



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PROSTAT KANSERİ OLGULARINDA *KRAS*, *BRAF* VE *PIK3CA*
MUTASYON ANALİZİ VE KLİNİKOPATOLOJİK
PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. ATİKE BAHCIVAN**

**Konuralp Kampüsü
DÜZCE-2020**



T.C.

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**PROSTAT KANSERİ OLGULARINDA *KRAS*, *BRAF* VE *PIK3CA*
MUTASYON ANALİZİ VE KLİNİKOPATOLOJİK
PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. ATİKE BAHÇIVAN

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. MEHMET GAMSIZKAN

Konuralp Kampüsü

DÜZCE-2020

TEŞEKKÜR

Patoloji ihtisasım boyunca her konuda bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, öğrenme ve öğretme sevgisi hiç bitmeyen anabilim dalı başkanımız sevgili hocam Prof.Dr.Binnur Önal'a, tez hazırlığı ve uzmanlık eğitimim boyunca yardım ve desteğini esirgemeyen, yol gösterici tutum ve telkinleri ile mesleki gelişimimde emeği olan hocam ve tez danışmanım Doç.Dr.Mehmet Gamsızkan'a, çalışma disiplini, işindeki özeni ve hekimliğini örnek aldığım hocam Dr.Öğr.Üy.Sinem Coşkun Kantarcıoğlu'na,

Tezimin uygulama aşamasında teknik ve teorik yardımlarını esirgemeyen Biyolog Abdurrahman Demir'e, Moleküler Biyolog Ahmet Varış'a ve Msc Biyolog Hüseyin Karacan'a,

Tezimin istatistik analizini yapan sevgili hocam Doç.Dr.Şengül Cangür'e, klinik verilerin derlenmesi konusunda yardımcı olan Dr.Öğr.Üy.Alpaslan Yüksel'e,

Tezimin uygulamasında ve uzmanlık eğitimim boyunca laboratuvar süreçlerini itina ile yürüten değerli teknisyenlerimiz Asiye Kasapoğlu ve Murat Süzen'e, birlikte çalışmaktan keyif aldığım patoloji laboratuvar ekibinin diğer üyeleri Biyolog Feride Yılmaz, Biyolog Ayşe Pekcan Çelebioğlu ve Teknisyen Beyda Aktepe'ye, arşiv görevlimiz Kübra Kurnaz'a, değerli sekreterimiz Gülçin Şahin'e ve diğer tüm çalışma arkadaşlarıma,

Zorlu asistanlık sürecinde yol arkadaşlarım olan Dr.Aslı Naldemir'e, Dr.Şeyma Büyücek'e ve kısa sürede bizlere uyum sağlayan Dr.Ayşegül Ceyhan'a,

Beni yetiştiren, destek ve güvenlerini her an hissettiğim, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim çok kıymetli aileme teşekkür ederim.

ÖZET

Amaç: Prostat kanseri (PKa), dünyada erkeklerde en sık görülen kanserlerdendir ve kanser mortalitesinde beşinci sıradadır. *KRAS*, *BRAF* vb. hedeflerin mutasyonlarıyla RAS/RAF/MAPK yolu aktivasyonunun, çeşitli malignitelere neden olduğu bilinmektedir. Ayrıca fosfotidilinozitol-3-kinaz (PI3K) sinyal yolağı, kanserde regülasyonu sık bozulan yollardan biridir. Çalışmamızda; bölümümüzde tanı alan 24 prostatik asiner adenokarsinom olgusunda *BRAF*, *KRAS*, *PIK3CA* genlerindeki mutasyon oranlarını ve klinikopatolojik özelliklerle ilişkilerini araştırdık.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ABD’de 2012-2018 yılları arasında PKa tanısı alan 24 ardışık prostatektomi olgusu dâhil edilmiştir. Olgular Gleason skoru düşük ve yüksek olarak iki gruba ayrılmıştır. Tüm olguların prostatektomi materyallerine ait formalin fikse parafine gömülü (FFPG) bloklarından mikroyarray hibridizasyon yöntemi ile mutasyon analizi yapılmıştır. Mutasyon sıklıkları, hastaların demografik, histopatolojik ve klinik bulgularıyla karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Olguların 3/24 (%12.5)’ünde *KRAS* mutasyonu (G12S, G12D-G12S, Q12R) saptanmış olup, hiçbirinde *BRAF* ve *PIK3CA* mutasyonları gözlenmemiştir. Gruplar arasında *KRAS* mutasyon sıklığı açısından anlamlı fark bulunmamıştır. *KRAS* mutasyon pozitifliği ile yaş ($p=0.240$), preop PSA ($p=0.085$), Gleason skoru ($p=0.075$), pT ($p=0.250$), AJCC evre ($p=0.050$), lenf nodu metastazı ($p=0.999$), uzak metastaz ($p=0.999$), vasküler invazyon ($p=0.999$), perinöral invazyon ($p=0.550$), periprostatik yayılım ($p=0.530$), seminal vezikül invazyonu ($p=0.546$), cerrahi sınır pozitifliği ($p=0.550$), biyokimyasal rekürrens ($p=0.999$) ve aile öyküsü ($p=0.209$) arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Tartışma: Çalışmamızda *KRAS* mutasyon sıklığı oranlarımız (%12.5), Asya popülasyonlarında yapılan çalışmalar ile benzerdir (Kore: %7.3, Çin: %9.1, İran: %5.7). Türkiye’de yapılan farklı iki çalışmada PKa’da *KRAS* mutasyon sıklığı %8.8 ve %40 oranında bildirilmiştir. Literatürde *BRAF* ve *PIK3CA* mutasyon sıklıkları, çalışmamızla (%0) uyumlu olarak sırasıyla %0-15 ve %0-10,4 aralığında bildirilmiştir.

ABSTRACT

Aim: Prostate cancer (PCa) is one of the most common cancers in men in the world and the fifth cause of cancer-related deaths. It is known that activation of the RAS/RAF/MAPK pathway causes various malignancies by mutations such as *KRAS*, *BRAF*, etc. In addition, the phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) signaling pathway is one of the commonly deregulated pathways in cancer. In our study; we aimed to investigate the mutation rates of *BRAF*, *KRAS*, *PIK3CA* genes in 24 prostatic acinar adenocarcinoma cases diagnosed in our department and evaluate the mutation status' correlation with the clinicopathological characteristics of the patients.

Material and Method: In this study, 24 consecutive prostatectomy cases diagnosed with PCa in Düzce University Faculty of Medicine, Department of Pathology between 2012-2018 were included. The cases were divided into two groups based on low and high Gleason scores. Mutation analysis was performed by microarray hybridization method from formalin-fixed paraffin-embedded (FFPG) blocks of prostatectomy materials of all cases. Mutation frequencies were compared with the demographic, histopathological, and clinical findings of the patients.

Results: *KRAS* mutation (G12S, G12D-G12S, Q12R) was detected in 3/24 (12.5%) of the cases, and *BRAF* and *PIK3CA* mutations were not observed in any of them. There was no significant difference between the groups in terms of *KRAS* mutation frequency. There was no significant correlation between *KRAS* mutation vs age ($p = 0.240$), preop PSA ($p = 0.085$), Gleason score ($p = 0.075$), pT ($p = 0.250$), AJCC stage ($p = 0.050$), lymph node metastasis ($p = 0.999$), distant metastasis ($p = 0.999$), vascular invasion ($p = 0.999$), perineural invasion ($p = 0.550$), periprostic spread ($p = 0.530$), seminal vesicle invasion ($p = 0.546$), surgical margin positivity ($p = 0.550$), biochemical recurrence ($p = 0.999$) and family history ($p = 0.209$).

Discussion: The *KRAS* mutation frequency rate (12.5%) in our study is similar to those in Asian populations (Korea: 7.3%, China: 9.1, Iran: 5.7). In Turkey, two different studies have reported 8.8% and 40% frequency of *KRAS* mutation in PCa. In the literature, *BRAF* and *PIK3CA* mutation frequencies have been reported in the range of 0-15% and 0-10.4%, respectively, consistent with our study (0%).

Conclusion: This study is the first report analyzing *BRAF* and *PIK3CA* mutations while the third report indicating *KRAS* mutation in PCa from Turkey. In order to more clearly determine the role of these mutations in PCa and to develop treatment approaches, studies are needed in large series with patient of predominantly advanced stage.

Keywords: Prostate cancer, *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*



İÇİNDEKİLER

Sayfalar

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Prostat Bezinin Embriyolojisi.....	3
2.2. Prostat Bezinin Anatomisi.....	3
2.2.1. Prostat bezinin zonal anatomisi.....	4
2.3. Prostat Bezinin Histolojisi	5
2.4. Prostat Kanseri.....	6
2.4.1. Epidemiyoloji.....	6
2.4.2. Etiyoloji.....	8
2.4.3. Klinik özellikler ve tanı.....	10
2.4.4. Prostat kanserinin öncü lezyonları.....	11
2.4.5. Prostat kanserlerinin histolojik sınıflaması	12
2.4.6. Prostat kanserinin mikroskopisi.....	14
2.4.6.1. Histolojik varyantlar.....	16
2.4.7. Tedavi.....	17
2.4.8. Gleason derecelendirmesi.....	18
2.4.9. Patolojik evre.....	20
2.5. Hücresel Sinyal İletim Yolakları-Karsinogenez.....	21
2.6. <i>KRAS</i> ve Prostat Kanseri.....	23
2.7. <i>BRAF</i> ve Prostat Kanseri.....	25
2.8. <i>PIK3CA</i> ve Prostat Kanseri.....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28

3.1. Etik Kurul.....	28
3.2. Olguların Seçilmesi.....	28
3.3. Moleküler Yöntem.....	29
3.3.1 Mutasyonların saptanması.....	29
3.4. İstatistiksel Analiz.....	32
4. BULGULAR.....	33
5. TARTIŞMA.....	39
6. SONUÇLAR	53
7. KAYNAKLAR.....	54



SİMGELER VE KISALTMALAR

AD :	Androjen Deprivasyonu
AJCC :	American Joint Committee on Cancer
AL :	Lysis Buffer
ATL :	Tissue Lysis Buffer
AW1 :	Wash Buffer 1
AW2 :	Wash Buffer 2
AMACR :	Alfa-Metil Açıl Koenzim-A Rasemaz
BPH :	Benign Prostat Hiperplazisi
DRM :	Dijital Rektal Muayene
DSÖ :	Dünya Sağlık Örgütü
FDA :	Food and Drug Administration
GS-D :	Gleason Skoru Düşük
GS-Y :	Gleason Skoru Yüksek
H&E :	Hematoksilen-Eozin
HMWCK :	Yüksek Moleküler Ağırlıklı Sitokeratin
HT :	Hormonoterapi
ISUP :	International Society of Urologic Pathology
İHK :	İmmünohistokimya
KT :	Kemoterapi
ÖBV :	Önemi Bilinmeyen Varyant
PİN :	Prostatik İntraepitelyal Neoplazi
PKa :	Prostat Kanseri
PSA :	Prostat Spesifik Antijen (PSA)
PSAP :	Prostatik Asit Fosfataz (PSAP)
RP :	Radikal Prostatektomi
RT :	Radyoterapi
YNS :	Yeni Nesil Sekanlama

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Mc Neal tarafından tanımlanan prostat bezinin zonal anatomisi

Şekil 2: 2018 yılında tüm dünyada erkeklerde en sık görülen 10 kanserde yeni vaka sayılarının dağılımı

Şekil 3: 2018 yılında tüm dünyada erkeklerde en sık görülen 10 kanser ile ilişkili ölümlerin dağılımı

Şekil 4: Son 5 yılda Türkiye’de erkeklerde görülen kanserlerin insidans ve prevalansı

Şekil 5: 2018 yılında Türkiye’de erkeklerde en sık görülen 10 kanser ile ilişkili ölümlerin dağılımı

Şekil 6: Prostatik asiner adenokarsinom. A) Bazal hücre tabakası izlenmeyen, lümende kristaloid yapılar içeren kalabalık neoplastik gland kümeleri, H&E x100 B) Belirgin nükleollü lümenlerinde mavi müsinöz sekretin izlendiği küçük düzensiz kümeler, H&E x200

Şekil 7: Dr.Donald Gleason’un orijinal Gleason değerlendirilmesi (sol) ve International Society of Urologic Pathology (ISUP) modifiye Gleason derecelendirmesi şematik diyagramı

Şekil 8: Hücrede sinyal iletim yolları

Şekil 9: *KRAS* geninin kromozom 12 üzerindeki lokalizasyonu

Şekil 10: Olguların seçilmesi

Şekil 11: A) Parafin bloktan tümöral dokunun makrodiseksiyonla ayrılması. B) Parafine gömülü tümöral dokuların deparafinizasyon işlemi

Şekil 12: ‘Evidence Investigator (Randox)’ ile analiz edilen *KRAS*, *BRAF* ve *PIK3CA* mutasyonları

Şekil 13: PKa olgularının Gleason skor dağılımı

Şekil 14: GS-D ve GS-Y grupların pT’ye göre dağılımı

Şekil 15: PKa olgularının evreye (AJCC) göre dağılımı

Şekil 16: GS-D ve GS-Y gruplara göre klinikopatolojik özelliklerin dağılımı

Şekil 17: Tespit edilen *KRAS* mutasyonlarının kodonlara göre dağılımı

Şekil 18. Olguların *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA* mutasyon dağılımı

Şekil 19: A) Gleason skoru 3+3 olan PKa olgumuz, H&E x200. B) Gleason derece 4'lük komponent H&E x100. C) Gleason derece 4'lük komponentte perinöral invazyon H&E x100. D) Gleason skoru 5'lik komponentte perinöral invazyon ve ekstraprostatik yayılım H&E x200



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Prostatik intraepitelyal neoplazi (PİN) tanısal kriterleri.

Tablo 2: DSÖ 2016'ya göre prostatik tümörlerin histopatolojik sınıflaması.

Tablo 3: Dünya Sağlık Örgütü 2016 Gleason Grup Derece sistemi.

Tablo 4: AJCC 2018 8. edisyon prostat kanseri patolojik pTNM evrelemesi.

Tablo 5: Çeşitli kanser tiplerinde KRAS mutasyon sıklıkları.

Tablo 6: Gruplara göre ve toplam pT, AJCC evre, lenf nodu metastazı, uzak metastaz görülme durumları.

Tablo 7: Gruplara göre ve toplam olgulardaki vasküler invazyon, perinöral invazyon, periprostatik yayılım, seminal vezikül invazyonu, cerrahi sınır durumları.

Tablo 8: Gleason skorlarına göre *KRAS*, *BRAF* ve *PIK3CA* mutasyon saptanma durumları.

Tablo 9: Literatürde insan PKa dokularında tespit edilen *KRAS*, *BRAF* ve *PIK3CA* mutasyonlarına ait oranlar, pozitif bulunan kodonlar/aminoasit değişiklikleri ve analiz yöntemler.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Prostat kanseri (PKa), Türkiye’de ve dünyada melanom dışı deri kanserleri haricinde erkek cinsiyette görülen ikinci en yaygın malignitedir. Dünya genelinde kanser nedenli ölümlerde beşinci sırada olup tüm dünya için önemli bir halk sağlığı problemidir (1). PKa’nın tamamına yakını (%95) prostatik adenokarsinomlardır (2). Erken evre PKa, androjen ablasyon tedavisi ile etkin bir şekilde tedavi edilebilmesine rağmen, ileri evrelerde hastalık androjenden bağımsız bir duruma dönüşmekte ve metastaz-rekürrens riski artmaktadır. Bu nedenle, yeni tedavi alanları oluşturmak için PKa gelişimi ile ilgili moleküler yolların daha iyi anlaşılmasına ihtiyaç vardır.

Günümüzde yenilikçi onkolojik tedavi yaklaşımları, büyük oranda büyüme faktörü reseptörlerini ve bunlarla ilgili sinyal iletim yollarını inhibe etme esasına dayanmaktadır. KRAS/BRAF/MEK/ERK ve PI3K/AKT/mTOR yolakları, hücre içi sinyal iletiminde en önemli mekanizmalar olup bu yollara ait farklı aşamalardaki molekül ve genler kanser patogeneğinde hedef olarak gösterilmişlerdir. Bu bağlamda *BRAF*, *KRAS* ve *PIK3CA* genlerine ait mutasyonlar çeşitli kanser türlerinde değişen sıklıklarda tanımlanmıştır (3-6). BRAF ve PI3K inhibitörleri tedavi şemalarında çeşitli aşamalarda yerini almış olup KRAS için farklı klinik ve laboratuvar faz çalışmaları halen devam etmektedir (7-9). PKa’da şimdiye kadar onaylanmış herhangi bir hedefe yönelik gen tedavisi bulunmamaktadır (10). Yapılan çalışmalarda *KRAS* mutasyonu PKa’da en fazla %40’a kadar, *BRAF* mutasyonu %15’e kadar ulaşan sıklıklarda bildirilmiştir (11-59). PI3K/AKT sinyal yolağı PKa’da sık etkilenen bir yolaktır. Bu yolaktaki bozukluklar *PIK3CA* mutasyonu, *PIK3CA* amplifikasyonu, *PTEN* delesyonları gibi farklı aşamalardan kaynaklanabilmektedir. *PIK3CA* mutasyonunun sorumlu olduğu dilim PKa’ların en fazla %10.4’ünde bildirilmiştir (25,27,29,34,38-48,53,60-72).

