ. Malignant mixed Mullerian tumors of the uterus. *Cancer* 1984;53(2):311-6.
112. Hornback NB, Omura G, Major FJ. Observations on the use of adjuvant radiation therapy in patients with stage I and II uterine sarcoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1986;12(12):2127-30.
113. Callister M, Ramondetta LM, Jhingran A, Burke TW, Eifel PJ. Malignant mixed Mullerian tumors of the uterus: analysis of patterns of failure, prognostic factors, and treatment outcome. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004;58(3):786-96.
114. Prat J. FIGO staging for uterine sarcomas. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*. 2009;104(3):177-8.
115. Sutton G, Brunetto VL, Kilgore L, Soper JT, McGehee R, Olt G, et al. A phase III trial of ifosfamide with or without cisplatin in carcinosarcoma of the uterus: A Gynecol Oncol Group Study. *Gynecol Oncol* 2000;79(2):147-53.

116. Wolfson AH, Brady MF, Rocereto T, Mannel RS, Lee YC, Futoran RJ, et al. A Gynecol Oncol group randomized phase III trial of whole abdominal irradiation (WAI) vs. cisplatin- ifosfamide and mesna (CIM) as post-surgical therapy in stage I-IV carcinosarcoma (CS) of the uterus. *Gynecol Oncol* 2007;107(2):177-85.
117. Cimbaluk D, Rotmensch J, Scudiere J, Gown A, Bitterman P. Uterine carcinosarcoma: Immunohistochemical studies on tissue microarrays with focus on potential therapeutic targets. *Gynecol Oncol* 2007;105(1):138-44.
118. Livasy CA, Reading FC, Moore DT, Boggess JF, Lininger RA. EGFR expression and HER2/neu overexpression/amplification in endometrial carcinosarcoma. *Gynecol Oncol* 2006;100(1):101-6.
119. Raspollini MR, Susini T, Amunni G, Paglierani M, Castiglione F, Garbini F, et al. Expression and amplification of HER-2/neu oncogene in uterine carcinosarcomas: a marker for potential molecularly targeted treatment? *Int J Gynecol Cancer* 2006;16(1):416-22.
120. Crum CP, Hirsch MS, Peters III WA, Quick CM, Laury AR. *Gynecologic and Obstetric Pathology E-Book: A Volume in the High Yield Pathology Series: Elsevier Health Sciences; 2015.*
121. Buza N, Tavassoli FA. Comparative analysis of P16 and P53 expression in uterine malignant mixed mullerian tumors. *Int J Gynecol Pathol* 2009;28(6):514-21.
122. Costa MJ, Guinee D, Jr. CD34 immunohistochemistry in female genital tract carcinosarcoma (malignant mixed mullerian tumors) supports a dominant role of the carcinomatous component. *Applied immunohistochemistry & molecular morphology: AIMM.* 2000;8(4):293-9.
123. Yoshida Y, Kurokawa T, Fukuno N, Nishikawa Y, Kamitani N, Kotsuji F. Markers of apoptosis and angiogenesis indicate that carcinomatous components play an important role in the malignant behavior of uterine carcinosarcoma. *Hum Pathol* 2000;31(12):1448-54.
124. McCluggage WG. Malignant biphasic uterine tumours: carcinosarcomas or metaplastic carcinomas? *J Clin Pathol* 2002;55(5):321-5.
125. Szukala SA, Marks JR, Burchette JL, Elbendary AA, Krigman HR. Co-expression of p53 by epithelial and stromal elements in carcinosarcoma of the female genital tract: an immunohistochemical study of 19 cases. *Int J Gynecol Cancer* 1999;9(2):131-6.
126. Taylor NP, Zigelboim I, Huettner PC, Powell MA, Gibb RK, Rader JS, et al. DNA mismatch repair and TP53 defects are early events in uterine carcinosarcoma tumorigenesis. *Mod Pathol* 2006;19(10):1333-8.
127. Emoto M, Iwasaki H, Kikuchi M, Shirakawa K. Characteristics of cloned cells of mixed mullerian tumor of the human uterus. Carcinoma cells showing myogenic differentiation in vitro. *Cancer* 1993;71(10):3065-75.
128. Mayall F, Ruddy K, Campbell F, Goddard H. p53 immunostaining suggests that uterine carcinosarcomas are monoclonal. *Histopathology* 1994;24(3):211-4.

129. Wada H, Enomoto T, Fujita M, Yoshino K, Nakashima R, Kurachi H, et al. Molecular evidence that most but not all carcinosarcomas of the uterus are combination tumors. *Cancer Res* 1997;57(23):5379-85.
130. de Jong RA, Nijman HW, Wijbrandi TF, Reyners AK, Boezen HM, Hollema H. Molecular markers and clinical behavior of uterine carcinosarcomas: focus on the epithelial tumor component. *Mod Pathol* 2011;24(10):1368-79.
131. Growdon WB, Roussel BN, Scialabba VL, Foster R, Dias-Santagata D, Iafrate AJ, et al. Tissue-specific signatures of activating PIK3CA and RAS mutations in carcinosarcomas of gynecologic origin. *Gynecol Oncol* 2011;121(1):212-7.
132. Saegusa M, Okayasu I. Frequent nuclear beta-catenin accumulation and associated mutations in endometrioid-type endometrial and ovarian carcinomas with squamous differentiation. *J Pathol* 2001;194(1):59-67.
133. Castilla MA, Moreno-Bueno G, Romero-Perez L, Van De Vijver K, Biscuola M, Lopez-Garcia MA, et al. Micro-RNA signature of the epithelial-mesenchymal transition in endometrial carcinosarcoma. *J Pathol* 2011;223(1):72-80.
134. Collins FS, Morgan M, Patrinos A. The Human Genome Project: lessons from large-scale biology. *Science* 2003;300(5617):286-90.
135. Voelkerding K, Dames S, Durtschi J. Next-Generation sequencing: From basic research to diagnostics 2009. 641-58 p.
136. Murugesan G, Procop GW. Chapter 6 - Direct genome sequencing in diagnostic pathology. In: Tubbs RR, Stoler MH, editors. *Cell and Tissue Based Molecular Pathology*. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2009. p. 56-62.
137. Ross MG, Russ C, Costello M, Hollinger A, Lennon NJ, Hegarty R, et al. Characterizing and measuring bias in sequence data. *Genome Biol* 2013;14(5):R51.
138. An introduction to Next-Generation Sequencing Technology [Internet]. Available from: <https://www.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing.html>.
139. The Cancer Genome Atlas [Internet]. National Human Genome Research Institute. Available from: <https://cancergenome.nih.gov/>.
140. The International Cancer Genome C, Hudson TJ, Anderson W, Aretz A, Barker AD, Bell C, et al. International network of cancer genome projects. *Nature* 2010;464:993.
141. Amado RG, Wolf M, Peeters M, Cutsem EV, Siena S, Freeman DJ, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26(10):1626-34.
142. Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Tu D, Tebbutt NC, et al. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med* 2008;359(17):1757-65.
143. Kumar V, Abbas KA, Fausto N, Aster JC. *Robbins basic pathology*, 10th edition (Robbins Pathology): Elsevier; 2018.