Türkiye’de PKa’da *BRAF*, *KRAS* ve *PIK3CA* mutasyon sıklıklarını eşzamanlı analiz eden çalışma yoktur. Bu çalışmanın amacı, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı’nda PKa tanısı almış olgularda *BRAF*, *KRAS* ve *PIK3CA* mutasyon sıklıklarını incelemek, Gleason skoru düşük ve yüksek gruplar arasında kıyaslama yapmak ve klinikopatolojik özelliklerle ilişkilerini değerlendirmektir. KRAS/BRAF/PIK3CA (KBP) Arrays kullanılarak, *KRAS* (G12A, G12R, G12D,

G12C, G12S, G12V, G13D, G13C, G13R, Q61K, Q61L, Q61R, Q61H1, Q61H2, A146T, A146P), *BRAF* (V600E) ve *PIK3CA* (E542K, E545K, H1047R) genleri üzerindeki 20 farklı nokta mutasyonu aynı anda analiz edilmiştir. Böylece, PKa'nın moleküler temelini aydınlatmak ve progresyon gösteren PKa olgularında standart tedaviye alternatif olarak yeni hedef tedavi olanakları ile bireyselleştirilmiş tıpta yeni seçeneklere ışık tutmak amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Prostat Bezinin Embriyolojisi

Prostatın oluşumu embriyonal dönemin üçüncü ayına denk gelir. Prostat glandı, primitif ürogenital sinüsün posteriorundaki epitelyal tomurcukların mezenkime göç etmesiyle oluşur (73). Mezenkime invajine olan basit tübüler yapılar, on birinci hafta sonunda beş grup halinde gelişir ve ürogenital sinüs etrafında farklılaşan mezenkimal hücrelerle birleşir. Temelde oluşan beş prostatik lob (anterior, posterior, median ve iki lateral lob), daha sonra aralarında septa içermeksizin birleşir. Yenidoğan döneminden puberteye kadar boyutta bariz artış görülmemekle birlikte duktus oluşumu ile solid epitelyal hücre artışı sürekli devam eder. Puberteden sonra androjenik etkiyle prostat gelişimi hız kazanır ve 20 yaşında 18-20 gr ağırlık ve 3 cm çap ile erişkin formuna ulaşır (74-75).

2.2 Prostat Bezinin Anatomisi

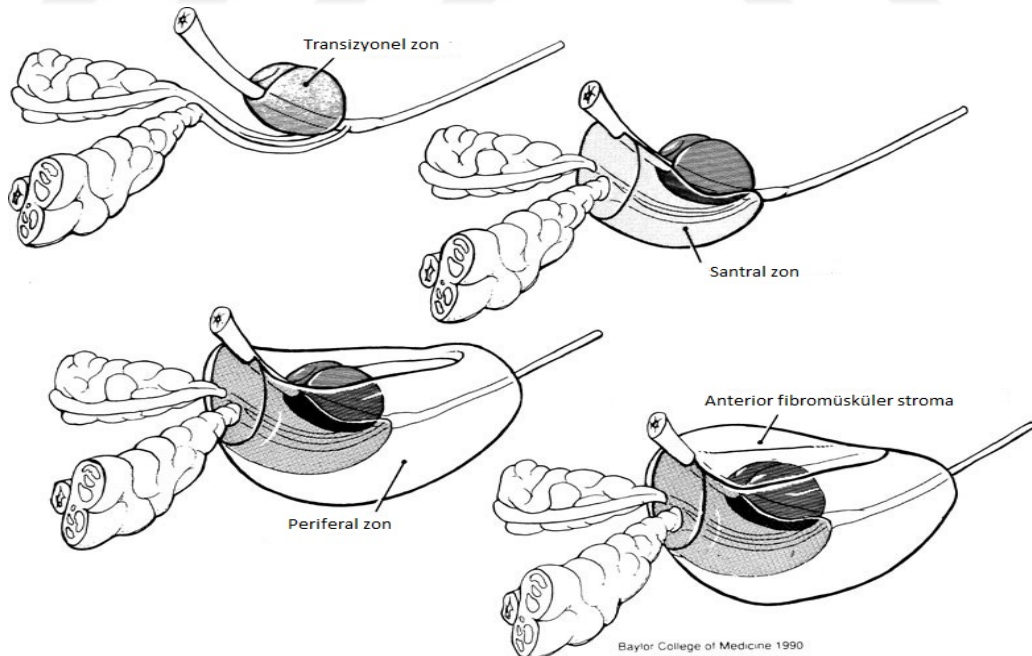
Prostat bezi, derin pelvis yerleşimli, glandüler ve fibromusküler bir organdır. Pelvik diyafram ve periton boşluğunun arasındaki subperitoneal bölümde bulunur. Süperiordan mesane ile inferior kısımdan ise membranöz üretra ile bağlantı halindedir. Simfizis pubisin posteriorunda, rektumun anteriorunda konumlanan prostatın rektum ile olan komşuluğu, dijital palpasyon ile fizik muayenesine imkân verir. Genç bir erişkinde ortalama 20 ml hacminde, 3 cm yüksekliğinde, 4 cm genişliğinde, 2.5 cm kalınlığındadır (76,77). Prostatın mesane ile komşulukta olan superior kısmı “taban (bazis)’ı; ürogenital diyaframın üst yüzeyi ile komşulukta olan inferior kısmı ise “apeks’’i oluşturur. Prostat bezinin dört yüzü mevcuttur. Bunlar; anterior, posterior ve çift taraflı inferolateral yüzlerdir. Posterior yüz rektumla komşuluk halindedir ve aralarında Denonvillier’s fasyası bulunur. Denonvillier’s fasyası, prostat ve seminal veziküllerin arka yüzü ile rektum ön yüzü arasında olup, PKa’nin yayılımını posteriorda engelleyen bir bariyer gibidir (76,78). Prostat bezi içinden geçen iki yapı mevcuttur. Bunlar sağ-sol ejakülatuar kanallar ve üretradır. Üretra; mesane boynundan prostata girer ve apekte prostattan ayrılır. Ejakülatuar kanallar ise prostata üst posterior kısımdan girer ve prostat içinde inferomediale doğru ilerleyip verumontanumda üretraya açılırlar (76).

2.2.1.Prostat bezinin zonal anatomisi

1968’de, John E. McNeal tarafından yapılan anatomik ve histolojik çalışmalar neticesinde, prostatın gland ve kanal yapılarına dayanarak oluşturulan zonal sınıflama öne sürülmüştür (79). Kabul gören ve halen kullanılan bu sınıflamaya göre, prostatın glandüler elemanları santral zon, periferik zon ve transizyonel zon olarak üçe, glandüler olmayan elemanları ise anterior fibromusküler stroma ve preprostatik sfinkter olarak ikiye ayrılmıştır (Şekil 1).

1-Transizyonel zon: Proksimal ve distal üretranın birleştiği alanda bulunan benign prostat hiperplazisinin (BPH) köken aldığı zondur. Tüm prostatik dokunun yaklaşık %5’ini oluşturur ve ilerleyen yaşla birlikte kapladığı alan artar.

2-Santral zon: Prostat bazal tarafta üretrayı çevreleyen, Wolffian kanalından köken aldığı düşünülen piramidal biçimli zondur. Prostatın yaklaşık %25’ini oluşturur. Santral zon, ürogenital sinüsten köken alan diğer zonlardan yapısal ve immünohistokimyasal (İHK) olarak farklılık gösterir. Bu nedenle santral zonda, başka bir Wolffian türevi yapı olan seminal veziküllere benzer şekilde PKa gelişme riski çok düşüktür.



Şekil 1. Mc Neal tarafından tanımlanan prostat bezinin zonal anatomisi (80).

3-Periferik zon: Prostat hacminin en büyük kısmını oluşturan zondur ve bez yapılarının %75’i bu zonda yer alır. Prostat apikal, posterior ve lateral kısımları bu zon

tarafından oluşturulur. Prostat adenokanserlerinin %70 kadarı periferal zondan gelişmektedir. Ayrıca kronik prostatitten de en fazla etkilenen zondur.

4-Anterior fibromusküler stroma: Anterior kısımda yer alıp prostatın % 30'luk bölümünü oluşturur. Tamamen fibromusküler elemanlardan oluşup glandüler yapı bulundurmaz. Mesane boynundan itibaren prostatik üretranın anterior yarısını tamamen sarar ve bu alanda bir sfinkter oluşturur.

5-Preprostatik sfinkter: Prostatik üretrayı tamamen saran, glandüler oluşum içermeyen yapıdır. Retrograd ejakülasyonun önlenmesinde rolü olduğu düşünülmektedir (76,78-79).

2.3.Prostat Bezinin Histolojisi

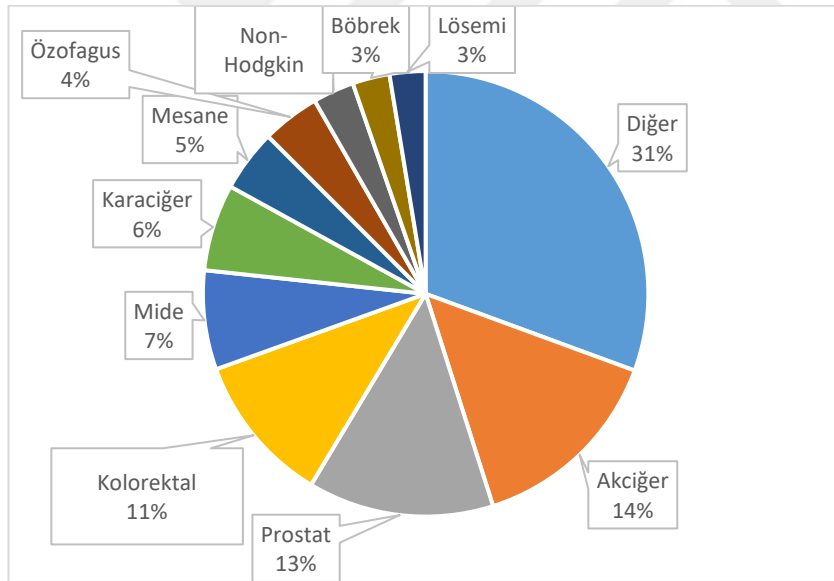
Prostat bezi, kas ve bağ dokudan meydana gelen fibromusküler bir stroma ve stroma ile iç içe olan glandüler komponentlerden oluşur. Glandüler komponenti oluşturan, sayıları 30-50 arasındaki tubuloalveolar yapılar, ekskretuar kanallar aracılığıyla prostatik üretraya açılırlar (81). Üretra yakınındaki ana kanallar hariç prostatın bütün zonlarında tüm duktal-asiner sistem, kolumnar sekretuar hücrelerle döşelidir. Bu sekretuar hücreler küçük berrak vakuoller içeren abondan sitoplazmalı kolumnar hücrelerdir. İmmünohistokimyasal (İHK) olarak bu hücreler prostat spesifik antijen (PSA) ve prostatik asit fosfataz (PSAP) ile sitoplazmik granüler pozitiflik gösterir (82).

Prostatik glandüler hücreler, diğer glandüler organlarda olduğu gibi, bazal hücre tabakası ile bazal membran ve stromadan ayrılır. Bazal hücreler tipik olarak bazal membrana paralel olarak uzanan, dar-koyu nükleuslu, minimal sitoplazmalı hücrelerdir. Prostat bezinin bazal hücreleri, memeninkine benzer miyoepitelyal hücre değildir, çünkü kas filamanı bulundurmazlar. Bu hücreler yüksek moleküler ağırlıklı sitokeratin (HMWCK) ve/veya p63 antikorları ile İHK'sal olarak pozitif boyanırlar. Malign glandlarda bu belirteçler negatiftir. Prostatta bulunan diğer iki epitelyal hücre tipi ise; ekskretuar kanalları ve üretrayı döşeyen transizyonel epitel ile nöroendokrin hücrelerdir (81-83).

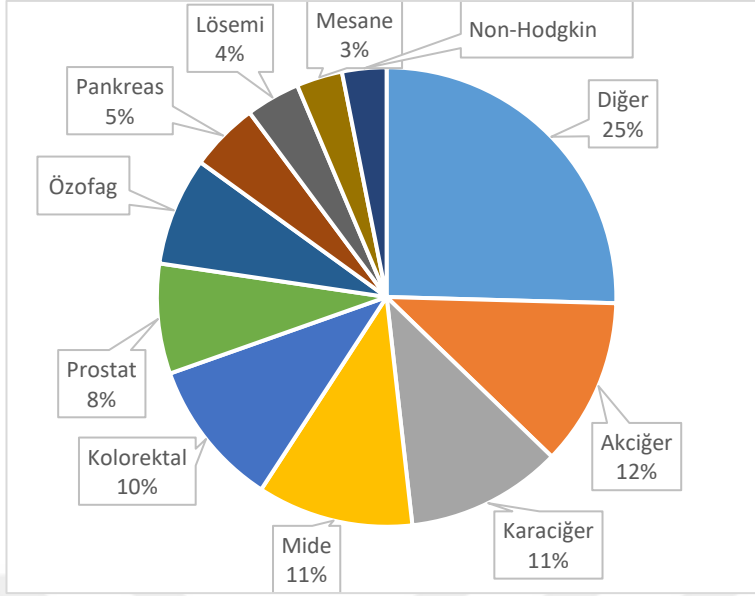
2.4. Prostat Kanseri

2.4.1. Epidemiyoloji

PKa, ülkemizde ve dünyada prevalansı en yüksek kanser türlerinden biridir. Dünya genelinde bakıldığında, erkeklerde kanser nedenli ölümlerde beşinci sırada bulunmaktadır. Bu neoplazmın insidansı farklı ırklar ve bölgeler arasında oldukça değişkendir. Avustralya, Yeni Zelanda ve Avrupa ülkeleri en yüksek insidanslı ülkelerken, en düşük insidans Asya, Afrika ve bazı Orta Doğu ülkelerinde görülür. Bu değişkenlikte hem çevresel hem de genetik faktörlerin rolü olduğu düşünülmektedir (84-85). 2018 GLOBOCAN kanser istatistikleri tahmini verilerine göre PKa, Amerika Birleşik Devletleri'nde erkek cinsiyette en sık rastlanan malignite olup kansere bağlı ölümlerde akciğer kanserinin takiben ikinci sırada yer almaktadır (1). Tüm dünyada, 2018 yılında erkek cinsiyette yaşa standardize insidansta akciğerden sonra ikinci, mortalitede ise beşinci sırada bulunmaktadır (Şekil 2 ve Şekil 3).

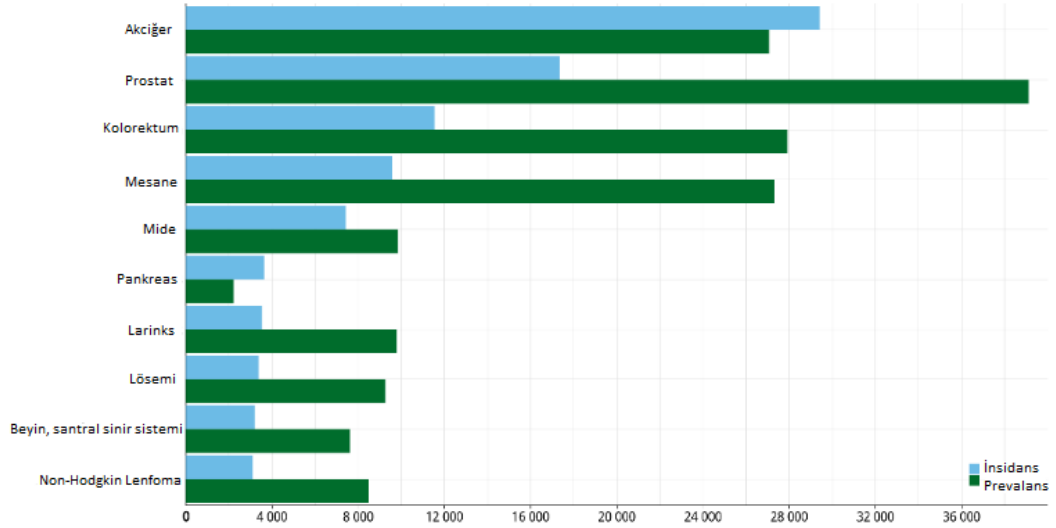


Şekil 2. 2018 yılında tüm dünyada erkeklerde en sık görülen 10 kanserde yeni vaka sayılarının dağılımı (1).

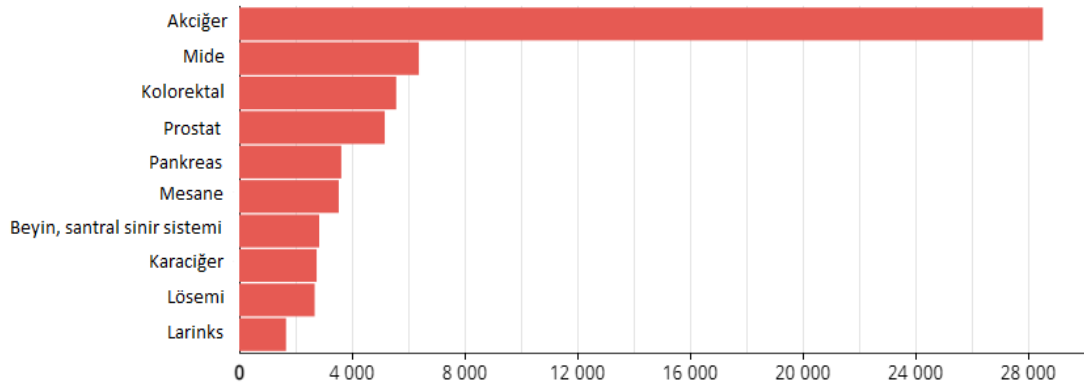


Şekil 3. 2018 yılında tüm dünyada erkeklerde en sık görülen 10 kanser ile ilişkili ölümlerin dağılımı (1).

Ayrıca ülkemizde Sağlık Bakanlığı 2015 Türkiye birleşik veri tabanı kanser istatistikleri raporuna göre, PKa, erkeklerde ikinci sıklıkta görülen malignitedir (86). GLOBOCAN 2018 tahmini verilerine göre de, ülkemizde erkeklerde son 5 yılda PKa insidansı ikinci sıradaki yerini korumakla birlikte prevalansı en yüksek kanser olarak görülmektedir (Şekil 4).



Şekil 4. Son 5 yılda Türkiye’de erkeklerde görülen kanserlerin insidans ve prevalansı (1).



Şekil 5. 2018 yılında Türkiye’de erkeklerde en sık görülen 10 kanser ile ilişkili ölümlerin dağılımı (1).

PKa’nın tipik görülme yaşı 60 ve üzeri olup vakaların yalnızca %1’i 50 yaşın altındadır. Tüm prostat malignitelerinin %95’e yakını prostat epitelinden köken alan prostatik adenokarsinomlar oluşturmaktadır (2).

2.4.2. Etiyoloji

PKa’nın etiyolojisi, çok sayıda çalışmanın konusu olmuştur ve diğer yaygın kanserlere kıyasla büyük ölçüde bilinmemektedir. PKa temel risk faktörleri ileri yaş, etnik köken, genetik faktörler ve aile öyküsüdür. PKa ile ilişkilendirilen diğer faktörler arasında diyet (doymuş hayvansal yağ ve kırmızı et tüketiminde artış, meyve, sebze, vitamin ve kahvenin daha az tüketimi), obezite ve fiziksel inaktivite, hiperglisemi, enfeksiyonlar, inflamasyon, çeşitli kimyasallar ve iyonize radyasyona çevresel maruziyet sayılabilir.

- **Yaş:** İlerleyen yaşla birlikte PKa insidansı artar. PKa’ların büyük çoğunluğu 60 yaş üzeri erkeklerde görülmekte olup ortalama tanı yaşı 68’dir. PKa 45 yaşından küçük erkeklerde çok nadirdir, ancak bu yaş grubunda meydana geldiğinde daha agresif seyredebilir. Ailede PKa öyküsü olmayan beyaz erkeklerde 50 yaşından sonra, siyahi erkekler ve ailede PKa öyküsü olan beyaz erkeklerde ise 40 yaşından sonra PKa riskinin arttığı gözlenmiştir (87). Ayrıca, Kuzey Amerika’da yapılan bir çalışmada PKa dışındaki nedenlerle ölen 50 yaş üzerindeki erkeklerin yaklaşık %30’unda otopside PKa histolojik kanıtlarının bulunduğu bildirilmiştir (88).
- **Etnik köken-Coğrafi farklılıklar:** PKa prevalansı farklı ırk ve coğrafi gruplar arasında büyük değişkenlik göstermektedir. Yaş standardize insidansa göre en

yüksek hastalık oranı Okyanusya bölgesi, Kuzey Amerika ve Avrupa’da iken, en düşük oran Afrika ve Asya’dadır. Etnik köken olarak Afro-Amerikan erkeklerde PKa insidansı, beyaz erkeklere kıyasla çok daha yüksektir. Ayrıca diğer ırk ve etnik gruplarla kıyaslandığında daha erken hastalık riski ve daha agresif hastalık seyri göstermektedirler (89-90). Farklı ülkelerdeki siyahi erkekler arasındaki insidans farkı, PKa etiolojisinde diyet ve sosyoekonomik durum gibi çevresel faktörlerin de önemli bir rol oynadığını göstermiştir (91). Bunun yanında Batı ülkelerindeki yüksek insidansın sebebinin, hastalık tespit oranlarının ve sağlık hizmetlerine erişimin gelişmiş ülkelerde daha yüksek olmasından kaynaklanabileceği de ileri sürülmüştür.

- *Ailesel ve genetik yatkınlık:* PKa riski, birinci derece akrabasında PKa olan bireylerde 2 kat; iki ya da daha fazla birinci derece akrabasında PKa olan bireylerde ise 5-11 kat artmaktadır. Bu risk, etkilenen bireylerin tanı yaşı düştükçe artış gösterir (92). Gen bağlantı çalışmaları, PKa için yüksek duyarlılıkta yedi farklı lokustaki genler üzerinde yoğunlaşmıştır. *HPC1* geni ile anılan kromozom 1q24-25, *HPC2/ELAC2* geni ile anılan kromozom 17p11 ve *MSR1* geni ile anılan kromozom 8p22 ailesel geçişli PKa’da en çok üzerinde durulan gen loküsleridir (89,93). Ayrıca, *BRCA2* mutasyonlarının daha yüksek PKa insidansı ile korele olduğu gösterilmiştir (94).
- *Hormonal faktörler:* Prostat bezinin büyüme ve diferansiasyonu androjenlerin etkisi altındadır. Androjenler, tümöral hücrelerde androjen reseptörleri aracılığıyla transkripsiyonu hızlandırarak PKa’nın progresyonunda rol oynar. Yapılan bir çalışmada prepubertal dönemde kastrasyon yapılan bireylerde PKa gelişmediği gözlenmiştir (95).
- *Diyet:* Epidemiyolojik çalışmalarda PKa etiolojisinde bazı diyetel faktörler öne sürülmüştür. Özellikle doymuş hayvansal yağ, kırmızı et ve yüksek kalsiyum içerikli beslenme ile PKa arasında pozitif korelasyon bildirilmiştir. Yüksek yağ içerikli beslenme; androjen ve östrojenlerin sentezini ve biyoyararlanımlarını artırarak PKa riskinde artışa yol açar. Ayrıca yapılan epidemiyolojik çalışmalara göre omega-3’ten zengin balık-balık yağı, likopen’den zengin domates ve Brassica cinsi sebze (brokoli, karnabahar vd.)

ağırlıklı beslenmenin azalmış PKa riskiyle ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (89,96).

- *Diğer:* İleri ve agresif PKa ile bağlantılı olan bir diğer faktör obezitedir. Obezite, özellikle fiziksel hareketsizlikle birlikte insülin direnci gelişmesine yol açar. Bu da kronik olarak yüksek kan insülin seviyeleriyle sonuçlanır. Kanda sürekli yüksek olan insülin, büyümeyi ve proliferasyonu uyarıcı etkisiyle PKa başlangıcında ve/veya progresyonunda itici bir güç olarak rol alır (97). Bunun dışında HSV Tip-II, CMV ve SV-40 gibi bazı virüsler, oksidatif stres, kronik inflamasyon, kadmiyum maruziyeti ve sigara, PKa etiyolojisinde rol aldığı düşünülen diğer faktörlerdir (96,98-99).

2.4.3.Klinik özellikler ve tanı

PKa, sıklıkla prostatın periferik zonunda küçük multifokal odaklar halinde gelişir. Bu nedenle erken evrelerde çoğunlukla asemptomatiktir. Mikroskopik PKa'lar, genellikle otopsilerde veya BPH gibi endikasyonlarla rezeke edilen prostat dokularında tesadüfi olarak saptanır. Erken evre PKa, klinik olarak serum PSA düzeyleri ve/veya anormal dijital rektal muayene (DRM) bulgularıyla kuşku uyandırabilir. DRM, PKa'ya duyarlı ya da özgül değildir. PSA ile tespit edilen PKa'ların %25-50 kadarı DRM'de bulgu vermemektedir. Ayrıca BPH ve inflamasyon gibi durumlarda DRM'de anormallik saptanması mümkündür. DRM ile saptanabilen PKa'ların, serum PSA ile saptananlardan daha büyük boyutta ve daha ileri evrede olduğu gözlenmiştir. Ek olarak DRM ile saptanan PKa'ların çoğunda en az bir mikroskopik odakta ekstraprostatik yayılım gözlenmiştir (84,100-101).

PKa genellikle, lokal ileri veya metastatik evreye ulaştığında semptomatik hale gelmektedir. Üretra veya mesane boynu tutulumu olduğunda obstrüktif üriner şikâyetlere, metastatik evrelerde ise kaşeksi, kemik ağrıları-kırıkları, lenfödem, tromboz gibi maligniteye sekonder diğer sistemik şikâyetlere sebep olabilir.

PSA, PKa'da tarama, tanı ve takip aşamalarında kullanılan bir biyokimyasal belirteçtir. Kallikrein-ilişkili peptidaz ailesinden bir enzim olan PSA, hem normal prostat epitelinde, hem de tümöral hücrelerde üretilabilmektedir. Serum PSA seviyesi, hasta yaşı, etnik kökeni ve diğer faktörlere bağlı olarak değişmekle birlikte normalde

4,0 ng/ml'den daha düşüktür. Serum PSA değerleri, PKa dışında inflamasyon, BPH ve iğne biyopsisi/TUR-P gibi mekanik travmalar sonrasında da yükselebilir. Fakat bu yüksekliklerin geçici olması, tedavi sonrasında normale inmesi beklenir. PSA seviyesine etki eden bu faktörler, PSA konsantrasyonlarındaki biyolojik varyasyon ile birleştiğinde, tek bir ölçüm olarak kullanıldığında düşük özgüllük ve düşük pozitif kestirim değeri göstermesiyle sonuçlanır. PSA testinin özgüllüğünü arttırmak amacıyla günümüze kadar PSA yoğunluğu (PSA'nın toplam bez hacmine oranı), PSA ikiye katlanma süresi, PSA hızı (zaman içinde PSA'nın değişmesi) ile yaşa/ırka spesifik PSA dâhil olmak üzere çeşitli referans aralıkları kullanımı gündeme gelmiştir. Bu PSA türevleri bazı çalışmalarda özgüllükte minimal iyileşmeler göstermiştir (84). Günümüzde, ultrasonografi kılavuzluğunda transrektal iğne biyopsisi, PKa tanısında altın standarttır. PSA yüksekliği, şüpheli DRM bulguları, anormal multiparametrik manyetik rezonans görüntüleme (mpMRG), biyopsi için endikasyonlardır.

2.4.4. Prostat kanserinin öncü lezyonları

PKa'nın preinvaziv lezyon kategorisinde prostatik intraepitelyal neoplazi (PİN), atipik adenomatöz hiperplazi (adenozis) ve atrofik lezyonlar dâhil birkaç patoloji tanımlanmıştır (102-103). Günümüzde klinik olarak anlamlılığı kanıtlanmış tek öncü lezyon PİN'dir. İlk olarak 1969'da tarif edilen PİN, prostatik duktuslar ve asinileri döşeyen sekretuar hücrelerin neoplastik proliferasyonudur (104). Baskın olarak prostatın periferik zonunda (% 75-80), nadiren transizyonel zonda (% 10-15) ve daha nadir olarak santral zonda (% 5) bulunur. Bu dağılım aynı zamanda PKa'nın bölgesel sıklığını yansıtmaktadır. PİN kabaca nükleer düzensizlik, nükleer irileşme, hiperkromazi ve nükleol belirginliği gösteren psödostratifiye epitelyal hücre proliferasyonu ile karakterizedir. Bu bulgular invaziv PKa bulgularına benzer. Mimari, adenokarsinomun aksine normaldir. PİN içeren glandlar, ince ve bazen kesintili şekilde seyreden bazal hücrelerle çevrilidir. Bu hücreler yüksek moleküler ağırlıklı sitokeratinlerle (34bE12, HMW-CK) immünpozitif olarak işaretlenirler.

PİN, düşük dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi (DD-PİN) ve yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi (YD-PİN) olarak iki gruba ayrılmıştır. PİN'in düşük dereceli ve yüksek dereceli olarak sınıflandırılması esas olarak sekretuar hücrelerin sitolojik özelliklerine dayanmaktadır. DD-PİN'i oluşturan hücreler iri

nükleuslu, normal veya hafifçe artmış kromatin içeren, küçük veya göze çarpmayan nükleollere sahip hücrelerdir. YD-PİN ise nispeten uniform büyük nükleuslu, düzensiz artmış kromatin içerikli ve karsinom hücrelerinininkine benzer şekilde belirgin nükleollü hücrelerle karakterizedir (Tablo 1). Mitotik şekiller YD-PİN’de nadirdir ve PİN için derecelendirme kriteri olarak kullanılmaz (84).

Tablo 1. Prostatik intraepitelyal neoplazi (PİN) tanısal kriterleri.

	DD-PİN	YD-PİN
<i>YAPISAL DÜZENLENME</i>	Düzensiz aralıklı epitelyal hücrelerde kalabalıklaşma ve stratifikasyon	DD-PİN’e benzer şekilde, daha fazla katmanlaşma ve stratifikasyon; 4 majör patern: kribriiform, mikropapiller, “tufting” ve “flat”
<i>SİTOLOJİ; NÜKLEUS</i>	Genişlemiş, belirgin boyut farklılıkları	Genişlemiş, daha az boyut farklılığı
<i>KROMATİN</i>	Normal	Yoğunlukta artış ve topaklanma
<i>NÜKLEOL</i>	Nadiren belirgin (<%10 hücrede)	Belirgin
<i>BAZAL HÜCRE TABAKASI</i>	Sağlam	Kesintili, tamamen kayıp olabilir
<i>BAZAL MEMBRAN</i>	Sağlam	Sağlam
<i>NEKROZ</i>	Yok	Yok
<i>MİTOTİK FİĞÜR</i>	Yok	Yok

Esas olarak PKa’nin öncüsü olarak kabul edilen lezyon YD-PİN’dir. Patoloji raporlarında DD-PİN belirtilmemelidir. Çünkü DD-PİN sonrası re-biyopsilerdeki kanser riski, benign bir tanı sonrası re-biyopsilerdeki kanser riski ile benzerdir (105-106).

2.4.5.Prostat kanserlerinin histolojik sınıflaması

Tüm prostat tümörlerinin %90-95’ini klasik asiner adenokarsinomlar oluşturur. Prostat tümörlerinin histopatolojik sınıflandırılması Tablo 2’de gösterilmiştir (84).

Tablo 2. DSÖ 2016'ya göre prostatik tümörlerin histopatolojik sınıflaması.

Prostat Tümörleri
I. Epitelyal tümörler
A. Glandüler neoplazmlar
Asiner adenokarsinom
Atrofik
Pseudohiperplastik
Mikrokistik
Köpüksü gland
Müsinöz (kolloid)
Taşlı yüzük benzeri hücre
Pleomorfik dev hücre
Sarkomatoid
B. Prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN), yüksek dereceli
C. İntraduktal karsinom
D. Duktal adenokarsinom
Kribriform
Papiller
Solid
E. Ürotelyal karsinom
F. Skuamöz neoplazmlar
Adenoskuamöz karsinom
Skuamöz hücreli karsinom
G. Bazal hücreli karsinom
II. Nöroendokrin tümörler
Nöroendokrin diferansiyasyon gösteren adenokarsinom
İyi diferansiye nöroendokrin tümör
Küçük hücreli nöroendokrin karsinom
Büyük hücreli nöroendokrin karsinom
III. Mezenkimal tümörler
Leiomyosarkom
Malignite potansiyeli belirsiz stromal tümör
Stromal sarkom
Rabdomyosarkom
Leiomyom
Anjiosarkom
Sinovyal sarkom
İnflamatuar myofibroblastik tümör
Osteosarkom
Undiferansiye pleomorfik sarkom
Soliter fibröz tümör
Soliter fibröz tümör, malign
Hemanjiom
Granüler hücreli tümör
IV. Hematolenfoid tümörler
Diffüz büyük B hücreli lenfoma
Kronik lenfositik lösemi/Küçük lenfositik lenfoma
Foliküler lenfoma
Mantle hücreli lenfoma
Akut myeloid lösemi
B lenfoblastik lösemi/lenfoma
V. Diğer tümörler
Kistadenom
Nefroblastom
Rabdoid tümör
Germ hücreli tümörler
Şeffaf hücreli adenokarsinom
Melanom
Paraganglioma
Nöroblastom
VI. Metastatik tümörler

2.4.6. Prostat kanserinin mikroskopisi

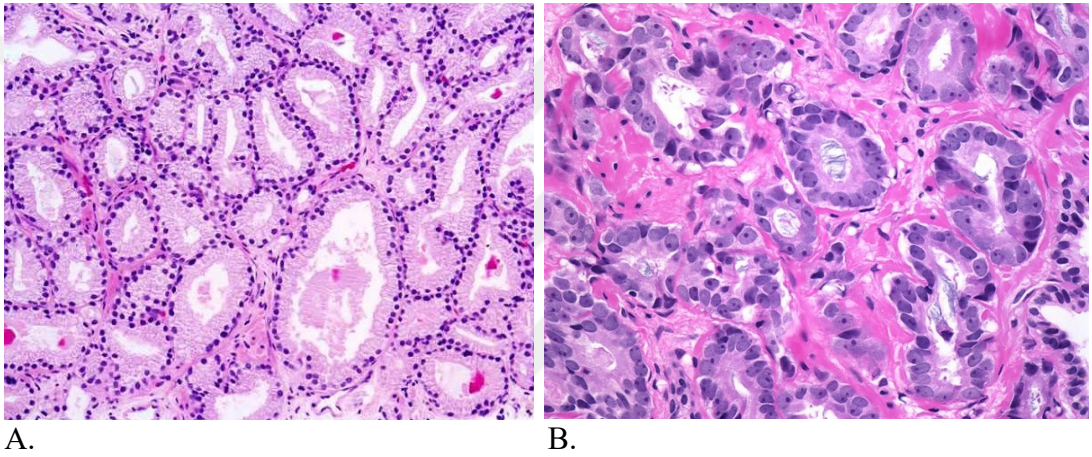
Prostat asiner adenokarsinomları, histopatolojik olarak oldukça değişken bir spektrum gösterir. Benign prostat dokularından zorlukla ayrılabilen, ayırım için İHK'sal boyama gerekebilen iyi diferansiye karsinomlardan oluşabileceği gibi; gland yapısının seçilemediği, tümüyle solid veya tek sıralı dizilim gösteren kötü diferansiye karsinomlar şeklinde de görülebilir. Prostatik asiner adenokarsinom tanısı benign prostat glandlarından ziyade adenokarsinomu destekleyen yapısal, nükleer, sitoplazmik, lüminal vd. bir takım özelliklerin metodolojik değerlendirilmesiyle konulur (84).

Yapısal olarak küçük ve kalabalık glandlar topluluğu karsinom için şüphe uyandırıcıdır. Lobuler yapılanmasını kaybetmiş veya benign bir glandın iki tarafında yerleşmiş atipik glandlar karsinomu akla getirmektedir. Çoğu zaman yalnızca yapısal özelliklere bakılarak karsinom tanısı konulamaz. Sitolojik olarak prostat adenokarsinomunun en yaygın bilinen özelliği nükleol belirginliğidir. Nükleol belirginliği kanser tanısında önemli olmasına rağmen, tanı koymak için kullanılan tek veya zorunlu kriter değildir. Zira çeşitli kanser taklitçilerinde belirgin nükleol saptanabilir veya iğne biyopsi kesitlerinde malign glandlarda bazen dikkat çekmeyebilir (107-108). Tümörde belirgin nükleolün gözlenmemesi, biyopsinin tümörün belirgin nükleollü alanlarından alınmamış olmasından veya kesitlerin kalınlığı nedeniyle nükleer detayın gizlenmesinden kaynaklanabilir. Ayrıca köpüksü gland adenokarsinomları ve düşük dereceli transizyonel zon adenokarsinomları gibi bazı kanserler bazen belirgin nükleol içermez. Multipl nükleoller veya periferik yerleşimli nükleoller, prostat adenokarsinomunun tanısında yararlı nükleer özellikler değildir (84, 108). Kanserde benign bezlerden daha yaygın izlenen bir başka özellik nükleer genişleme ve hiperkromazidir. Mitotik şekiller karsinomda benign glandlardan daha yaygındır, ancak Gleason skoru 6 olan sınırlı karsinomlarda iğne biyopsisinde pek rastlanmaz. Yüksek dereceli PKa'larda daha sıktır.