144. Gremer L, Merbitz-Zahradnik T, Dvorsky R, Cirstea IC, Kratz CP, Zenker M, et al. Germline KRAS mutations cause aberrant biochemical and physical properties leading to developmental disorders. *Hum Mutat* 2011;32(1):33-43.
145. KRAS [Internet]. Genetics Home Reference. December 18, 2018. Available from: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/KRAS>.
146. Rocks O, Peyker A, Kahms M, Verveer PJ, Koerner C, Lumbierres M, et al. An acylation cycle regulates localization and activity of palmitoylated ras isoforms. *Science* 2005;307(5716):1746-52.
147. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature* 2014;511(7511):543-50.
148. Castagnola P, Giaretti W. Mutant KRAS, chromosomal instability and prognosis in colorectal cancer. *Biochim Biophys Acta* 2005;1756(2):115-25.
149. Furukawa T, Sunamura M, Horii A. Molecular mechanisms of pancreatic carcinogenesis. *Cancer Sci* 2006;97(1):1-7.
150. NRAS [Internet]. Genetics Home Reference. December 18, 2018. Available from: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/NRAS>
151. Taparowsky E, Shimizu K, Goldfarb M, Wigler M. Structure and activation of the human N-ras gene. *Cell* 1983;34(2):581-6.
152. Charbel C, Fontaine RH, Malouf GG, Picard A, Kadlub N, El-Murr N, et al. NRAS mutation is the sole recurrent somatic mutation in large congenital melanocytic nevi. *J Invest Dermatol* 2014;134(4):1067-74.
153. Yuasa Y, Gol RA, Chang A, Chiu IM, Reddy EP, Tronick SR, et al. Mechanism of activation of an N-ras oncogene of SW-1271 human lung carcinoma cells. *Proceed Nat Acad Sci* 1984;81(12):3670-4.
154. Eskandarpour M, Huang F, Reeves KA, Clark E, Hansson J. Oncogenic NRAS has multiple effects on the malignant phenotype of human melanoma cells cultured in vitro. *Int J Cancer* 2009;124(1):16-26.
155. Jorge SEDC, Kobayashi SS, Costa DB. Epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations in lung cancer: preclinical and clinical data. *Braz J Med Biol Res* 2014;47(11):929-39.
156. Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nat Rev Cancer* 2007;7(3):169-81.
157. Kumar A, Petri ET, Halmos B, Boggon TJ. Structure and clinical relevance of the epidermal growth factor receptor in human cancer. *J Clin Oncol* 2008;26(10):1742-51.
158. Eck MJ, Yun CH. Structural and mechanistic underpinnings of the differential drug sensitivity of EGFR mutations in non-small cell lung cancer. *Biochim Biophys Acta* 2010;1804(3):559-66.

159. Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F, Normanno N. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* 1995;19(3):183-232.
160. Grandis JR, Melhem MF, Barnes EL, Tweardy DJ. Quantitative immunohistochemical analysis of transforming growth factor- α and epidermal growth factor receptor in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer* 1996;78(6):1284-92.
161. Messa C, Russo F, Gabriella Caruso M, Di Leo A. EGF, TGF- α , and EGF-R in human colorectal adenocarcinoma. *Acta Oncologica* 1998;37(3):285-9.
162. Uegaki K, Nio Y, Inoue Y, Minari Y, Sato Y, Song M, et al. Clinicopathological significance of epidermal growth factor and its receptor in human pancreatic cancer. *Anticancer Res* 1997;17(5):3841-7.
163. Fujino S, Enokibori T, Tezuka N, Asada Y, Inoue S, Kato H, et al. A comparison of epidermal growth factor receptor levels and other prognostic parameters in non-small cell lung cancer. *Euro J Cancer* 1996;32(12):2070-4.
164. Chow N, Liu H, Lee E, Chang C, Chan S, Cheng H, et al. Significance of urinary epidermal growth factor and its receptor expression in human bladder cancer. *Anticancer Res* 1997;17(2):1293-6.
165. Bartlett J, Langdon S, Simpson B, Stewart M, Katsaros D, Sismondi P, et al. The prognostic value of epidermal growth factor receptor mRNA expression in primary ovarian cancer. *British J Cancer* 1996;73(3):301.
166. Klijn J, Berns P, Schmitz P, Foekens J. The clinical significance of epidermal growth factor receptor (EGF-R) in human breast cancer: a review on 5232 patients. *Endocrine Rev* 1992;13(1):3-17.
167. Scaltriti M, Baselga J. The epidermal growth factor receptor pathway: a model for targeted therapy. *Clin Cancer Res* 2006;12(18):5268-72.
168. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004;350(21):2129-39.
169. Ashman LK. The biology of stem cell factor and its receptor C-kit. *Int J Biochem Cell Biol* 1999;31(10):1037-51.
170. Yarden Y, Kuang WJ, Yang-Feng T, Coussens L, Munemitsu S, Dull TJ, et al. Human proto-oncogene c-kit: a new cell surface receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand. *EMBO J* 1987;6(11):3341-51.
171. Huizinga JD, Thuneberg L, Kluppel M, Malysz J, Mikkelsen HB, Bernstein A. W/k_{it} gene required for interstitial cells of Cajal and for intestinal pacemaker activity. *Nature* 1995;373(6512):347-9.
172. Sawada M, Tsuda H, Kimura M, Okamoto S, Kita T, Kasamatsu T, et al. Different expression patterns of KIT, EGFR, and HER-2 (c-erbB-2) oncoproteins between epithelial and mesenchymal components in uterine carcinosarcoma. *Cancer Sci* 2003;94(11):986-91.