Nükleer özelliklere ek olarak, sitoplazmik özellikler de prostat adenokarsinomunun tanısında yararlı olabilir. PKa, normal bezlere kıyasla amfofilik sitoplazmalıdır. Daha büyük bezlerde düz luminal sınırlar kanserin bir özelliğidir;

benzer büyüklükteki atrofik olmayan benign bezlerde ise sitoplazmada papiller katlanma ve luminal dalgalanmalar görülür.

Luminal içerikler prostatik adenokarsinom tanısına yardımcı olabilir. Prostat kristaloidleri, dikdörtgen, altıgen, üçgen ve çubuk benzeri yapılar gibi çeşitli geometrik şekillerde görülen yoğun eozinofilik kristal benzeri yapılardır. Kristaloidler kanserde benign glandlardan daha yaygın olarak bulunur. Diğer tanısıl intralüminal özellikler, mavi müsinöz ve pembe yoğun amorf sekresyonlardır (Şekil 6). Pembe amorf sekresyonlar, benign bezlerde sık, karsinomda nadir görülen konsantrik lameller halkalar şeklindeki ‘corpora amilacea’ dan ayırt edilmelidir.



Şekil 6. Prostatik asiner adenokarsinom. A) Bazal hücre tabakası izlenmeyen, lümende kristaloid yapılar içeren kalabalık neoplastik gland kümeleri, H&E x100 B) Belirgin nükleollü lümenlerinde mavi müsinöz sekretin izlendiği küçük düzensiz kümeler, H&E x200

PKa’da çoğu zaman desmoplastik reaksiyon ve inflamatuvar yanıt görülmez. Desmoplastik yanıt görülüyorsa tipik olarak yüksek dereceli bir karsinomla ilişkilidir. PKa tanısı koyarken H&E kesitlerde bazal hücrelerin değerlendirilmesi bazen zor olabilir. Glandlara çok yakın yerleşen stromal fibroblastlar bazal hücrelerle karışabilir ve netleştirmek için HMWCK veya P63 ile İHK’sal inceleme gerekir. Diğer yandan bazal hücrelerin kaybı karsinom için özgün değildir ve benign psödoneoplastik bazı durumlarda, özellikle parsiyel atrofide gözlenebilir (109). AMACR, (Alfa-metil açıl koenzim-A rasemaz) prostat adenokarsinomu için pozitif bir belirteçtir ve neoplastik epitelin saptanmasında seçici ve duyarlıdır. Asiner adenokarsinomların %80-100’ü AMACR ile karakteristik granüler sitoplazmik boyanma gösterir. Bununla birlikte AMACR, bazal hücre belirteçleri ile birlikte değerlendirilmelidir, çünkü çoğu YD-

PİN'de de AMACR ekspresyonu mevcuttur. Ayrıca benign PKa taklitçileri olan atrofi, adenozis ve nefrojenik adenom gibi lezyonlarda da pozitiflik gözlenebilir. Bu nedenle AMACR kansere özgü bir belirteç değildir (84).

2.4.6.1. Histolojik varyantlar

Prostatik asiner adenokarsinomun histolojik varyantları, tanıdaki güçlük ve prognostik farklılıklar nedeniyle önemli olabilir (110). Tanı için zor olabilen varyantlar benign görünümlü atrofik varyant, psödohiperplastik varyant, mikrokistik varyant ve köpüksü gland varyantlarını içerir. Taşlı yüzük benzeri, pleomorfik dev hücre ve sarkomatoid varyantlar ise normal asiner adenokarsinomdan daha kötü prognozludur.

Atrofik varyant, sitoplazma kaybı olan, spontan veya radyoterapi (RT) / hormonoterapi (HT) sonrası görülebilen adenokarsinom varyantıdır. Genellikle klasik adenokarsinomla iç içedir. Çoğunlukla Gleason derece 3 olup prognostik önem taşımaz (111).

Pseudohiperplastik varyant, BPH'de görülen luminal epitel proliferasyonu ile benzerdir. Bu varyantta luminal dalgalanmalar, papiller katlantılar izlenebilir. Nodüler yapılanma mevcuttur, infiltratif patern olguların çok az bir kısmında izlenir. Nükleuslar yuvarlaktır, nükleol içerir, pseudostratifikasyon yoktur. Bu olguların % 77'si AMACR ile pozitif olup bazal membran belirteçleri ile negatiftir. Prognostik önemi net bilinmemekle birlikte, klasik adenokarsinomdan kötü olmadığı düşünülmektedir (110,112).

Mikrokistik varyant, mikroskopik olarak, klasik asiner adenokarsinomdakinin 10 katı büyüklüğüne ulaşabilen, düzleşmiş luminal sınırlar içeren yuvarlak şekilli glandlar içerir. Radikal prostatektomilerde klasik asiner adenokarsinomların %11'i mikrokistik odak içerir. Döşeyici hücrelerde sitoplazmik volüm kaybı olabilir ve bu morfoloji benign kistik atrofi ile karışabilir. Hemen tamamı AMACR pozitif olup bazal hücreden yoksundur. Gleason derece 3'tür (110).

Köpüksü hücreli varyant, genellikle klasik adenokarsinomun komponenti şeklindedir, çok nadir olarak pür izlenir. Abondan, köpüksü veya ksantomatöz sitoplazmalı hücreler tipiktir. Nükleuslar piknotiktir, nükleer irileşme ve nükleol

belirginliği genellikle yoktur. Bu varyant ile en sık ilişkili Gleason skoru 7'dir, çoğunlukla patern 4 mevcuttur (113). Olguların %30'unda TMPRSS2-ERG gen füzyonu izlenir. AMACR köpüksü varyant için mükemmel bir belirteçtir. Prognoz, klasik tip ile benzerdir (84,110).

Müsinöz (kolloid) varyant, en az %25 ekstrasellüler müsin gölleri bulunan tümörlerdir. Bu sebeple bu tanı yalnızca radikal prostatektomi örneklerinde verilebilir. Mikroskopik olarak tümöral glandlar tek tek, birleşik veya kribriform adalar şeklinde abondan müsin gölleri içinde yüzer. Müsin boyaları ekstrasellüler müsinin gösterir fakat sitoplazmik müsin genelde izlenmez. Olguların çoğu Gleason skor 7 ya da 8'dir (84,110).

Taşlı yüzük benzeri hücreli varyant (Signet ring-like cell variant), solid, asiner veya art arda sıralanmış diziler şeklinde gözlenen, hücre içi müsin içeren nadir bir varyanttır. Tanı için tümörde en az %25 taşlı yüzük hücreli komponent olmalıdır (84,110).

Pleomorfik dev hücreli varyant, oldukça iri, bizar, anaplastik hücrelerin oluşturduğu, pleomorfik nükleuslar içeren varyanttır. Fokal olarak küçük hücreli nöroendokrin karsinom, duktal adenokarsinom veya yassı epitel hücreli karsinom izlenebilir. Bazı olgularda HT veya RT tedavisi almış tipik prostat karsinomu öyküsü bulunabilir (84,110).

Sarkomatoid varyant, epitelyal ve mezenkimal farklılaşma gösteren bifazik tümörlerdir. Olguların yarısında RT veya HT almış klasik asiner adenokarsinom öyküsü vardır. Histolojik olarak epitelyal komponent çoğunlukla yüksek Gleason derecesindedir. Mezenkimal komponentte ise rabdomiyosarkom, leiomyosarkom, liposarkom, osteosarkom, kondrosarkom ve anjiyosarkom olabilir (84,110).

2.4.7.Tedavi

PKa tedavisinde, hastalığın risk grubuna göre cerrahi (radikal prostatektomi (RP)), RT, kemoterapi (KT), HT, hedef terapi ve immünoterapi yaklaşımları tek başına ya da kombine şekilde kullanılmaktadır. Düşük riskli hasta grubunda aktif izlem, RT (eksternal beam radyoterapi (EBRT) - brakiterapi) veya RP seçenekler arasındadır. Ayrıca kriyoablasyon veya yüksek yoğunluk odaklı ultrason (HIFU) gibi deneysel

aşamadaki minimal invaziv fokal tedavi yaklaşımları da mevcuttur. Orta ve yüksek riskli hastalıkta standart olmamakla birlikte RT, androjen deprivasyon (AD) tedavisi, RT+AD, RP gibi yaklaşımlar mevcuttur. Metastatik hastalıkta AD başlıca yaklaşımdır. Cerrahi kastrasyon, östrojenler, LHRH agonistleri, LHRH antagonistleri, antiandrojenler (abirateron asetat, enzalutamid) bu amaçla kullanılabilecek seçenekler arasındadır. AD yanı sıra tedaviye dosetaksel eklenerek kemohormonoterapi veya palyatif RT metastatik hastalıkta uygulanabilir. Ayrıca kemik metastazı olan hastalarda kemik kırıkları, spinal kord basısı gibi etkileri önlemek için Denosumab veya Zolendronik asit, önerilen kemik hedefli tedavi ajanlarıdır. Hormona direnç geliştiğinde, antiandrojen eklenmesi, kullanılan antiandrojenin kesilmesi/doz artırılması veya adrenal inhibisyon amacıyla non-selektif ajanlar kullanılması söz konusudur. Bu tedavilere cevap yoksa dosetaksel, kabazitaksel gibi KT ajanları kullanılır. Sipuleucel-T ise asemptomatik veya minimal semptomatik hormona dirençli hastalığı olanlarda kullanılabilen bir immünoterapi ajanıdır (10).

2.4.8. Gleason derecelendirmesi

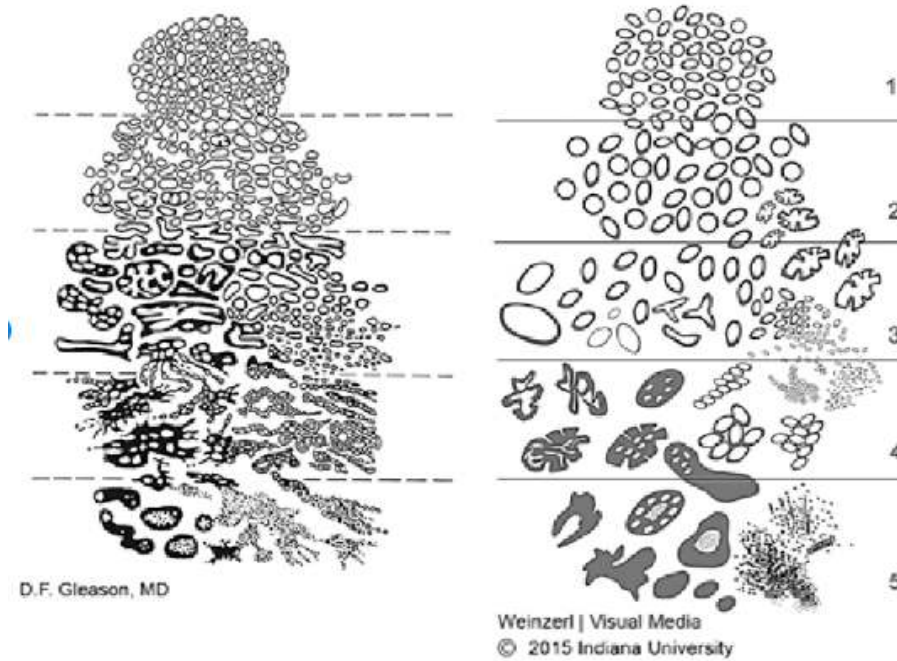
PKa için dünya genelinde halen kullanılmakta olan Gleason derecelendirme sistemi, tarafından 1966 yılında oluşturulmuştur (114). Gleason derecelendirme metodu, yıllar içinde oldukça değişikliğe uğramış ve son olarak 2014'te güncel şekline ulaşmıştır (115). Gleason derecelendirme sistemi temel olarak tümörün glandların küçük büyütmede izlenen yapısal paternini esas alan ve bu özelliklerin 1 ile 5 arasında derecelendirilmesiyle oluşturulan bir sistemdir (Şekil 7). Gleason skoru, birincil ve ikincil patern olarak iki patern içeren tümörlerde, sırasıyla en yaygın görülen 2 derecenin toplamını belirtir (84). Skorumaya yapılırken daha düşük derecede olan patern, %5'ten azsa skorlamaya dâhil edilmez. Üçüncül bir patern bulunan tümörlerde ise formül 'baskın patern + en kötü patern' şeklinde uygulanmalıdır (115). Gleason skoru, 2 (1+1) ile 10 (5+5) arasında değişmekte olup, PKa'da prognoz belirlenmesinde yol göstericidir.

Gleason paternleri DSÖ 2016'ya göre mikroskopik özellikleri şu şekilde özetlenebilir (115):

Gleason patern 1: Etraftan iyi sınırla ayrılmış nodüler lezyon içinde birbirine yakın yerleşimli orta büyüklükteki iyi diferansiye uniform glandların oluşturduğu paterndir.

Gleason patern 2: Şekillerinde hafif farklılıkların izlendiği neoplastik glandlardan oluşan paterndir. Patern 1'in aksine nodül periferinde hafifçe düzensizlikler görülebilir. Glandların arasındaki stroma hafif artmıştır.

Gleason patern 3: En yaygın görülen paterndir. Tek tek yerleşen, aralarında stromanın izlendiği düzgün glandlardan oluşur. Bu glandlar genellikle benign glandların arasındaki stromaya infiltre olur. Büyük büyütmede odaksal olarak düzensiz şekilli glandlar görülebilir. Skoru yükseltmeden önce bu morfolojinin tanjansiyel kesitten kaynaklanabileceği göz önünde bulundurulmalıdır (115).



Şekil 7. Dr.Donald Gleason'un orijinal Gleason değerlendirilmesi (sol) ve International Society of Urologic Pathology (ISUP) modifiye Gleason derecelendirmesi şematik diyagramı (115).

Gleason patern 4: İlk tanımlanan Gleason sisteminde patern 3'deki geniş kribriform glandlar, sonraki çalışmalarda kötü prognostik sonuç gösterdiğinden artık patern 4 grubunda değerlendirilmektedir. Yine glomerüloid, kötü şekilli glandlar ve aralarında stroma izlenmeyen birleşik glandlar da bu patern içerisinde tanımlanır.

Gleason patern 5: Tabakalar, solid adalar, tek hücreler ve kordonlar şeklindeki tümöral hücrelerin izlendiği paternidir. Belirgin glandüler oluşum izlenmez. Ayrıca prostat biyopsilerinde komedo nekroz, kribriform glandlar içinde dahi olsa patern 5 olarak değerlendirilir (116).

Sırasıyla en yaygın izlenen 2 derecenin toplamını temsil eden Gleason skorlaması şu şekildedir;

- 2-6 puan: Düşük dereceli/iyi diferansiye tümör
- 7 puan: Orta dereceli/orta derecede diferansiye tümör
- 8-10 puan: Yüksek dereceli/kötü diferansiye tümör

Bu Gleason skorlamasındaki bazı eksikliklerin hasta yönetiminde olumsuz etkileri olmuştur. Toplam skoru 7 olan 3+4 ile 4+3 paternli hastaların aynı şekilde tedavi edilmesi, Gleason skoru 6 olan hastaların (skala 2-10 aralığında olduğundan) daha agresif bir tümörleri olduğunu düşünmesi gibi problemler ek bir sınıflamayı gerektirmiştir. 2014 yılında WHO-ISUP konsensüs yaklaşımıyla, yapılan meta-analizler esas alınarak yeni grup dereceleri oluşturulmuştur (Tablo 3). 2016 DSÖ sınıflamasında yer alan bu grup dereceleri tanımlamasına göre her bir grubun kendine özgü prognoz ve tedavi yaklaşımı bulunmaktadır (84, 115).

Tablo 3. Dünya Sağlık Örgütü 2016 Gleason Grup Derece sistemi.

Grup derecesi	Karşılık gelen Gleason skoru
<i>Grup derecesi I</i>	Gleason skor ≤ 6 tümörler
<i>Grup derecesi II</i>	Gleason skor 3+4=7 olan tümörler
<i>Grup derecesi III</i>	Gleason skor 4+3=7 olan tümörler
<i>Grup derecesi IV</i>	Gleason skor 3+5, 4+4, 5+3 olan tümörler
<i>Grup derecesi V</i>	Gleason skor 9-10 olan tümörler

2.4.9. Patolojik evre

PKa için nüks ve kanser spesifik mortalite açısından en önemli prognostik faktör Gleason skoru, sonrasında patolojik evredir (84). American Joint Committee on Cancer (AJCC) tarafından 2018'de yayınlanan 8.baskıda TNM evrelemesinde bazı değişikliklere gidilmiştir (117). Yeni evrelemeye göre; patolojik T1 kategorisi kaldırılmış, önceki baskıda lateralite temelli 3 alt sınıfa ayrılan pT2 kategorisi ise tek başlıkta toplanmıştır (Tablo 4).

Tablo 4. AJCC 2018 8. edisyon prostat kanseri patolojik pTNM evrelemesi (118).