173. Besmer P, Manova K, Duttlinger R, Huang EJ, Packer A, Gyssler C, et al. The kit-ligand (steel factor) and its receptor c-kit/W: pleiotropic roles in gametogenesis and melanogenesis. *Development Supp* 1993;125-37.
174. Abbaspour Babaei M, Kamalidehghan B, Saleem M, Huri HZ, Ahmadipour F. Receptor tyrosine kinase (c-Kit) inhibitors: a potential therapeutic target in cancer cells. *Drug Design Dev Therap* 2016;10:2443-59.
175. Micke P, Basrai M, Faldum A, Bittinger F, Rönstrand L, Blaukat A, et al. Characterization of c-kit expression in small cell lung cancer: prognostic and therapeutic implications. *Clin Cancer Res* 2003;9(1):188-94.
176. Raspollini MR, Amunni G, Villanucci A, Pinzani P, Simi L, Paglierani M, et al. c-Kit expression in patients with uterine leiomyosarcomas: a potential alternative therapeutic treatment. *Clin Cancer Res* 2004;10(10):3500-3.
177. Heinrich MC, Corless CL, Demetri GD, Blanke CD, Von Mehren M, Joensuu H, et al. Kinase mutations and imatinib response in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor. *J Clin Oncol* 2003;21(23):4342-9.
178. Ashman LK, Griffith R. Therapeutic targeting of c-KIT in cancer. *Expert Opin Investigat Drugs* 2013;22(1):103-15.
179. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 2002;417:949.
180. BRAF [Internet]. Genetics Home Reference. December 18, 2018. Available from: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/BRAF>.
181. Wan PT, Garnett MJ, Roe SM, Lee S, Niculescu-Duvaz D, Good VM, et al. Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell* 2004;116(6):855-67.
182. Wellbrock C, Karasarides M, Marais R. The RAF proteins take centre stage. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004;5(11):875.
183. Zebary A, Omholt K, van Doorn R, Ghiorzo P, Harbst K, Hertzman Johansson C, et al. Somatic BRAF and NRAS mutations in familial melanomas with known germline CDKN2A status: a GenoMEL study. *J Invest Dermatol* 2014;134(1):287-90.
184. Aoki Y, Niihori T, Narumi Y, Kure S, Matsubara Y. The RAS/MAPK syndromes: novel roles of the RAS pathway in human genetic disorders. *Hum Mutat* 2008;29(8):992-1006.
185. Graupera M, Guillermet-Guibert J, Foukas LC, Phng LK, Cain RJ, Salpekar A, et al. Angiogenesis selectively requires the p110alpha isoform of PI3K to control endothelial cell migration. *Nature* 2008;453(7195):662-6.
186. Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, Silliman N, Ptak J, Szabo S, et al. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. *Science* 2004;304(5670):554.
187. Karakas B, Bachman KE, Park BH. Mutation of the PIK3CA oncogene in human cancers. *British J Cancer* 2006;94(4):455-9.

- 188.Özcan Ö, Dikmen M. Kanser tedavisinde mTOR inhibitörleri. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Makale Koleksiyonu 2015.
- 189.Ghayad SE, Cohen PA. Inhibitors of the PI3K/Akt/mTOR pathway: new hope for breast cancer patients. *Recent Pat Anticancer Drug Discov* 2010;5(1):29-57.
- 190.Martelli AM, Tazzari P, Evangelisti C, Chiarini F, Blalock W, Billi A, et al. Targeting the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin module for acute myelogenous leukemia therapy: from bench to bedside. *Current Med Chem* 2007;14(19):2009-23.
- 191.Yuan TL, Cantley LC. PI3K pathway alterations in cancer: variations on a theme. *Oncogene* 2008;27(41):5497-510.
- 192.Rice LW, Stone RL, Xu M, Galgano M, Stoler MH, Everett EN, et al. Biologic targets for therapeutic intervention in endometrioid endometrial adenocarcinoma and malignant mixed müllerian tumors. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194(4):1119-26.
- 193.PDGFR [Internet]. Genetic Home Reference. December 18, 2018. Available from: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/PDGFR>.
- 194.Heinrich MC, Corless CL, Duensing A, McGreevey L, Chen CJ, Joseph N, et al. PDGFR activating mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Science* 2003;299(5607):708-10.
- 195.ALK [Internet]. Genetics Home Reference. December 18, 2018. Available from: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/ALK>.
- 196.Wieduwilt MJ, Moasser MM. The epidermal growth factor receptor family: biology driving targeted therapeutics. *Cellular and molecular life sciences: CMLS* 2008;65(10):1566-84.
- 197.Linggi B, Carpenter G. ErbB receptors: new insights on mechanisms and biology. *Trends Cell Biol* 2006;16(12):649-56.
- 198.ERBB2 [Internet]. Genetic Home Reference. December 18, 2018. Available from: <https://ghr.nlm.nih.gov/search?query=her+2>.
- 199.Santin AD, Bellone S, Van Stedum S, Bushen W, Palmieri M, Siegel ER, et al. Amplification of c-erbB2 oncogene. *Cancer* 2005;104(7):1391-7.
- 200.ERBB3 [Internet]. Genetic Home Reference. December 18, 2018. Available from: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/ERBB3>.
- 201.Reinert T, Saad ED, Barrios CH, Bines J. Clinical implications of ESR1 mutations in hormone receptor-positive advanced breast cancer. *Frontiers Oncol* 2017;7:26-.
- 202.Huang B, Warner M, Gustafsson JA. Estrogen receptors in breast carcinogenesis and endocrine therapy. *Mol Cell Endocrinol* 2015;418(3):240-4.
- 203.Leicht DT, Balan V, Kaplun A, Singh-Gupta V, Kaplun L, Dobson M, et al. Raf kinases: function, regulation and role in human cancer. *Biochim Biophys Acta* 2007;1773(8):1196-212.

204. Haglund K, Rusten T, Stenmark H. Aberrant receptor signaling and trafficking as mechanisms. *Oncogenesis* 2007. 39-74 p.
205. Avruch J, Zhang XF, Kyriakis JM. Raf meets Ras: Completing the framework of a signal transduction pathway. *Trends Biochemical* 1994;19(7):279-83.
206. RAF [Internet]. Genetic Home Reference. December 18, 2018. Available from: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/RAF1>.
207. GeneReader NGS System [Internet]. Available from: <https://www.qiagen.com/us/products/ngs/mdx-ngs-generader/>.
208. Nucleic Acid Extraction [Internet]. Available from: <https://www.qiagen.com/us/products/ngs/mdx-ngs-generader/nucleic-acid-extraction/>.
209. Target Enrichment [Internet]. Available from: <https://www.qiagen.com/us/products/ngs/mdx-ngs-generader/target-enrichment-and-targeted-panels/>.
210. Library Preparation [Internet]. Available from: <https://www.qiagen.com/us/products/ngs/mdx-ngs-generader/library-preparation/>.
211. Clonal Amplification [Internet]. Available from: <https://www.qiagen.com/us/products/ngs/mdx-ngs-generader/clonal-amplification/>.
212. Next-Generation Sequencing [Internet]. Available from: <https://www.qiagen.com/us/products/ngs/mdx-ngs-generader/ngs/>.
213. Data Analysis and Interpretation [Internet]. Available from: <https://www.qiagen.com/us/products/ngs/mdx-ngs-generader/data-analysis-and-interpretation/>.
214. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17(5):405-24.
215. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA: A cancer journal for clinicians*. 2015;65(1):5-29.
216. Watanabe M, Shimizu K, Kato H, Imai H, Nakano H, Sugawa M, et al. Carcinosarcoma of the uterus: immunohistochemical and genetic analysis of clonality of one case. *Gynecol Oncol* 2001;82(3):563-7.
217. Abeln EC, Smit VT, Wessels JW, de Leeuw WJ, Cornelisse CJ, Fleuren GJ. Molecular genetic evidence for the conversion hypothesis of the origin of malignant mixed müllerian tumours. *J Pathol* 1997;183(4):424-31.
218. Jin Z, Ogata S, Tamura G, Katayama Y, Fukase M, Yajima M, et al. Carcinosarcomas (malignant müllerian mixed tumors) of the uterus and ovary: a genetic study with special reference to histogenesis. *Int J Gynecol Pathol* 2003;22(4):368-73.

219. Amant F, Cadron I, Fuso L, Berteloot P, de Jonge E, Jacomen G, et al. Endometrial carcinosarcomas have a different prognosis and pattern of spread compared to high-risk epithelial endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2005;98(2):274-80.
220. Kanthan R, Senger J-L. Uterine Carcinosarcomas (Malignant Mixed Müllerian Tumours): A review with special emphasis on the controversies in management. *Obstet Gynecol Int* 2011;2011:13.
221. Kanthan R, Senger J-LB, Diudea D. Malignant mixed mullerian tumors of the uterus: histopathological evaluation of cell cycle and apoptotic regulatory proteins. *World J Surgical Oncol* 2010;8(1):60.
222. Saglam O, Husain S, Toruner G. AKT, EGFR, C-ErbB-2, and C-kit expression in uterine carcinosarcoma. *Int J Gynecol Pathol* 2013;32(5):493-500.
223. Swisher EM, Gown AM, Skelly M, Ek M, Tamimi HK, Cain JM, et al. The expression of epidermal growth factor receptor, HER-2/Neu, p53, and Ki-67 antigen in uterine malignant mixed mesodermal tumors and adenosarcoma. *Gynecol Oncol* 1996;60(1):81-8.
224. Gainor JF, Varghese AM, Ou SH, Kabraji S, Awad MM, Katayama R, et al. ALK rearrangements are mutually exclusive with mutations in EGFR or KRAS: an analysis of 1,683 patients with non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2013;19(15):4273-81.
225. Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, Nomura M, Suzuki M, Wistuba, II, et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. *J Nat Cancer Institute* 2005;97(5):339-46.
226. Shigematsu H, Takahashi T, Nomura M, Majmudar K, Suzuki M, Lee H, et al. Somatic mutations of the HER2 kinase domain in lung adenocarcinomas. *Cancer Res* 2005;65(5):1642-6.
227. Bupathi M, Falchook GS, Hong DS, Subbiah IM, Piha-Paul SA, Karp DD, et al. A phase 1 trial of vandetanib (multikinase inhibitor of EGFR, VEGFR, and RET) in combination with everolimus (mTOR inhibitor) in patients with advanced malignancies. *J Clin Oncol* 2014;32(15):2639.
228. Yang Z, Tchekmedyian N, Chu DT, Reddy G, Bhat G, Socinski MA. A phase 2 study of poziotinib in patients with EGFR or HER2 exon 20 mutation-positive non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2018;36(15):9106.
229. Gazdar AF. Activating and resistance mutations of EGFR in non-small-cell lung cancer: role in clinical response to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Oncogene* 2009;28:24.
230. Graus-Porta D, Beerli RR, Daly JM, Hynes NE. ErbB-2, the preferred heterodimerization partner of all ErbB receptors, is a mediator of lateral signaling. *Embo J* 1997;16(7):1647-55.
231. Owens MA, Horten BC, Da Silva MM. HER2 amplification ratios by fluorescence in situ hybridization and correlation with immunohistochemistry in a cohort of 6556 breast cancer tissues. *Clin Breast Cancer* 2004;5(1):63-9.