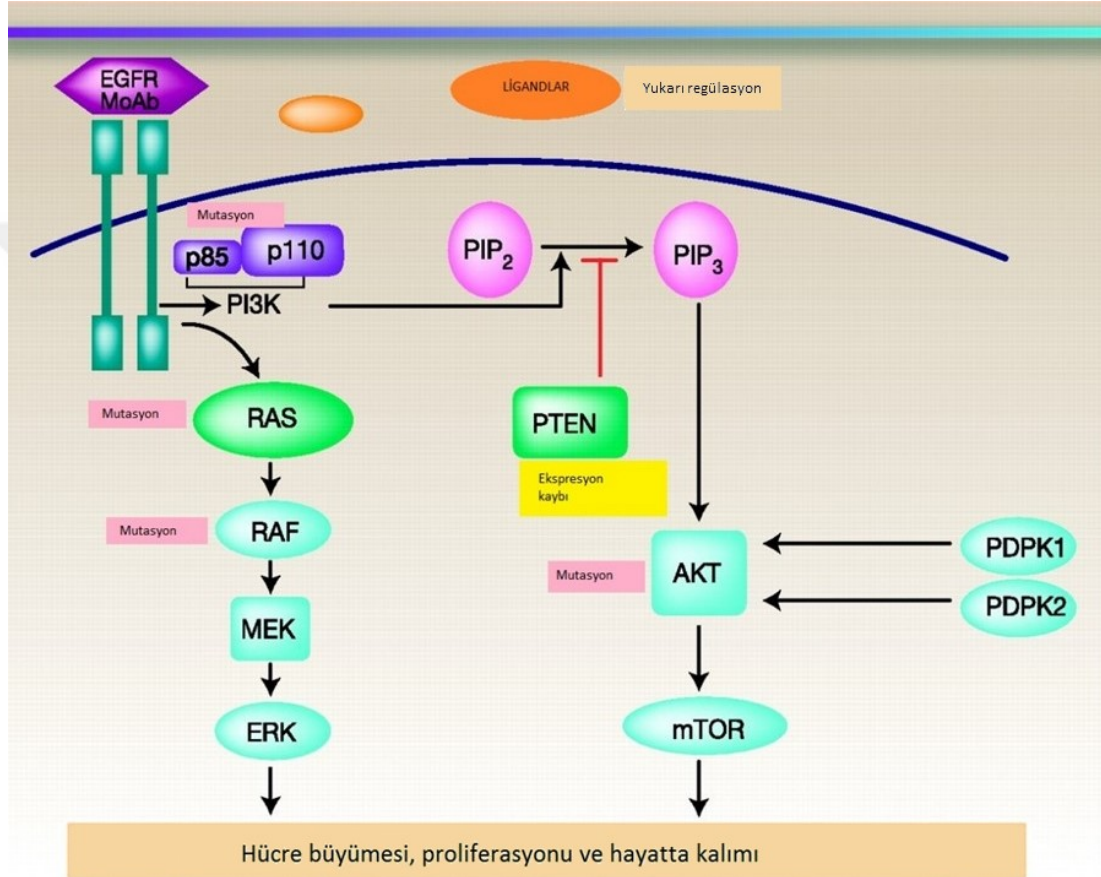
Prostat kanseri pTNM evrelemesi	
<i>Patolojik T (pT)</i>	
<i>T2</i>	Organa sınırlı hastalık
<i>T3</i>	Ekstraprostatik yayılım
<i>T3a</i>	Ekstraprostatik yayılım ya da mikroskopik mesane boynu invazyonu
<i>T3b</i>	Seminal vezikül invazyonu
<i>T4</i>	Rektum, levator kaslar ve/veya pelvik duvar invazyonu
<i>Bölgesel Lenf Düğümleri (N)</i>	
<i>Nx</i>	Bölgesel düğümler örneklenmedi
<i>N0</i>	Pozitif bölgesel düğüm yok
<i>N1</i>	Bölgesel düğüm/lerde metastaz
<i>Uzak Metastaz (M)</i>	
<i>M0</i>	Uzak metastaz yok
<i>M1</i>	Uzak metastaz var
<i>M1a</i>	Bölgesel olmayan lenf düğüm/leri
<i>M1b</i>	Kemik/ler
<i>M1c</i>	Kemik metastazı olsun/olmasın başka bölge/lerde metastaz var

2.5. Hücresel Sinyal İletim Yolakları- Karsinogenez

Hücrede embriyogenez, proliferasyon, büyüme, farklılaşma ve yaşamsal faaliyetlerin devam etmesi için interselüler ve intraselüler sinyal iletiminin devamlılığı çok önemlidir. Malignite, temelde hücrenin proliferasyon/farklılaşma bozukluğu olduğundan hücrede sinyal iletim yolaklarını ve sinyal proteinlerini hedef alan onkojenik mutasyonlar doğrudan karsinogenezle bağlantılıdır (119).

Hücresel sinyal iletiminde hücre membranından başlayarak hücre ve nükleus içine kadar devam eden sinyal iletim yolakları aşamalı olarak görev almaktadır (Şekil 8). Protein kinazlar, sinyal iletimi esnasında protein fosforilasyonu/aktivasyonu sağlayan enzimlerdir. Membranda yerleşen reseptör tirozin kinaz süper ailesi 58 adet transmembran protein içermekle birlikte bunların arasında karsinogenezde öne çıkanlar, büyüme faktörü (EGF, VEGF, PDGF vd.) reseptörleridir (120). Bu

reseptörler büyüme faktörleriyle bağlanıp aktif hale geçerek sitoplazmadaki hedef proteinlerle etkileşir ve sinyal iletimini gerçekleştirirler. Reseptör tirozin kinazların, karsinogenezde rol oynadığı mekanizmalar arasında, gen mutasyonları, kromozom translokasyonları veya amplifikasyonları bulunur. Bu mekanizmalar, kanser hücresinin büyümesinin kontrolsüz, liganddan bağımsız bir şekilde uyarılması ve hücre içi sinyalizasyonu başlatmasıyla sonuçlanır.



Şekil 8. Hücrede sinyal iletim yolları (2010 American Association for Cancer Research (<https://clincancerres.aacrjournals.org/content/16/15/3811.figures-only>)'ten uyarlanmıştır).

Hücre içi sinyal iletiminde ise en önemli yollardan biri RAS/RAF/MEK/ERK kinaz sinyal iletim yolağıdır. RAS proteininin aktivasyonu ile aktifleşen RAF/MEK/ERK sinyal iletim yolunun, insan kanserlerinin hemen hemen %30'unda etkilendiği bilinmektedir (121). Yine PI3K (PI-3 kinaz/Protein kinaz B) sinyal iletim yolu da karsinogenezde etkin bir sitoplazmik sinyal iletim yolağıdır (29). Çeşitli sitokinler ve büyüme faktörleri bu yolları aktive ederek hücrenin hayatsal faaliyetlerini düzenlerler.

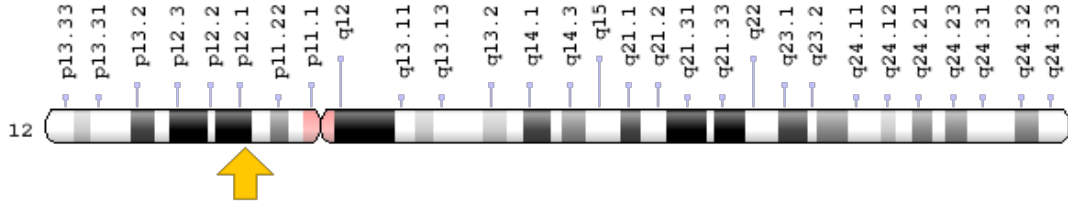
Tümör oluşumunda, protoonkogenlerdeki aktive edici mutasyonlarla onkogenlerin meydana gelmesi veya tümör süpresor genlerdeki delesyonlar önemli yer tutar. Protoonkogenler, somatik mutasyonlar veya gen ekspresyonunda artışla onkogene dönüşebilen genlerdir. Onkogenler kontrolsüz protein ekspresyonu göstererek kanser gelişiminin başlangıcında indükleyici rol oynarlar. Hücre içi sinyal iletim yollarının çeşitli aşamalarında yer alan *KRAS*, *BRAF* ve *PIK3CA* genleri önemli protoonkogenlerden bazılarıdır. Ayrıca p16 gibi siklin bağımlı kinaz'lar, PTEN gibi PI3K yolağında inhibisyon yapan moleküller, hücrede tümör baskılayıcı olarak görev yaparlar. Bu genlerdeki delesyonlar ile fonksiyon kayıpları, söz konusu yolların sürekli aktivasyonu ile sonuçlanarak karsinogeneze zemin oluşturmalar (122).

2.6. *KRAS* ve Prostat Kanseri

RAS (rat sarcoma viral oncogene homolog) geni Kristen *RAS* (*KRAS*), Harvey *RAS* (*HRAS*) ve nöroblastom *RAS* (*NRAS*) olmak üzere üç ayrı fonksiyonel genden meydana gelir. Bu genler molekül ağırlığı 21 kDa (p21) olan birbirine benzer formda proteinleri kodlarlar. *RAS* proteinleri, normal hücre büyümesi ve malign transformasyonun çeşitli yönlerinin anahtar düzenleyicileri olan sinyal iletim yollarını kontrol ederler. Bu proteinler, hücrede GTPaz olarak işlev görürler. GTP'ye bağlanmış hali "açık-aktif", GDP'ye bağlanmış hali ise "kapalı-inaktif" olarak tanımlanmıştır. GTP'ye bağlanan *RAS* daha sonra efektörler olarak isimlendirilen sinyal iletiminin daha alt basamağındaki proteinlere bağlanırlar. *RAS*-GTP, protein kinaz olan *RAF*'ı etkinleştirir. *RAF* serin/treonin protein kinazı *MEK1/2* (*MAPK/ERK* kinaz)'ı ve *ERK1/2*'yi aktive eder. Aktive *ERK1/2* substratlarını fosforile eder ve farklı gen aktarımına yol açan transkripsiyon faktörlerini düzenler (123). Çoğu insan tümöründe, *RAS* genleri, kendiliğinden mutasyonların aktive olması veya yukarı akış ya da aşağı akış sinyal bileşenlerindeki değişimler nedeniyle anormallik gösterir (121).

RAS insan kanserlerinde en sık mutasyon geçiren onkogendir. *KRAS* protoonkogeni, içlerinde en sık mutasyona uğrayan izoformdur. *KRAS* 12.kromozomun 12.1 pozisyonunda yer alır (Şekil 9). *KRAS*'taki mutasyonlar, insan tümörlerindeki tüm *RAS* mutasyonlarının yaklaşık % 85'ini oluşturmaktadır (121,124). Bu mutasyonlar *KRAS*'ın sürekli GTP ile bağlı aktif formda kalmasını sağlayarak

mitojenik sinyalizasyonun devamlılığı ile tümörojeneze aracılık ederler. *KRAS* geninde en sık bulunan mutasyonlar esas olarak 12, 13 veya 61 kodonlarındadır (125).



Şekil 9. *KRAS* geninin kromozom 12 üzerindeki lokalizasyonu (126).

KRAS mutasyonu başlıca pankreas, kolon, akciğer, safra yolu olmak üzere birçok organ malignitesinde tanımlanmıştır (127-130). Bununla birlikte tümör tipine göre farklı insidanslar göstermektedir (131). Tablo 5’te çeşitli tümörlerde saptanan *KRAS* mutasyon oranları gösterilmiştir (125,132-133). PKa’da çeşitli Asya popülasyonlarında incelenen *KRAS* mutasyon sıklıkları %40’a varan oranlarda bildirilmiştir (24,26,32,36-37). Batı toplumlarında bu oranların daha düşük olduğu dikkati çekmektedir (29,41,44).

Tablo 5. Çeşitli kanser tiplerinde *KRAS* mutasyon sıklıkları.

Kanser tipi	<i>KRAS</i> mutasyon oranı
Pankreas kanseri	% 90
Kolorektal kanser	% 30-50
İnce bağırsak	% 35
Safra yolları	% 26
Akciğer adenokarsinomu	% 19
Endometrium kanseri	% 11-35
Deri (melanom)	%1
Üriner sistem	% 5

KRAS mutasyonlarının, kolorektal kanserlerde anti-EGFR hedefli monoklonal antikor tedavisine yanıt için prediktif bir belirleyici olduğu gösterilmiştir. Terapötik ajanlara cevap, kanser hücrelerinin farklı genomik özelliklerine bağlı olarak değişebilir. Ras proteininden önceki aşamaları durduran ilaçlar, *KRAS* mutant hücrelerde yeterli tepkiye neden olmaz (129). Bu nedenle tedavide doğru hasta ve doğru ilaç seçimi yapılabilmesi için potansiyel bir hedef olan *KRAS* geninin mutasyona uğramış olup olmadığını belirlemek önem taşımaktadır. Trametinib, PKa’da faz II

çalışması devam eden bir KRAS inhibitörü örneğidir (ClinicalTrials.gov: NCT02881242).

2.7. *BRAF* ve Prostat Kanseri

RAF, serin/treonin kinaz ailesinin bir üyesidir ve RAS/RAF/MAP kinaz yolağının bir bileşenidir. RAF, mitotik aktivite ve hücrel farklılaşmada görevli MAPK sinyal yolağının düzenlenmesinde önemli bir aracıdır. Bu protein, RAF1, ARAF ve BRAF olmak üzere üç izoformu bulunur. Tüm RAF kinazlar içerisinde MAPK yolağının en güçlü aktivatörü BRAF'tır. Aktive edici mutasyon geçirmiş olan *BRAF*, hücre proliferasyonunu stimüle eder ve antiapoptotik özellik gösterir.

BRAF mutasyonları ilk olarak 2002 yılında tanımlanmıştır. Nükleotid 1796'da meydana gelen nokta mutasyonu, 599.kodonda (V600E) valin-glutamik asit değişikliği ile sonuçlanır (6). Tanımlanan V600E mutasyonu, BRAF'ın G-loop aktivasyon segmentinde konformasyonel bir değişikliğe yol açar ve bu kısmı sürekli aktif tutarak MEK ve ERK'e monomer olarak bağlanabilmesini sağlar. Bu da, ERK fosforilasyonu ve hedef gen transkripsiyonunda devamlı artışla sonuçlanır. Ayrıca bu aktivite ERK aktivasyonunu dengelemeye çalışan negatif geri besleme sinyallerine dirençlidir (134).

BRAF mutasyonları ilk olarak malign melanomlarda %59, kolorektal kanserlerde %18, gliomlarda % 11 ve akciğer adenokarsinomları ile over kansinomlarında %4 oranlarında bildirilmiştir (6). Daha sonra yapılan birçok çalışmada bu maligniteler yanı sıra papiller ve anaplastik tiroit kansinomlarında ile saçlı hücreli lösemide yüksek oranlarda *BRAF* mutasyonları saptanmıştır (135-140). PKa'da *BRAF* mutasyonu ile ilgili literatürde farklı çalışmalarda %0 ile %15 arasında değişen oranlarda veriler mevcuttur (26,24,29,52,56,57). Kanser büyümesi ve progresyonunun moleküler yollarının tanınması, Sorafenib gibi RAF1/BRAF kinaz inhibitörlerinin araştırılması özellikle metastatik PKa'lı hastaların tedavisinde umut ışığı olabilir.

2.8. *PIK3CA* ve Prostat Kanseri

Fosfoinozotid-3 kinaz (PI3K) ailesi, hücre proliferasyonu, hücre hareketliliği ve adezyonu, hücre iskeletin regüle edilmesi gibi işlevlerden sorumlu lipid kinaz proteinlerdir. PI3K, regüle edici alt birim (p85) ile katalitik alt birimlerin (p110) oluşturduğu bir heterodimerdir. Çeşitli sitokinler veya büyüme faktörleri tarafından tirozin kinaz reseptörlerinin uyarılmasından sonra PI3K, membranda inozitol fosfolipidlerin fosforilasyonunu katalize eder. Fosfatidilinozitol-3-fosfat (PIP3), bu yolla meydana gelen bir lipid düzenleyicisidir. PIP3, fosfoinozitol bağımlı kinazlar (PDK1) ve Akt olmak üzere iki serin-treonin proteinini fosforiller. Akt'nin hücrede mTOR (mammalian target of rapamycin), mdm2, GSK3, BAD gibi efektörleri mevcuttur. Bu sinyal yolu efektörlerinin en önemlisi mTOR proteinidir. mTOR, ökaryotik başlatıcı faktör 4E'yi aktive etmek suretiyle ribozomal protein translasyonunu stimüle eder (141-143). Bu sayede sentezlenen yeni proteinler, büyüme faktörleri, hücre döngüsü düzenleyici proteinleri veya onkoproteinlerdir.

PI3K sinyal yolağındaki değişiklikler PKa'da sık görülür. PI3K/AKT sinyal yolağının karsinogeneze katkısının, bu yolaktaki birçok farklı basamaktan köken alması mümkündür. Bunlardan bazıları; PI3K sentezinin artması, AKT'yi baskılayan PTEN proteinindeki işlevsel kayıplar veya *PTEN* genindeki mutasyonlar ile AKT sentezinin artması olarak sıralanabilir (141-142). Ayrıca bu yolağın karsinogeneze etkisinde RAS sinyalizasyon yolağı ile olan sinerjistik etkileşme de önemlidir. Normal şartlarda, EGF-PDGF vb. büyüme faktörlerinin PI3K yolunu uyarmada *RAS*'ın etkisi minimaldir. Fakat onkojenik *RAS*, bu yolağın etkili bir aktivatörüdür. Onkojenik *RAS* bu yolla apoptozisi inhibe eder (144-145).

PIK3CA geni, fosfatidilinositol-3-kinazın (PI3K) katalitik alt ünitesini yani p110 α proteinini kodlayan önemli bir gendir. Sitogenetik olarak 3q26.3 pozisyonunda lokalizedir. *PIK3CA* geninde gelişen mutasyonlar *PIK3CA*'nın enzim etkinliği artırmakta, PI3K/AKT yolağının anormal aktivitesiyle sonuçlanmaktadır (146). Taylor ve ark. (27), mutasyon, değiştirilmiş ekspresyon ve kopya sayısı değişiklikleri dâhil PI3K/Akt/mTOR yolu değişikliklerini primer prostat tümörlerinde %42, metastatik tümörlerde %100 olarak bildirmiştir. Fakat bunların büyük çoğunluğundan *PTEN* kaybı veya inaktivasyonu sorumlu tutulmaktadır. PKa'da *PIK3CA* mutasyon analizleri

farklı çalışmalarda %0, %3 gibi oranlarda saptanırken *PIK3CA* gen amplifikasyon ve kopya numara kazanımları daha yüksek sonuçlar vermiştir (27,29,60-61).