232. Tan M, Yu D. Molecular mechanisms of erbB2-mediated breast cancer chemoresistance. *Breast Cancer Chemosensitivity*: Springer; 2007. p. 119-29.
233. Küçükzeybek Y, Bolat Küçükzeybek B, Demir C. HER2 pozitif metastatik meme kanserlerinde trastuzumab içeren kemoterapi ile progresyon sonrasında tedavi seçenekleri. *Van Tıp Derg* 2010;17(4):164-9.
234. Amant F, Vloeberghs V, Woestenborghs H, Debiec-Rychter M, Verbist L, Moerman P, et al. ERBB-2 gene overexpression and amplification in uterine sarcomas. *Gynecol Oncol* 2004;95(3):583-7.
235. Nicoletti R, Lopez S, Bellone S, Cocco E, Schwab CL, Black JD, et al. T-DM1, a novel antibody-drug conjugate, is highly effective against uterine and ovarian carcinosarcomas overexpressing HER2. *Clin Exper Metast* 2015;32(1):29-38.
236. Schwab CL, English DP, Black J, Bellone S, Lopez S, Cocco E, et al. Neratinib shows efficacy in the treatment of HER2 amplified carcinosarcoma in vitro and in vivo. *Gynecol Oncol* 2015;139(1):112-7.
237. Santin AD, Bellone S, Van Stedum S, Bushen W, Palmieri M, Siegel ER, et al. Amplification of c-erbB2 oncogene: a major prognostic indicator in uterine serous papillary carcinoma. *Cancer* 2005;104(7):1391-7.
238. Tai W, Mahato R, Cheng K. The role of HER2 in cancer therapy and targeted drug delivery. *J control Release* 2010;146(3):264-75.
239. Yan M, Parker BA, Schwab R, Kurzrock R. HER2 aberrations in cancer: Implications for therapy. *Cancer Treatment Rev* 2014;40(6):770-80.
240. El-Sahwi K, Bellone S, Cocco E, Cargnelutti M, Casagrande F, Bellone M, et al. In vitro activity of pertuzumab in combination with trastuzumab in uterine serous papillary adenocarcinoma. *British J Cancer* 2010;102(1):134-43.
241. Chui MH, Have C, Hoang LN, Shaw P, Lee CH, Clarke BA. Genomic profiling identifies GPC5 amplification in association with sarcomatous transformation in a subset of uterine carcinosarcomas. *J Pathol Clin Res* 2018;4(1):69-78.
242. Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science* 2002;296(5573):1655-7.
243. Hamilton EP, Wang JS-Z, Falchook G, Jones SF, Cook C, Mugundu G, et al. A phase Ib study of AZD1775 and olaparib combination in patients with refractory solid tumors. *J Clin Oncol* 2016;34(15):5562.
244. Catusus L, Gallardo A, Cuatrecasas M, Prat J. Concomitant PI3K–AKT and p53 alterations in endometrial carcinomas are associated with poor prognosis. *Modern Pathol* 2009;22(4):522.
245. Growdon WB, Roussel BN, Scialabba VL, Foster R, Dias-Santagata D, Iafrate AJ, et al. Tissue-specific signatures of activating PIK3CA and RAS mutations in carcinosarcomas of gynecologic origin. *Gynecol Oncol* 2011;121(1):212-7.

246. Murray S, Linardou H, Mountzios G, Manoloukos M, Markaki S, Eleutherakis-Papaiakovou E, et al. Low frequency of somatic mutations in uterine sarcomas: A molecular analysis and review of the literature. *Mutat Res* 2010;686(1):68-73.
247. Bashir S, Jiang G, Joshi A, Miller C, Jr., Matrai C, Yemelyanova A, et al. Molecular alterations of PIK3CA in uterine carcinosarcoma, clear cell, and serous tumors. *Int J Gynecol Cancer* 2014;24(7):1262-7.
248. Corless CL, Barnett CM, Heinrich MC. Gastrointestinal stromal tumours: origin and molecular oncology. *Nat Rev Cancer* 2011;11(12):865-78.
249. Menczer J, Kravtsov V, Levy T, Berger E, Glezerman M, Avinoach I. Expression of c-kit in uterine carcinosarcoma. *Gynecol Oncol* 2005;96(1):210-5.
250. KAYGUSUZ EI. Uterin karsinosarkomlarda immunohistokimyasal olarak C-KİT ekspresyonunun değerlendirilmesi. *Zeynep Kamil Tıp Bülteni*. 2015;46(4):93-7.
251. Winter III WE, Seidman JD, Krivak TC, Chauhan S, Carlson JW, Rose GS, et al. Clinicopathological analysis of c-kit expression in carcinosarcomas and leiomyosarcomas of the uterine corpus. *Gynecol Oncol* 2003;91(1):3-8.
252. Pylayeva-Gupta Y, Grabocka E, Bar-Sagi D. RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. *Nat Rev Cancer* 2011;11(11):761-74.
253. Adams SF, Hickson JA, Hutto JY, Montag AG, Lengyel E, Yamada SD. PDGFR- α as a potential therapeutic target in uterine sarcomas. *Gynecol Oncol* 2007;104(3):524-8.
254. McDermott U, Sharma SV, Dowell L, Greninger P, Montagut C, Lamb J, et al. Identification of genotype-correlated sensitivity to selective kinase inhibitors by using high-throughput tumor cell line profiling. *Proceed Nat Acad Sci* 2007;104(50):19936-41.