PI3K/AKT/mTOR yolundaki düzensizlikler, meme kanseri, kolorektal kanser, hematolojik kanserler gibi daha birçok malignitede de tespit edilmiştir ve potansiyel hedefe yönelik tedavi olarak önemi gittikçe artmaktadır (147). PI3K'nın inhibisyonu, malignitelerde hücrel çoğalmanın azalması yanı sıra hücrel ölümün artmasına neden olabileceği için önemlidir (148). PI3K yolu inhibitörleri, farklı klinik ve laboratuvar aşamalarında olan dual PI3K/mTOR inhibitörleri, pan-PI3K inhibitörleri ve izoform seçici PI3K inhibitörlerini içerir (149) . Idelalisib, Copanlisib, Duvelisib ve Alpelisib gibi preperatlar FDA tarafından onaylanmış PI3K inhibitörleridir.



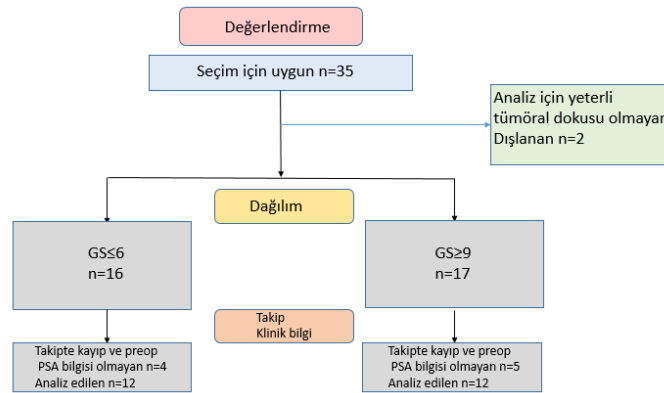
3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Etik Kurul

Projemiz 04.06.2018 tarihinde 2018/93 karar no'lu rapor ile Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Sağlık Araştırmaları Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Ardından 2018.04.02.796 numaralı proje ile Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Destekleme Yönergesi uyarınca ile finanse edilmiştir.

3.2.Olguların Seçilmesi

Bu çalışmaya, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2012-2018 yılları arasında, PKa tanısı almış 24 radikal prostatektomi olgusu dâhil edilmiştir. Olguların klinik ve demografik verileri hastane otomasyon sisteminden, hasta dosyalarından ve hastalardan telefon yoluyla edinilmiştir. Toplamda 12 adet Gleason skoru 6 (Grup Derece 1) olan, 12 adet ise Gleason skoru 9 ve üzeri (Grup Derece 5) olan olgu çalışmaya alınmıştır. Genetik değerlendirme mümkün olmayacak biçimde yeterli tümöral doku içermeyen olgular ile klinik ve preoperatif PSA düzeyi bilgilerine ulaşılamayan olgular çalışma dışı bırakılmıştır (Şekil 10). Seçilen olguların, yaş, preoperatif PSA düzeyi, Gleason skoru, AJCC evre, cerrahi sınır pozitifliği, ekstraprostatik yayılım, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, aile hikayesi ve biyokimyasal rekürrens durum bilgileri derlenmiştir. Olguların arşivdeki hematoksilin-eozin (H&E) boyalı preparatları yeniden gözden geçirilip PCR metodu için en uygun tümöral doku bulunan parafin bloklar seçilmiştir. Tümör dokusu geniş olan, nekroz ve kanama içermeyen bloklar tercih edilmiştir.



Şekil 10. Olguların seçilmesi.

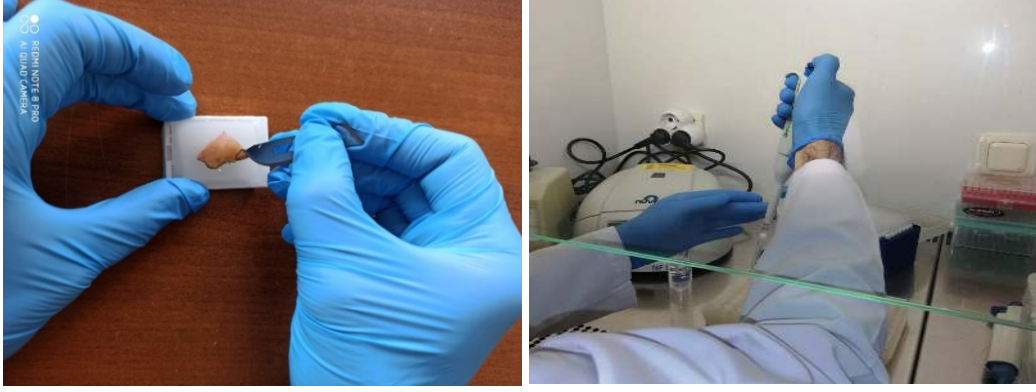
3.1.Moleküler Yöntem

Olgularımızın moleküler yöntemler için uygun olan parafin blokları seçilmiştir. Mevcut bloklardan 5-10 µm'lik tümöral doku, çevredeki sağlam doku elemanlarından makrodiseksiyonla manuel olarak temizlenmiştir (Şekil 11A).

3.3.1.Mutasyonların saptanması

Tümöral dokular KRAS/BRAF/PIK3CA (KBP) Arrays için kullanılmak üzere 1.5 ml steril eppendorf tüpü içine eklenmiştir. Mevcut dokuların deparafinizasyonu ve DNA ekstraksiyonu QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen, Almanya) protokolü izlenerek yapılmıştır (Şekil 11B). Bu protokole göre;

- ❖ *Parafine gömülü tümöral dokulardan genomik DNA saflaştırılması*; Eppendorf tüpüne 1 ml ksilen eklenmiştir, vorteks işleminden geçirilmiştir. 2 dk oda ısısında yüksek devir santrifüj uygulandıktan sonra süpernatant atılıp pelletin üzerine 1 ml etanol eklenmiştir. 2 dk oda ısısında yüksek devirde santrifüj edilmiştir. Süpernatant tekrar atılıp, 37 derecede 10 dakika tüplerin kapağı açık şekilde bırakılarak pelletten etanolün buharlaşması sağlanmıştır.
- ❖ *DNA ekstraksiyon işlemi*; Pellete 180 µl Buffer ATL ile 20 µl proteinaz K ilave edilerek vorteks uygulanmıştır. Ardından 56 derecede 1 saat inkübe edilmiştir. 90 derecede 1 saat formaldehit bozulması amacıyla inkübasyon uygulanmıştır. Spin işleminin ardından, öncesinden hazır edilen 200 µl Buffer AL ve 200 µl etanol, lizat üzerine eklenmiştir. Hızlıca vorteks edildikten sonra spin işlemi yapılmıştır. Lizat, QIAamp MinElute kolonuna alınarak 8000 rpm'de, 1 dk santrifüj edilmiştir. Kolona, 500 µl Buffer AW1 eklenip, 8000 rpm'de 1dk santrifüj edilmiştir. Aynı işlem AW2 için tekrarlanarak 14.000 rpm'de, 3 dk boyunca santrifüj sonrası kurutma işlemine geçilmiştir. Kolonlar; 1.5 ml santrifüj tüpüne alındıktan sonra 20-100 µl Buffer ATE ilave edilmiştir. Oda ısısında 1-5 dk inkübasyon işleminin ardından 14,000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir.



A.

B.

Şekil 11. A) Parafin bloktan tümöral dokunun makrodiseksiyonla ayrılması. B) Parafine gömülü tümöral dokuların deparafinizasyon işlemi

Ekstraksiyon işleminden sonra DNA değerleri, Colibri Nanodrop cihazında DNA-50 değeriyle ölçülmüştür. Böylece DNA ölçüm sonuçlarına göre, PCR işleminde kullanılacak DNA hacimleri tespit edilmiştir. PCR işlemi, *KRAS/BRAF/PIK3CA* Array (Randox) kitinin Multipleks PCR protokolü izlenerek VERITI cihazında gerçekleştirilmiştir.

PCR sonucu elde edilen ürünlerin, Mikroarray Hibridizasyon, görüntüleme ile sonuç eldesi işlemleri, Evidence Investigator (Randox) cihazında, EV3799A/B *KRAS/BRAF/PIK3CA* Array kitine ait Mikroarray Hibridizasyonu, görüntüleme ve sonuç eldesi protokolleri izlenerek gerçekleştirilmiştir;

1. Hibridizasyon buffer EV889, primer yıkama buffer ile sekonder yıkama buffer analiz öncesinde 60 dereceye ayarlanmıştır.
2. ‘*KRAS/BRAF/PIK3CA* Conjugate’ ile yıkama buffer kullanım öncesi oda sıcaklığına getirilmiştir.
3. Önceden ısıtılan Hibridizasyon buffer EV889, analiz edilecek her bir biyoçipe 245 µl eklenip, biyoçip başına tek denatüre bir PCR reaksiyonunun 7.5 µl’i ilave edilip, reaktiflerin buharlaşmasının engellenmesi amacıyla sızdırmaz folyo ile kapatılmıştır.
4. Biyoçipler, 60 derecede 370 rpm’de 30 dk inkübasyon işlemine alınmıştır.

5. İnkübasyon sonrasında biyoçip içindeki reaksiyon, atık olarak dökülmüştür.
6. Önceden ısıtılan primer yıkama buffer, biyoçip başına 245 µl eklenerek 60 derecede 370 rpm’de 2 dk boyunca inkübe edilmiştir. Sonra reaksiyon dökülmüştür.
7. Aynı işlem sekonder yıkama buffer için tekrarlanıp, reaksiyon dökülmüştür.
8. Oda sıcaklığına getirilen yıkama buffer ile 3 hızlı yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.
9. Oda sıcaklığına getirilen ‘*KRAS/BRAF/PIK3CA* Conjugate’den 250 µl eklenerek biyoçipler 37 derecede 370 rpm’de 30 dk süresince inkübe edilmiştir.
10. Süre dolduğunda biyoçipteki reaksiyon, atık olarak dökülmüştür.
11. Sinyal reaktifini hazır 1:1 oranında hazırlayarak biyoçip başına 250 µl sinyal reaktifi eklenmiştir. 2 dk sonrasında Evidence Investigator (Randox)’a yüklenerek okuma işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu moleküler tanı cihazı ile analiz edilen *KRAS*, *BRAF* ve *PIK3CA* mutasyon tipleri Şekil 12’de gösterilmiştir.

Gen	Hedef	Baz Değişikliği	Kozmik ID
BRAF	V600E	G <u>T</u> G>GAG	476
KRAS	G12A	G <u>G</u> T>G <u>C</u> T	522
	G12R	G <u>G</u> T>G <u>C</u> T	518
	G12D	G <u>G</u> T>GAT	521
	G12C	G <u>G</u> T>IGT	516
	G12S	G <u>G</u> T>AGT	517
	G12V	G <u>G</u> T>G <u>I</u> T	520
	G13D	G <u>G</u> C>GAC	532
	G13C	G <u>G</u> C>IGC	527
	G13R	G <u>G</u> C>G <u>C</u> C	529
	Q61K	C <u>A</u> A>A <u>A</u> A	549
	Q61L	C <u>A</u> A>C <u>T</u> A	553
	Q61R	C <u>A</u> A>C <u>G</u> A	552
	Q61H(1)	C <u>A</u> A>C <u>A</u> C	554
	Q61H(2)	C <u>A</u> A>C <u>A</u> T	555
	A146T	G <u>C</u> A>A <u>C</u> A	19404
	A146P	G <u>C</u> A>C <u>C</u> A	19905
PIK3CA	E542K	GAA>A <u>A</u> A	760
	E545K	GAG>AAG	763
	H1047R	CAT>C <u>G</u> T	775
BRAF	Control	N/A	N/A
KRAS	Control	N/A	N/A
PIK3CA	Control	N/A	N/A

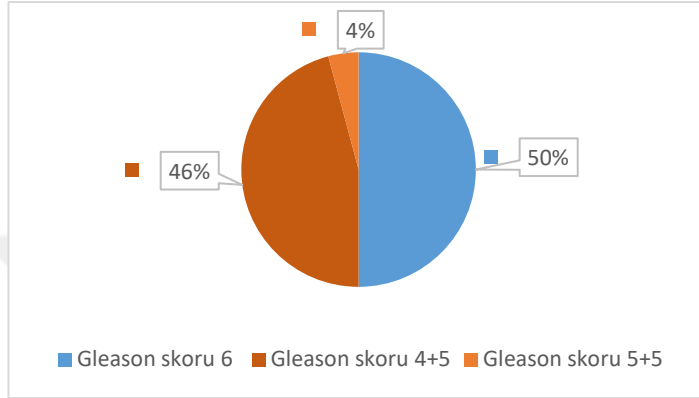
Şekil 12. ‘Evidence Investigator (Randox)’ ile analiz edilen *KRAS*, *BRAF* ve *PIK3CA* mutasyonları

3.4.İstatistiksel Analiz

Çalışmadaki tüm verilerin uygun tanımlayıcı istatistikleri (ortalama, standart sapma, minimum, maksimum, yüzde) hesaplanmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson ki-kare (chi-square), Fisher Freeman Halton (post hoc Bonferroni testi), Fisher exact testleriyle incelenmiştir. Değişkenler arasındaki ilişkileri incelemek için değişkenlerin türlerine göre kontenjans (contingency, rc) katsayısı, nokta iki serili (point biserial, rp) ve Kendall tau b (rk) korelasyon katsayıları hesaplanmıştır. İstatistiksel değerlendirmeler için SPSS 22.0 (Statistical Package for the Social Sciences) programı ve özel syntaxler kullanılmıştır. p değeri <0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 24 bireyin 12'si Gleason skoru ≤ 6 iken, 12'si Gleason skoru ≥ 9 'dur (Şekil 13). Hastaların yaş ortalaması 65.4 ± 7.9 (Min-Maks: 43-79)'dur. Çalışmadaki bireylerin preop PSA ortalama değeri 6.4 ± 3.1 (Min-Maks: 0.48-13.32) olarak bulunmuştur.



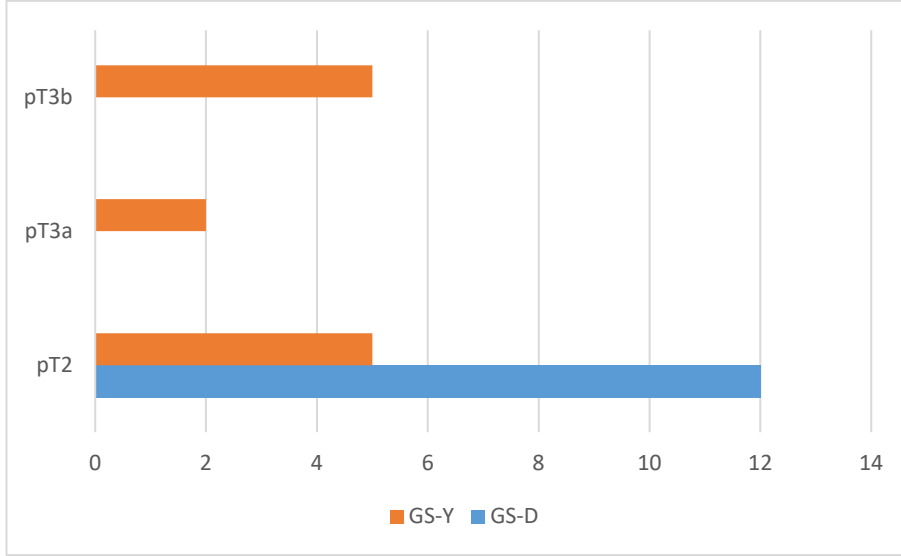
Şekil 13. PKa olgularının Gleason skor dağılımı

Gleason skoru düşük (GS-D) ve Gleason skoru yüksek (GS-Y) gruplara ait pT, lenf nodu, uzak metastaz ve AJCC evrelerine ait oranlar Tablo 6'de verilmiştir.

Tablo 6. Gruplara göre ve toplam pT, AJCC evre, lenf nodu metastazı, uzak metastaz görülme durumları.

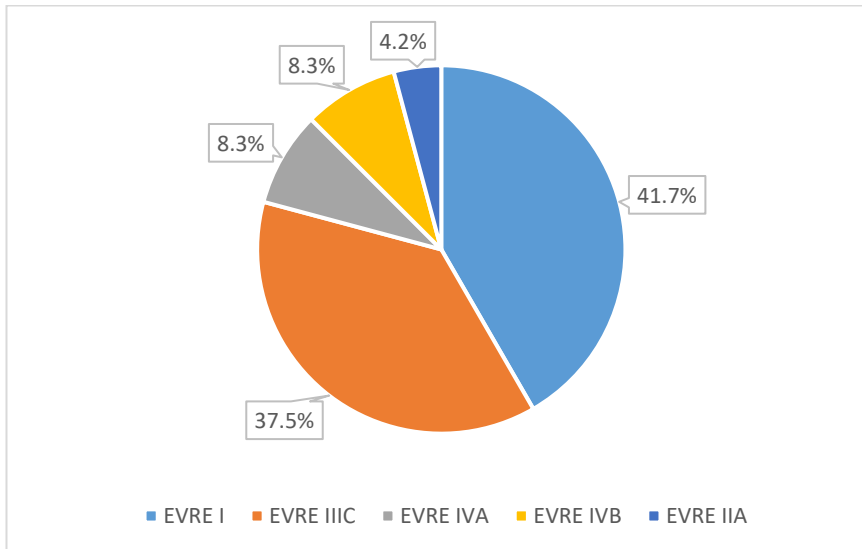
		GS-D		GS-Y		Toplam		
		n	%	n	%	n	%	
T	pT2	12	100.0	5	41.7	17	70.8	0.005*
	pT3a	0	0.0	2	16.7	2	8.3	
	pT3b	0	0.0	5	41.7	5	20.8	
N	N0	11	91.7	10	83.3	21	87.5	0.999*
	N1	1	8.3	2	16.7	3	12.5	
M	M0	11	91.7	11	91.7	22	91.7	0.999*
	M1	1	8.3	1	8.3	2	8.3	
	I	10	83.3	0	0.0	10	41.7	
Evre	IIA	1	8.3	0	0.0	1	4.2	<0.001*
	IIIC	0	0.0	9	75.0	9	37.5	
	IVA	0	0.0	2	16.7	2	8.3	
	IVB	1	8.3	1	8.3	2	8.3	

#: exact p değeri, *: Fisher Freeman Halton testi



Şekil 14. GS-D ve GS-Y grupların pT'ye göre dağılımı

GS-D ve GS-Y gruplar arasında pT açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmuştur ($p=0,005$). GS-D gruptaki pT2 kategorisinde olan bireylerin oranı (%100), GS-Y gruptaki pT2 kategorisinde olan bireylerin oranından (%41.7) anlamlı düzeyde daha yüksek saptanmıştır (Şekil 14). Ayrıca GS-Y gruptaki pT3b kategorisinde olan bireylerin oranı (%41.7), GS-D gruptaki pT3b kategorisinde olan bireylerin oranından (%0) anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur (her biri için $p<0.05$).



Şekil 15. PKa olgularının evreye (AJCC) göre dağılımı.

Gruplara göre lenf nodu metastaz durumu ve uzak metastaz görülme durumuna ait oranlar arasında anlamlı düzeyde fark gözlenmemiştir (her biri için $p=0.999$). Gruplara göre AJCC evrelerine ait oranlar arasında anlamlı düzeyde fark saptanmıştır ($p<0.001$). GS-Y gruptaki IIIC evresinde olan bireylerin oranı (%75), GS-D grupta yer alan aynı evredeki bireylerin oranından (%0) anlamlı düzeyde daha yüksek tespit edilmiştir ($p<0.05$). Tüm PKa olgularının evreye göre dağılımı Şekil 15'te gösterilmiştir.

Gruplara göre ve toplam olgulardaki vasküler invazyon, perinöral invazyon, periprostatik yayılım, seminal vezikül invazyonu, cerrahi sınır durumlarına ait veriler Tablo 7'de gösterilmiştir.

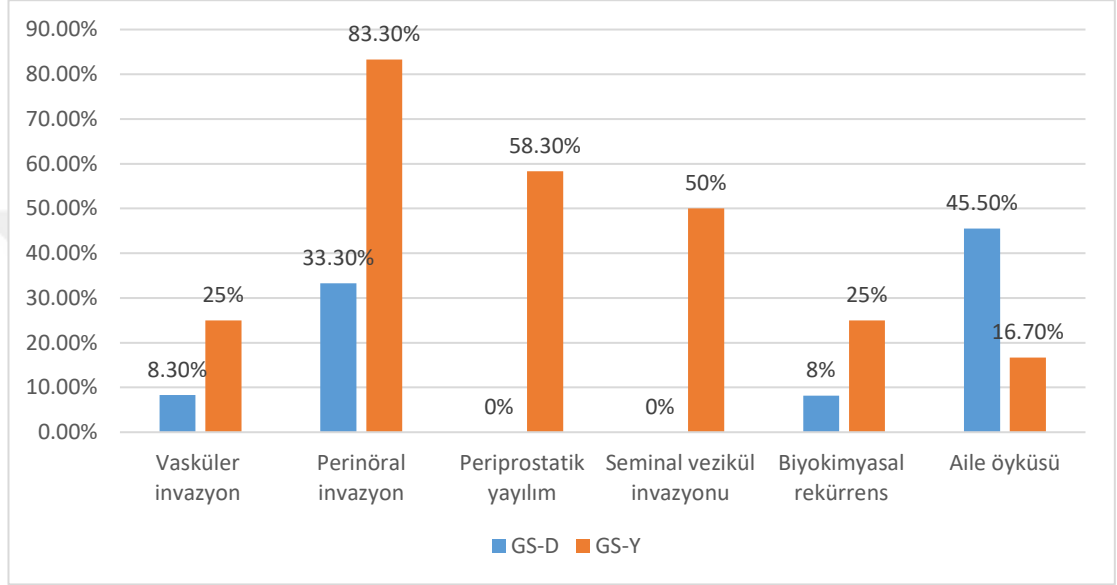
Tablo 7. Gruplara göre ve toplam olgulardaki vasküler invazyon, perinöral invazyon, periprostatik yayılım, seminal vezikül invazyonu, cerrahi sınır durumları.

		GS-D		GS-Y		Toplam		p#
		n	%	n	%	n	%	
<i>Vasküler invazyon</i>	<i>Yok</i>	11	91.7	9	75.0	20	83.3	0.590&
	<i>Mevcut</i>	1	8.3	3	25.0	4	16.7	
<i>Perinöral invazyon</i>	<i>Yok</i>	8	66.7	2	16.7	10	41.7	0.036*
	<i>Mevcut</i>	4	33.3	10	83.3	14	58.3	
<i>Periprostatik Yayılım</i>	<i>Yok</i>	12	100.0	5	41.7	17	70.8	0.005&
	<i>Mevcut</i>	0	0.0	7	58.3	7	29.2	
<i>S.vezikül invazyonu</i>	<i>Yok</i>	12	100.0	6	50.0	18	75.0	0.014&
	<i>Mevcut</i>	0	0.0	6	50.0	6	25.0	
<i>Cerrahi Sınırlar</i>	<i>Devamlı</i>	5	41.7	9	75.0	14	58.3	0.214*
	<i>Normal</i>	7	58.3	3	25.0	10	41.7	
<i>Biyokimyasal Rekürrens</i>	<i>Yok</i>	11	91.7	9	75	20	83.3	0.590&
	<i>Var</i>	1	8.2	3	25	4	16.7	
<i>Aile Öyküsü</i>	<i>Yok</i>	6	54.5	10	83.3	16	69.6	0.193&
	<i>Var</i>	5	45.5	2	16.7	7	30.4	

#: exact p değeri, &: Fisher Exact test, *: Pearson ki-kare testi

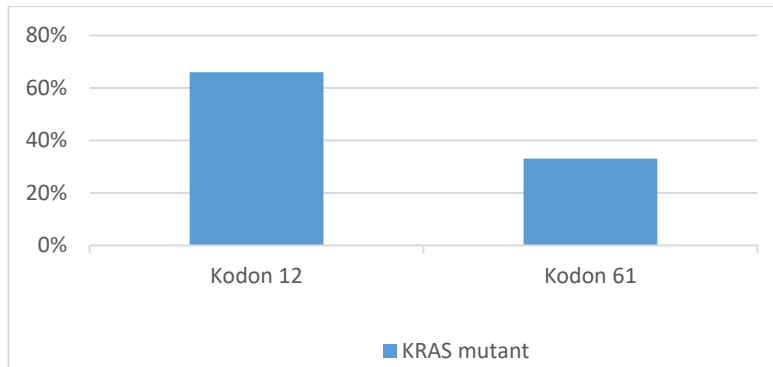
Gruplara göre vasküler invazyon oranları arasında anlamlı düzeyde fark yoktur ($p=0.590$). Gruplara göre perinöral invazyon oranları arasında anlamlı düzeyde fark bulunmuştur ($p=0.036$). GS-D gruptaki bireylerde perinöral invazyon (%33.3), GS-Y grupta yer alan bireylerdeki perinöral invazyona (% 83.3) göre anlamlı düzeyde daha düşük saptanmıştır. Gruplara göre periprostatik yayılım açısından anlamlı düzeyde fark bulunmuştur ($p=0.005$). GS-D bireylerde periprostatik yayılım gözlenmezken, GS-Y bireylerin %58.3'ünde periprostatik yayılım gözlenmiştir. Gruplara göre

seminal vezikül invazyonu açısından anlamlı düzeyde fark tespit edilmiştir ($p=0.014$). GS-D gruptaki bireylerde seminal vezikül invazyonu görülmemişken, GS-Y grupta yer alan bireylerin %50'sinde seminal vezikül invazyonu saptanmıştır. Gruplara göre cerrahi sınır pozitifliği ($p=0.214$), biyokimyasal rekürrens ($p=0.590$) ve aile öyküsü ($p=0.193$) açısından anlamlı düzeyde fark yoktur. Gruplara göre klinikopatolojik özelliklere ait dağılımlar Şekil 16'da gösterilmiştir.



Şekil 16. GS-D ve GS-Y gruplara göre klinikopatolojik özelliklerin dağılımı

Yapılan moleküler analizde PKa olgularımızın 3/24 (%12.5)'ünde *KRAS* mutasyonu (G12S, G12D-G12S, Q12R) saptanmış olup olguların hiçbirinde *BRAF* ve *PIK3CA* mutasyonuna rastlanmamıştır. Saptanan *KRAS* mutasyonlarının 2'si kodon 12, 1'i kodon 61 lokalizasyonundadır (Şekil 17).



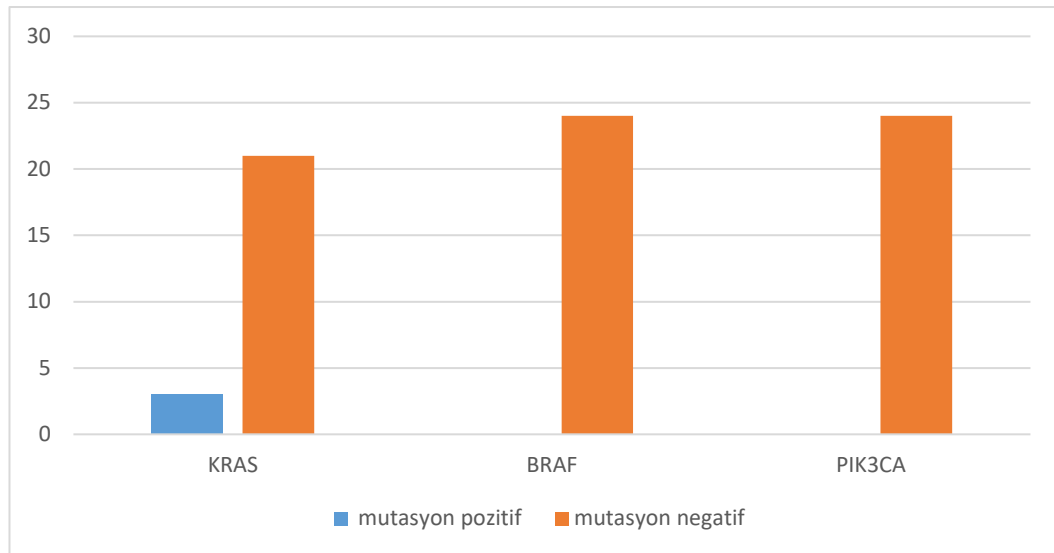
Şekil 17. Tespit edilen *KRAS* mutasyonlarının kodonlara göre dağılımı

KRAS mutasyonu tespit edilen olguların tamamı Gleason skoru 3+3=6 ve pT2'dir. Bu 3 olgunun 3'ünde de lenf nodu tutulumu, uzak metastaz, vasküler invazyon ve periprostatik yayılım gözlenmezken, 1 olguda perinöral invazyon saptanmıştır. GS-D ve GS-Y gruplara göre *KRAS*, *BRAF* ve *PIK3CA* mutasyon saptanma durumlarına ait veriler Tablo 8'de, dağılım grafiği Şekil 18'de verilmiştir. Gruplara göre *KRAS* mutasyon oranları arasında anlamlı düzeyde fark saptanmamıştır ($p=0.217$).

Tablo 8. Gleason skorlarına göre *KRAS*, *BRAF* ve *PIK3CA* mutasyon saptanma durumları.

		GS-D		GS-Y		Toplam		p#
		n	%	n	%	n	%	
<i>KRAS</i>	Negatif	9	75.0	12	100.0	21	87.5	0.217*
	Pozitif	3	25.0	0	0,0	3	12.5	
<i>BRAF</i>	Negatif	12	100.0	12	100,0	24	100.0	-
<i>PIK3CA</i>	Negatif	12	100.0	12	100,0	24	100.0	-

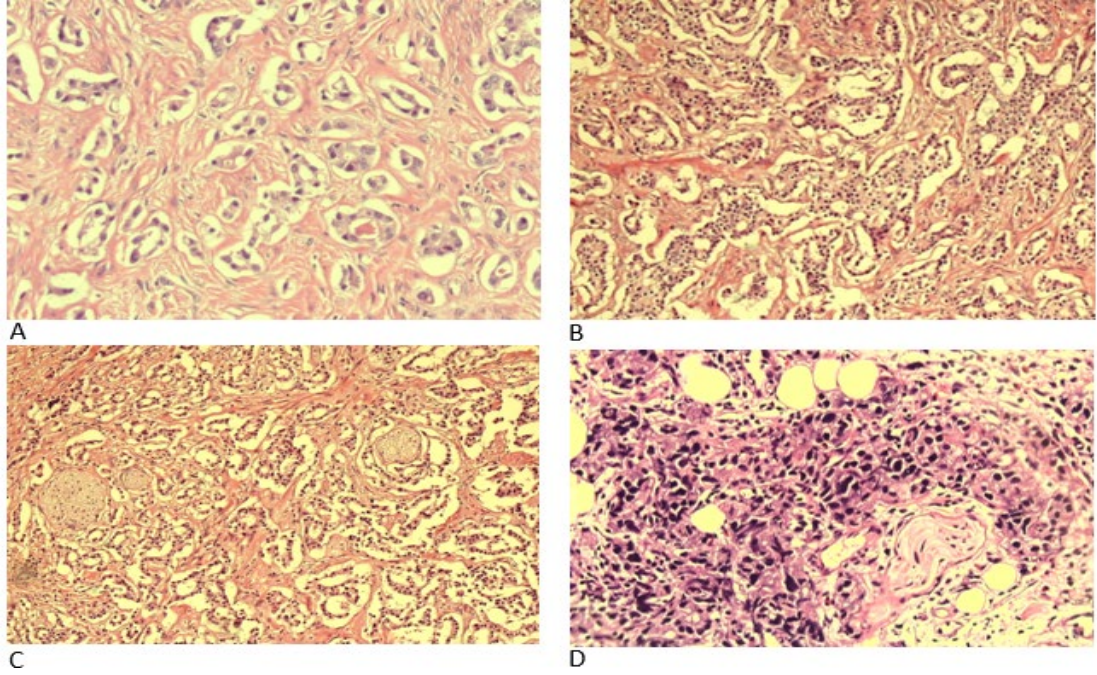
#: exact p değeri, *: Fisher Exact test



Şekil 18. Olguların *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA* mutasyon dağılımı

Ayrıca *KRAS* mutasyon varlığı ile yaş ($r_p=-0.249$ $p=0.240$), preop PSA düzeyi ($r_p=-0.359$ $p=0.085$), Gleason derecesi ($r_k=-0.364$ $p=0.075$), pT ($r_k=-0.233$ $p=0.250$), AJCC evre ($r_k=-0.381$ $p=0.050$), lenf nodu metastazı ($r_c=0.141$ $p=0.999$), uzak

metastaz ($rc=0.113$ $p=0.999$), vasküler invazyon ($rc=0.167$ $p=0.999$), perinöral invazyon ($rc=0.188$ $p=0.550$), periprostatik yayılım ($rc=0.236$ $p=0.530$), seminal vezikül invazyonu ($rc=0.213$ $p=0.546$), cerrahi sınır pozitifliği ($rc=0.188$ $p=0.550$), biyokimyasal rekürrens ($rc=0.167$ $p=0.999$) ve aile öyküsü ($rc=0.292$ $p=0.209$) arasında anlamlı düzeyde bir ilişki saptanmamıştır.



Şekil 19. A) Gleason skoru 3+3 olan PKa olgumuz, H&E x200. B) Gleason derece 4'lük komponent H&E x100. C) Gleason derece 4'lük komponentte perinöral invazyon H&E x100. D) Gleason skoru 5'lik komponentte perinöral invazyon ve ekstraprostatik yayılım H&E x200

5. TARTIŞMA

PKa, erkek cinsiyette görülen ikinci en yaygın malignite olup tüm dünya için önemli bir halk sağlığı problemidir. 2018 yılında 1.276.106 kişi yeni PKa tanısı almıştır (1). İskandinav ülkelerinde ve İsveç Karolinska Üniversitesi'nde topluma yönelik PKa erken tanısında US-eşliğinde prostat ince iğne aspirasyonu (İİA) poliklinik hizmeti olarak sürdürülmektedir (150). PKa, yavaş seyirli klinik gidişten agresif ölümcül bir seyre kadar değişken prognoz gösterebilmektedir. Lokalize PKa hastaları genellikle iyi bir prognoz gösterebilirler de, tanı anında metastatik hastalığı olanlar için 5 yıllık sağ kalım önemli ölçüde azalır (151).

PKa tedavisinde başlıca seçenek AD tedavisidir. AD, östrojenler, LHRH analogları/antagonistleri, anti androjenler gibi medikal ajanlarla yapılabilmekle birlikte altın standart cerrahi kastrasyondur. AD, hastalarda sıcak basması, vücut yağ kitlesinde artış, erektile işlev kaybı gibi yaşam kalitesini düşüren sonuçlar doğurabilmektedir (152). Bunun dışında hastaların önemli bir kısmında da zamanla kastrasyona direnç gelişmektedir (153). PKa tedavisinde AD yanı sıra cerrahi (RP), RT, KT (docetaksel, cabazitaksel vd.), termal ablasyon gibi seçenekler kullanılmaktadır (10). Radikal prostatektominin perioperatif mortalitesi düşük olsa da, majör kanama, postoperatif stres inkontinansı, impotans gibi riskleri bulunmaktadır. Keza RT sonrası erken ve geç dönemlerde hastalarda üriner ve intestinal sistem problemleri ortaya çıkabilmektedir (154-155).

Çağımızda PSA taraması, PKa'nın erken evrelerde tespitini mümkün kılmıştır. Fakat bu durum, yaşam kalitelerini veya yaşam beklentilerini etkilemeyecek bir grup hasta için aşırı tanı/tedavi riskini beraberinde getirmektedir. Düşük riskli hasta grubunda bekle-gör veya aktif izlem (sürveyans) yaklaşımları da seçenekler arasındadır (10). Bu yaklaşımda hastalarda kanserle yaşamının psikolojik baskısı önemli bir sorundur.

Tüm bunlar göz önüne alındığında PKa tedavisi, hem erken evre hem de ileri evre hastalıkta problemli olabilmektedir. PKa'nın her hastada benzersiz seyir göstermesi, tedavi için standart yaklaşımlar yerine kişiye özgü seçeneklere ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Dünyada ve Türkiye'de 1990'lı yıllardan itibaren PKa'de gümüş bağlayan nükleer organize edici bölgeler (AgNOR)'un sayımına ilgi olmuştur;

İzmir’de yapılan ve özellik göstermeyen, hiperplastik ve karsinomatöz prostat dokularını içeren karşılaştırmalı bir seride AgNOR değerleri sırası ile ortalama 2.14, 3.22 ve 6.77 olarak gözlenmiş ve geniş serilerde desteklendiği takdirde bu yöntemin prognoza ilişkin bilgi veren yardımcı bir yöntem olarak kullanılabileceği düşünülmüştür (156).