EKLER



Ek 1

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-BAEK 2018/249	
	PROTOKOL ADI	Üterin Karsinosarkomların Moleküler Analizi	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Prof. Dr. Tülin YALTA	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 13/29		Tarih: 07.08.2018
	Fakültemiz Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Tülin YALTA'nın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Araş. Gör. Dr. Ezgi GENÇ ERDOĞAN'ın tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş; araştırmaya ilişkin giderlerin göntüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.		
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-BAEK Yönergesi		

ÜYELER

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ülfet VATANSEVER ÖZBEK Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	K	E H	E H	
Doç. Dr. Rugül KÖSE ÇINAR Başkan Yardımcısı	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağ. ve Has. A.D.	K	E H	E H	
Dr. Öğr. Üyesi Ruhan Deniz TOPUZ Üye	Tıbbi Farmakoloji.	T.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D	K	E H	E H	
Dr. Öğr. Üyesi F. Nesrin TURAN Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. Biyoistatistik A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Hakan GÜRKAN Üye	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Hasan ÜMİT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E H	E H	
Dr. Öğr. Üyesi Oktay KAYA Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	E	E H	E H	
Doç. Dr. Cafer Sadık ZORKUN Üye	Kardiyoloji	T.Ü.T.F. Kardiyoloji A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Muzaffer ESKİOCAK Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Niyazi Cenk SAYIN Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	K	E H	E H	
Prof. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E H	E H	
Avukat Özden İPÇİ Üye		T.Ü. Rektörlüğü	E	E H	E H	
Emekli Öğretmen Sinan SEÇKİN Üye		Serbest Üye	E	E H	E H	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Ahmet TEZEL
Dekan Yard.
Dekan Yrd.

Ek 2

NGS MUTASYON ANALİZ SONUÇLARINI İÇEREN PROGRAM ÇIKTILARI

OLGU 1

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 8581-09_AIT on FFPE_DA_20190126_27 (QIAact) | Tumor Content: 90% | Age: 57 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinosarcoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 2.35% | Disease Prevalence: -

Gene: **EGFR** | Variant: c.1562G>A p.R521K **gain** | Somatic Frequency: 0% | Population Frequency: 53.28% gnomAD (East Asian) | Allele Fraction: 39% (of 721 reads) | Impact: missense | Computed Classification: Tier 3 Uncertain Significance | Carcinosarcoma

Open | < Previous | Next > | Use Classification | View Bibliography

Sort By: Actionability | View: [Grid] [List]

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency
3 EGFR	c.1562G>A p.R521K	gain	Missense	39% (of 721 reads)	0%	53.28% gnomAD (East Asian)
3 EGFR	c.2361G>A p.Q787Q	normal	Synonymous	97% (of 675 reads)	0%	66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish)
3 PDGFRA	c.939T>G p.G313G	normal	Synonymous	49% (of 1577 reads)	0%	41.13% gnomAD (Latino)

Status: To be assessed (15) Assessed

Actionability: Tier 3 (3) Tier 4 (4) Clinical Trials

Pathogenicity: Uncertain Significance Benign Conflicting Criteria

OLGU 2

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 9316-10_AIT on FFPE_DA_20190126_24 (QIAact) | Tumor Content: 95% | Age: 75 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinosarcoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 2.35% | Disease Prevalence: -

Gene: **EGFR** | Variant: c.2361G>A p.Q787Q **normal** | Somatic Frequency: 0% | Population Frequency: 66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish) | Allele Fraction: 96% (of 1451 reads) | Impact: synonymous | Computed Classification: Tier 3 Uncertain Significance | Carcinosarcoma | Previous Assessment: Tier 3 Uncertain Significance for Lymphoma boradenirker@trkaysa.edu.tr Nov 12, 2018

Open | < Previous | Next > | Use Classification | View Bibliography

Sort By: Actionability | View: [Grid] [List]

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency
3 EGFR	c.2361G>A p.Q787Q	normal	Synonymous	96% (of 1451 reads)	0%	66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish)

Status: To be assessed (12) Assessed

Actionability: Tier 3 (3) Tier 4 (4) Clinical Trials

Pathogenicity: Uncertain Significance Benign Conflicting Criteria

OLGU 3

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 8143-11_AIT on FFPE_DA_20190126_21 (QIAact) | Tumor Content: 90% | Age: 81 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinosarcoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 23% | Disease Prevalence: -

Gene: **PIK3CA** | Variant: c.317G>T p.G106V **gain** | Somatic Frequency: 0% | Population Frequency: 0% gnomAD | Allele Fraction: 57% (of 18012 reads) | Impact: missense | Computed Classification: **Tier 2C Pathogenic** Carcinosarcoma

Open | < Previous | Next > | Use Classification | View Bibliography

Sort By: Actionability | View: [Icons]

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency
2C PIK3CA	c.317G>T p.G106V	gain	Missense	57% (of 18012 reads)	0%	0% gnomAD
3 ERBB2	c.1963A>G p.L658V	gain	Missense	80% (of 4559 reads)	0%	25.03% gnomAD (European)

Status
 To be assessed (10)
 Assessed

Actionability
 Tier 2C/2D **2C 2D**
 Tier 3 **3**
 Tier 4 **4**
 Clinical Trials

Pathogenicity
 Pathogenic
 Uncertain Significance
 Benign
 Conflicting Criteria

OLGU 4

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 321-16_AIT on FFPE_DA_20190126_26 (QIAact) | Tumor Content: 90% | Age: 70 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinosarcoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 2.35% | Disease Prevalence: -

Gene: **EGFR** | Variant: c.1562G>A p.R521K **gain** | Somatic Frequency: 0% | Population Frequency: 53.28% gnomAD (East Asian) | Allele Fraction: 37% (of 2005 reads) | Impact: missense | Computed Classification: **Tier 3 Uncertain Significance** Carcinosarcoma

Open | < Previous | Next > | Use Classification | View Bibliography

Sort By: Actionability | View: [Icons]

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency
3 EGFR	c.1562G>A p.R521K	gain	Missense	37% (of 2005 reads)	0%	53.28% gnomAD (East Asian)
3 EGFR	c.2361G>A p.Q787Q	normal	Synonymous	90% (of 937 reads)	0%	66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish)
3 ERBB2	c.1963A>G p.L658V	gain	Missense	48% (of 2717 reads)	0%	25.03% gnomAD (European)
3 KRAS	c.*2505T>G	gain	-	38% (of 4295 reads)	0%	9.27% gnomAD (Ashkenazi Jewish)

Status
 To be assessed (13)
 Assessed

Actionability
 Tier 3 **3**
 Tier 4 **4**
 Clinical Trials

Pathogenicity
 Uncertain Significance
 Benign
 Conflicting Criteria

OLGU 5

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 4946-10_AIT on FFPE_DA_20190126_28 (Q/Aact) | Tumor Content: 90% | Age: 69 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinosarcoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 2.35% | Disease Prevalence: -

Gene: **EGFR** | Variant: c.1562G>A p.R521K **gain** | Somatic Frequency: 0% | Population Frequency: 53.28% gnomAD (East Asian) | Allele Fraction: 38% (of 982 reads) | Impact: missense | Computed Classification: **Tier 3 Uncertain Significance** Carcinosarcoma

Open < Previous Next > Use Classification View Bibliography

Sort By: Actionability View

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency	Status
3 EGFR	c.1562G>A p.R521K gain	gain	Missense	38% (of 982 reads)	0%	53.28% gnomAD (East Asian)	<input checked="" type="checkbox"/> To be assessed (13) <input checked="" type="checkbox"/> Assessed
3 EGFR	c.2361G>A p.Q787Q normal	normal	Synonymous	97% (of 1272 reads)	0%	66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish)	Actionability <input checked="" type="checkbox"/> Tier 3 3 <input checked="" type="checkbox"/> Tier 4 4 <input checked="" type="checkbox"/> Clinical Trials 3

Pathogenicity
 Uncertain Significance
 Benign
 Conflicting Criteria **!**

OLGU 6

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 7425-15_AIT on FFPE_DA_20190126_22 (Q/Aact) | Tumor Content: 90% | Age: 64 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinosarcoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 23% | Disease Prevalence: -

Gene: **PIK3CA** | Variant: c.3127A>G p.M1043V **gain** | Somatic Frequency: 0.31% | Population Frequency: 0% gnomAD | Allele Fraction: 28% (of 5606 reads) | Impact: missense | Computed Classification: **Tier 2C Pathogenic** Carcinosarcoma

Open < Previous Next > Use Classification View Bibliography

Sort By: Actionability View

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency	Status
2C PIK3CA	c.3127A>G p.M1043V gain	gain	Missense	28% (of 5606 reads)	0.31%	0% gnomAD	<input checked="" type="checkbox"/> To be assessed (16) <input checked="" type="checkbox"/> Assessed
3 EGFR	c.1562G>A p.R521K gain	gain	Missense	40% (of 941 reads)	0%	53.28% gnomAD (East Asian)	Actionability <input checked="" type="checkbox"/> Tier 2C2D 2C 2D <input checked="" type="checkbox"/> Tier 3 3 <input checked="" type="checkbox"/> Tier 4 4 <input checked="" type="checkbox"/> Clinical Trials 3
3 EGFR	c.2361G>A p.Q787Q normal	normal	Synonymous	96% (of 1067 reads)	0%	66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish)	Pathogenicity <input checked="" type="checkbox"/> Pathogenic ! <input checked="" type="checkbox"/> Uncertain Significance <input checked="" type="checkbox"/> Likely Benign <input type="checkbox"/> Benign <input type="checkbox"/> Conflicting Criteria !
3 ERBB2	c.1963A>G p.I656V gain	gain	Missense	46% (of 2427 reads)	0%	25.03% gnomAD (European)	
3 ERBB2	c.1963_1964delATinsGC p.I655A loss	loss	Missense	4.88% (of 2461 reads)	-	0% gnomAD	
4 KIT	c.1383A>G p.L461T normal	normal	Synonymous	7.07% (of 7445 reads)	0%	0.58% gnomAD (European)	

OLGU 7

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 721-14_AIT on FFPE_DA_20190126_32 (QIAact) | Tumor Content: 90% | Age: 75 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinosarcoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 16% | Disease Prevalence: -

Gene: KRAS | Variant: c.35G>A p.G12D (gain) | Somatic Frequency: 4.12% | Population Frequency: < 0.001% gnomAD (European) | Allele Fraction: 68% (of 1713 reads) | Impact: missense

Computed Classification: Tier 2C Pathogenic | Previous Assessment: Tier 1A Pathogenic for Lung cancer (borademirhan@trakya.edu.tr, May 25, 2018)

Open | < Previous | Next > | Use Classification | View Bibliography

Sort By: Actionability | View: [Icons]

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency
2C KRAS	c.35G>A p.G12D	gain	Missense	68% (of 1713 reads)	4.12%	<0.001% gnomAD (European)
3 EGFR	c.2361G>A p.Q787Q	normal	Synonymous	44% (of 763 reads)	0%	66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish)

Status: To be assessed (10) | Assessed

Actionability: Tier 2C2D | Tier 3 | Tier 4 | Resistance | Clinical Trials

Pathogenicity: Pathogenic | Uncertain Significance | Benign | Conflicting Criteria

OLGU 8

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 4600-10_AIT on FFPE_DA_20190126_29 (QIAact) | Tumor Content: 90% | Age: 71 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinosarcoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 2.35% | Disease Prevalence: -

Gene: EGFR | Variant: c.1562G>A p.R521K (gain) | Somatic Frequency: 0% | Population Frequency: 53.28% gnomAD (East Asian) | Allele Fraction: 42% (of 1407 reads) | Impact: missense

Computed Classification: Tier 3 Uncertain Significance

Open | < Previous | Next > | Use Classification | View Bibliography

Sort By: Actionability | View: [Icons]

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency
3 EGFR	c.1562G>A p.R521K	gain	Missense	42% (of 1407 reads)	0%	53.28% gnomAD (East Asian)
3 ERBB2	c.1963A>G p.I659V	gain	Missense	42% (of 2881 reads)	0%	25.03% gnomAD (European)

Status: To be assessed (11) | Assessed

Actionability: Tier 3 | Tier 4 | Clinical Trials

Pathogenicity: Uncertain Significance | Benign | Conflicting Criteria

OLGU 9

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 1536-16_AIT on FFPE_DA_20190126_31 (QIAact) | Tumor Content: 95% | Age: 65 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinosarcoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 2.35% | Disease Prevalence: -

Gene: **EGFR** | Variant: c.1562G>A p.R521K (gain) | Somatic Frequency: 0% | Population Frequency: 53.28% gnomAD (East Asian) | Allele Fraction: 37% (of 924 reads) | Impact: missense | Computed Classification: Tier 3 Uncertain Significance | Carcinosarcoma

Open | < Previous | Next > | Use Classification | View Bibliography

Sort By: Actionability | View: [Icons]

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency	Status
3 EGFR	c.1562G>A p.R521K	gain	Missense	37% (of 924 reads)	0%	53.28% gnomAD (East Asian)	<input checked="" type="checkbox"/> To be assessed (14) <input checked="" type="checkbox"/> Assessed
3 EGFR	c.2361G>A p.Q787Q	normal	Synonymous	94% (of 1307 reads)	0%	66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish)	Actionability <input checked="" type="checkbox"/> Tier 3 [3] <input checked="" type="checkbox"/> Tier 4 [4] <input checked="" type="checkbox"/> Clinical Trials [7]
3 PDGFRA	c.939T>G p.G313G	normal	Synonymous	52% (of 2211 reads)	0%	41.13% gnomAD (Latino)	Pathogenicity <input checked="" type="checkbox"/> Uncertain Significance <input type="checkbox"/> Benign <input type="checkbox"/> Conflicting Criteria [7]

OLGU 10

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 434-17_AIT on FFPE_DA_20190126_23 (QIAact) | Tumor Content: 90% | Age: 45 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinosarcoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 2.35% | Disease Prevalence: -

Gene: **EGFR** | Variant: c.2361G>A p.Q787Q (normal) | Somatic Frequency: 0% | Population Frequency: 66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish) | Allele Fraction: 88% (of 1067 reads) | Impact: synonymous | Computed Classification: Tier 3 Uncertain Significance | Carcinosarcoma | Previous Assessment: Tier 3 Uncertain Significance for Lymphoma | borademirkan@trakya.edu.tr | Nov 12, 2018

Open | < Previous | Next > | Use Classification | View Bibliography

Sort By: Actionability | View: [Icons]

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency	Status
3 EGFR	c.2361G>A p.Q787Q	normal	Synonymous	88% (of 1067 reads)	0%	66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish)	<input checked="" type="checkbox"/> To be assessed (11) <input checked="" type="checkbox"/> Assessed

Actionability
 Tier 3 [3]
 Tier 4 [4]
 Clinical Trials [7]

Pathogenicity
 Uncertain Significance
 Benign
 Conflicting Criteria [7]

OLGU 11

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 2991-17_AIT on FFPE_DA_20190126_30 (QIAact) | Tumor Content: 95% | Age: 62 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinosarcoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 0.53% | Disease Prevalence: -

Gene: **KIT** | Variant: c.2394C>T p.I798I (normal) | Somatic Frequency: 0% | Population Frequency: 3.30% ESP (European-American) | Allele Fraction: 7.88% (of 2514 reads) | Impact: synonymous

Computed Classification: **Tier 3 Pathogenic** | Previous Assessment: **Tier 3 Uncertain Significance** for Lung cancer (borademirhan@talya.edu.tr Oct 19, 2018)

Open | < Previous | Next > | Use Classification | View Bibliography

Sort By: Actionability | View: [Grid] [List]

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency
3 KIT	c.2394C>T p.I798I	normal	Synonymous	7.88% (of 2514 reads)	0%	3.30% ESP (European-American)
3 EGFR	c.2361G>A p.Q787Q	normal	Synonymous	55% (of 777 reads)	0%	66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish)
3 ERBB2	c.1953A>G p.R559V	gain	Missense	5.94% (of 5304 reads)	0%	25.03% gnomAD (European)
3 KIT	c.1621A>C p.M541L	gain	Missense	45% (of 1724 reads)	0%	11.19% ESP (European-American)

Status: To be assessed (16) Assessed

Actionability: Tier 3 (3) Tier 4 (4) Clinical Trials

Pathogenicity: Pathogenic Uncertain Significance Benign Conflicting Criteria

OLGU 12

Clinical Insight | Variant List | Variant Detail | Review & Report

Accession ID (Test Product Code): 7703-10_AIT on FFPE_DA_20190126_25 (QIAact) | Tumor Content: 95% | Age: 85 | Sex: Female | Diagnosis: CARCINOSARCOMA

Phenotype: Carcinosarcoma | Age of Onset: - | Gene Prevalence: 2.35% | Disease Prevalence: -

Gene: **EGFR** | Variant: c.2361G>A p.Q787Q (normal) | Somatic Frequency: 0% | Population Frequency: 66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish) | Allele Fraction: 66% (of 542 reads) | Impact: synonymous

Computed Classification: **Tier 3 Uncertain Significance** | Previous Assessment: **Tier 3 Uncertain Significance** for Lymphoma (borademirhan@talya.edu.tr Nov 12, 2018)

Open | < Previous | Next > | Use Classification | View Bibliography

Sort By: Actionability | View: [Grid] [List]

Gene	Alteration	Function	Impact	Allele Fraction	Somatic Frequency	Max Population Frequency
3 EGFR	c.2361G>A p.Q787Q	normal	Synonymous	66% (of 542 reads)	0%	66.89% gnomAD (Ashkenazi Jewish)
3 PDGFRA	c.393T>G p.G313G	normal	Synonymous	63% (of 1709 reads)	0%	41.13% gnomAD (Latino)

Status: To be assessed (13) Assessed

Actionability: Tier 3 (3) Tier 4 (4) Clinical Trials

Pathogenicity: Uncertain Significance Benign Conflicting Criteria