Hedefe yönelik onkolojik yaklaşımlarla cerrahi, RT ve KT’nin yan etkilerinden kaçınılacak, hastaların yaşam kalitesi yükselecek ve gereksiz organ kayıplarının önüne geçilebilecektir. Bu bağlamda PKa gelişiminde rol alan özgün molekül veya yolakları keşfetmek son derece önemlidir.

Karsinogenez, birçok genetik ve epigenetik değişikliklerin rol aldığı çok aşamalı bir süreçtir. Protoonkogenlerden, aktive edici mutasyonlar sonucu gelişen onkogenler, karsinogenezde itici rol oynar. *BRAF*, *KRAS*, *HER2*, *EGFR*, *APC*, *PIK3CA* gibi genler insan kanserlerinde yaygın olarak saptanan protoonkogenlerdir (157). Protoonkogenlerdeki somatik mutasyonlar özellikle kolorektal kanserde yüksek metastaz insidansı ile ilişkilendirilmiş olup tedaviye yanıt farklılıklarıyla sonuçlanmıştır (158).

PKa’nın moleküler altyapısı, uzun yıllar boyunca net olarak aydınlatılamamıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarla birlikte bir hayli ilerleme kaydedilse de konu karmaşıklığını halen korumaktadır. PKa’nın moleküler temelini anlamadaki esas zorluk, PKa’nın heterojenitesinden kaynaklanmaktadır. Ikeda ve ark. 67 prostat kanseri olgusunda yaptıkları yeni nesil sekanslama çalışmasında (YNS) 63 farklı gende 148 farklı değişiklik tespit etmiştir (40). Hiçbir hastada birebir aynı moleküler değişiklik gözlenmemiştir. Bu çeşitlilikle birlikte PKa’da üzerinde durulan başlıca genomik sapmalar TP53, AR, PI3K, MAPK yolakları ile ilişkili genler ve *TMPRSS2* füzyonlarıdır. Kanser progresyonunda rolleri belirlenmiş *PIK3CA*, *KRAS*, *BRAF* mutasyonel değişiklikleri PKa’da sınırlı bir hasta grubunda tespit edilmiştir (40, 45, 53). Bu durum, seçilmiş hasta grubunda hedefe yönelik tedavi seçeneklerinin uygulanabilirliğini araştırmak için umut vericidir. Çalışmamızda hücre içi sinyal iletim mekanizmalarından hem PI3K hem de MAPK yolaklarını eşzamanlı analiz edip bu iki farklı yolağa ait onkogenlerin PKa’daki sıklığı araştırılmıştır.

RAS genlerinde tanımlanan mutasyonların çoğu ekzon 2 ve 3'ü etkiler. *KRAS* izoformunda 12, 13 ve 61. kodonlardaki G12D, G13D ve Q61H değişiklikleri, nokta mutasyonlarıyla oluşan başlıca amino asit değişimleridir. 12. Kodonda GGT→GAT değişimi ile karakterize olan G12D mutasyonu, glisin yerine aspartik asidin geçmesiyle sonuçlanır. Böylece hücre içinde GTPaz aktivitesinde bozulma meydana gelir ve *KRAS* GTP'ye bağlı aktif formda kilitlenir (159-161). Literatürde PKa'da şimdiye kadar incelenen *KRAS* mutasyon sıklıkları %0 ile %40 arasında bildirilmiştir (11-48). *KRAS* mutasyonları, toplumların etnik kökenlerine bağlı olarak farklı popülasyonlarda değişken sonuçlar vermiştir. Asya toplumlarında *KRAS* mutasyon sıklıkları Batı toplumlarına göre daha yüksek oranlarda bildirilmiştir (Tablo 9).

Shen ve ark. (26), Çin popülasyonunda 121 hastada yaptıkları çalışmada *KRAS* mutasyon sıklığını %9.1 olarak bildirmişlerdir. Benzer şekilde Cho ve ark. (24), Koreli hastalarda %7.3; Salmaninejad ve ark. (36), İranlı hastalarda %5.7 şeklinde oran bildirmişlerdir. Bu çalışmalara paralel olarak çalışmamızda *KRAS* mutasyon sıklığı %12.5 olarak bulunmuştur. Amerika ve bazı Batı toplumlarında yapılan çalışmalarda bu oran, Asya popülasyonlarında yapılan çalışmalardan farklı olarak %0, %3 gibi daha düşük oranlarda bildirilmiştir (25,27,29,33-34). Bu farklılıkların, temel olarak etnik kökenle ilişkili olduğu düşünmekteyiz. Bununla birlikte Watanabe ve ark. (18) Yaptıkları çalışmada *KRAS* mutasyon sıklığını Japon hastalarda % 14.2, Hawaiiili Japon hastalarda ise %5 oranında saptamışlardır. Hawaiiili Japonlarda bu oranın, bu ve diğer Japonya kökenli çalışmalara kıyasla bir miktar düşük olması, çevresel ve epigenetik faktörlerin *KRAS* üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca Amerika'da yapılan çalışmalardaki belirgin derecede düşük olan *KRAS* mutasyon sıklığı, PKa etiyolojisinde yer alan genetik dışı faktörlerin fazlalığı nedeniyle, nispeten daha düşük oran göstermesine bağlı olabilir.

Türkiye'de bugüne kadar PKa'da *KRAS* mutasyon sıklığını inceleyen iki çalışma mevcuttur. Vural ve ark. (37) söz konusu mutasyonu %8.8 oranında bildirmişlerdir. Bu oran, bizim çalışmamıza yakın bir sonuç göstermektedir. Ayrıca *KRAS* mutasyonu saptanan gen bölgeleri de (ekzon 2 (kodon 12/13) ve ekzon 3 (kodon 61)) çalışmamızla benzerdir. Silan ve ark. (32) ise Sivas'ta tanı verilen PKa hastalarında yaptıkları çalışmada *KRAS* mutasyon sıklığını %40 olarak tespit etmişlerdir. Bu, literatürde şimdiye kadarki belirtilen en yüksek orandır. Bu çalışmaya

dâhil edilen Gleason skoru ≥ 7 olan hasta sayısının, bizim çalışmamıza kıyasla daha fazla olması veya ülke içindeki bölgesel ve çevresel değişiklik böyle bir farklılığa sebebiyet vermiş olabilir. Ayrıca bu çalışmada otomatik reverse hibridizasyon yöntemi kullanılmışken bizim çalışmamızda mikrodizi hibridizasyon yöntemi kullanılmıştır. Ek olarak hastaların yaş ortalaması, bizim çalışmamızda 65.4 iken, mevcut çalışmada 71.76'dır. Silan ve ark.'nın çalışmasındaki bir diğer dikkat çekici bulgu 9 olguda (30%) saptanan kombine kodon 12-13 mutasyonlarıdır. Literatürde kombine mutasyon saptanan bir diğer çalışma, Konishi ve ark. (20) tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmada 1 olguda (%11.1) kombine 13-61 mutasyonu saptanmıştır. Bizim çalışmamızda hiçbir olguda kombine mutasyona rastlanmamıştır.

Ras ekspresyonunun PKa hücre hatlarında (LNCaP) tümör oluşturma ve kastrasyona direnç yeteneğini arttırdığı gözlenmiştir. Bakin ve ark. RAS ekspresyonu artışı ve MAP kinaz sürekli aktivasyonunun, hücrelerde büyüme, PSA ekspresyonu ve tümöröenez için androjen gerekliliğini azalttığını göstermiştir (162-164). Ayrıca PKa'da *KRAS* mutasyonunun, CD24a ekspresyonu aracılığıyla kemik metastazına yatkınlığı artırdığı ileri sürülmüştür (165). Bu çalışmalara paralel olarak Anwar ve ark. (16), evre III ve IV olan hastalarda *KRAS* mutasyon sıklığını evre I ve II olan hastalara kıyasla 2 kat daha yüksek bulmuştur. Suzuki ve ark. (19)'nın çalışmasında da *KRAS* mutasyonlu tümörlerin tümü kötü diferansiye saptanmıştır. Diğer taraftan Shen ve ark. (26) ile Cho ve ark. (24)'nin çalışmalarında olduğu gibi, bizim çalışmamızdaki verilere göre; *KRAS* mutasyon durumu ile evre (AJCC), Gleason skor yüksekliği veya metastatik hastalık arasında anlamlı düzeyde ilişki görülmemiştir.

KRAS inhibitörleri, hedefe yönelik tedavide ilgi odağı olmasına rağmen şimdiye kadar onaylanmış herhangi bir ajan bulunmamaktadır. Çalışmamıza göre PKa'da *KRAS* mutasyonlarının kayda değer bir rolü olduğu kanaatindeyiz. Bu nedenle KRAS hedef tedavi molekülleri halen araştırılmaya değer bir alandır.

PKa karsinogenezinde suçlanan MAPK sinyal yolağının bir diğer elemanı BRAF'tır. *BRAF* mutasyonları en sık 599.kodonda (V600E) valin-glutamik asit değişikliği ile karakterizedir (6). Bir mutant BRAF inhibitörü olan Vemurafenib'in ileri evre malign melanomlarda kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır. Aynı şekilde Sorafenib, ilerlemiş renal hücreli karsinomda kullanılan bir mutant BRAF ve CRAF

inhibitörüdür. PKa'da *BRAF* mutasyon oranları çeşitli çalışmalarda farklı sonuçlar vermiştir. Asya toplumlarında yapılan birkaç çalışmada %15'e ulaşan sonuçlar bildirilmiş olsa da, Batı ülkelerinde ve Asya'da yapılan diğer birçok çalışmada, bizim çalışmamızla tutarlı şekilde mutasyon saptanmamıştır (24-30,34,36,38,40-42,44,49-59).



Tablo 9. Literatürde insan PKa dokularında tespit edilen *KRAS*, *BRAF* ve *PIK3CA* mutasyonlarına ait oranlar, pozitif bulunan kodonlar/aminoasit değişiklikleri ve analiz yöntemleri.

		<i>KRAS</i>	<i>BRAF</i>	<i>PIK3CA</i>	<i>n</i>	Etkilenen kodon/Aminoasit değişikliği	Yöntem
1	Carter 90	0%	-	-	24	-	PCR/Oligodeoksinükleotid hibridizasyon
2	Capella 91	0%	-	-	10	-	PCR/Oligonükleotid hibridizasyon
3	Gumerlock 91	0%	-	-	19	-	PCR/Oligonükleotid hibridizasyon
4	Konishi 92	%26	-	-	23	<i>KRAS</i> 12	PCR/Oligonükleotid hibridizasyon
5	Moul 92	0%	-	-	24		PCR/Oligonükleotid hibridizasyon
6	Anwar 92	2.6%	-	-	75	<i>KRAS</i> 12,61	PCR/Oligonükleotid hibridizasyon
7	Pergolizzi 93	6.2%	-	-	16	<i>KRAS</i> 12	PCR/Oligonükleotid hibridizasyon
8	Watanabe 94	14.2% Japon 5% Hawaiiili Japon 0% Kolombiyalı 0% US beyaz 0% US siyahi	-	-	21 Japon 20 Hawaiiili Japon 10 Kolombiyalı 15 US beyaz 15 US siyahi	<i>KRAS</i> 12,61	PCR/Oligonükleotid hibridizasyon
9	Suzuki 94	11%	-	-	18	<i>KRAS</i> 12,61	Direkt sekanslama PCR/SSCP (single strand conformation polymorphism)
10	Konishi 95	22%	-	-	9	<i>KRAS</i> 13,61 1 olgu kombine 13-61	Direkt sekanslama PCR/SSCP
11	Moyret-Lalle 95	0%	-	-	27	-	Direkt sekanslama PCR/SSCP
12	Konishi 97	12.9% Japon 3.2% Amerikan	-	-	70 Japon 30 Amerikan	<i>KRAS</i> 12	Direkt sekanslama PCR/SSCP
13	Shiraishi 98	16%	-	-	81	<i>KRAS</i> 12	PCR/SSCP MASA (Mutant Allele-Specific Amplification)
14	Cho 2006	7.3%	10.2%	-	206	<i>KRAS</i> 12,13 <i>BRAF</i> V600E, V600M, V600A	PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ve direkt sekanslama

15	MacConaill 2009	0%	0%	%2.1	95	<i>PIK3CA</i> H1047R G1049R	PCR/Sanger sekanslama Kütle spektrometrik genotipleme
16	Shen 2010	%9.1	0%	-	121	<i>KRAS</i> 12,13	ME (Mutation Enriched)-PCR birleşik sekanslama
17	Taylor 2010	1.2%	0 %	1.2%	156	<i>KRAS</i> 12 <i>PIK3CA</i> E545K, H1047R	PCR/Kütle spektrometri (iPLEX Sequenom)
18	Choi 2010	29.1%	6.8%	-	103	<i>KRAS</i> 12 <i>BRAF</i> V600E	PCR/Sekanslama
19	Agell 2011	0%	0%	0%	102	-	PCR/Direkt sekanslama
20	Ren 2012	3.1%	0%	-	96	<i>KRAS</i> 12	PCR/Taqman kantitatif yöntemi Sanger sekanslama
21	Sha 2012	8.91%(Pirosekanslama) 3.96%(Sanger sekanslama)	-	-	101	<i>KRAS</i> 12,13	Pirosekanslama Sanger sekanslama
22	Silan 2012	40%	-	-	30	<i>KRAS</i> 12,13 9 olgu kombine 12 ve 13	PCR/StripAssay otomatik ters hibridizasyon
23	Grasso 2012	-1.6%	-	-	59	#	Egzom sekanslama
24	Barnett 2014	0%	0%	4.5%	40	<i>PIK3CA</i> Q546P, H1047R	Sequenom MassArray kütle spektrometri ve Sanger sekanslama
25	Fu 2014	2.3 %	-	-	88	<i>KRAS</i> 12,13	PCR/Sanger sekanslama
26	Salmaninejad 2015	5.7%	0%	-	35	<i>KRAS</i> 12,13	PCR/Sanger sekanslama
27	Vural 2018	8.8%	-	-	45	<i>KRAS</i> Egzon 2, egzon 3*	PCR/Yüksek çözünürlüklü DNA eritme analizi
28	Gonzalez 2018	28.3%	5%	3.3%	60	<i>KRAS</i> 12,13 <i>BRAF</i> V600E <i>PIK3CA</i> Q546P, H1047Y	ARMS (Amplification Refractory Mutation System) PCR/Custom qBiomarker Somatic Mutation PCR Arrays Prob bazlı analiz

29	Jaratlerdrisi 2018	0.7%	-	0%	15	#	Tüm genom sekanslama
30	Ikeda 2019	2.8%	0%	10.4%	67	#	NGS (Next Generation Sequencing)
31	Toomey 2020	0%	0%	4.8%	83	#	PCR/Kütle spektrometri bazlı tek nükleotid polimorfizm genotipleme teknolojisi (Agena MassArray technology)
32	Cohen 2003	-	0%	-	17	-	PCR/restriksiyon enzim analizi, direkt sekanslama
33	Burger 2006	-	0%	-	79	-	Allele-specific PCR Direkt sekanslama
34	Liu 2008	-	0%	-	93	-	PCR/Yüksek rezolüsyonlu DNA eritme analizi
35	Köllerman 2010	-	0%	-	43	-	PCR/Sekanslama
36	Robinson 2015	-	0.6%	%4	150	#	Tüm egzom sekanslama
37	Beltran 2016	-	1.2%	-	81	#	Tüm egzom sekanslama
38	Cohn 2017	-	0%	-	23	-	PCR/Direkt Sanger Sekanslama
39	Jafarian 2018	-	4%	-	100	<i>BRAF</i> V600E	PCR/Direkt sekanslama
40	Suh 2020	-	15%	-	20	<i>BRAF</i> K601E**	tNGS (targeted Next Generation Sequencing)
41	Kasajima 2020	-	4.7%	-	21	<i>BRAF</i> K601E	Nükleotid sekanslama
42	Müller 2007	-	-	0%	12	-	PCR/SSCP ve otomatik nükleotid sekanslama
43	Sun 2009	-	-	%3	40	<i>PIK3CA</i> E545A	PCR-SSCP Direkt sekanslama
44	Boormans 2010	-	-	0%	63	-	PCR/Otomatik sekanslama
45	Beltran 2013	-	-	4%	45	#	tNGS
46	Barbieri 2013	-	-	4%	112	#	Egzom sekanslama

47	Millis 2016	-	-	3.4%	173	<i>PIK3CA</i> E545K H1047R***	NGS
48	Kumar 2016	-	-	-1.8	54	-	Tüm egzom sekanslama aCGH (Mikrodizi Tabanlı Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon) RNA transkript profilleme Egzom sekanslama
49	Huang 2017	-	-	<3%	102	#	Egzom sekanslama
50	Rescigno 2018	-	-	6%	418	#	MiSeq™ bazlı NGS
51	Dawson 2020	-	-	4.5%	1010	#	NGS
52	Schultz Loda Sander 2015	#.	2.4%	-1.8%	333	<i>BRAF</i> V600e dışı nonkanonik <i>PIK3CA</i> E545K, Q546K, N345I, C420R, E474A, 1 olgu kombine E542A ve N345I	Tüm egzom sekanslama
53	Hovelson 2015	#.	#	#	114	#	NGS
54	Grasso 2015	#	-1.8%	-1.8%	53	<i>BRAF</i> V600insHT	NGS qRT-PCR
55	Iacono 2016	-	-	#	60	#	NGS
56	Seed 2017	-	-	#	110	#	Hedef ampikon sekanslama (Illumina MiSeq platform) Egzom sekanslama aCGH tNGS
57	Barata 2018	#	#	#	66	#	
58	Mitri 2018	#	#	#	10	#	Tüm genom sekanslama (Illumina NextSeq)
59	Hussain 2018	-	-	-3.75.	80	#	Hedeflenmiş egzom sekanslama
60	Abida 2019	#	#	#	429	#	Tüm genom sekanslama Transkriptom sekanslama
61	Zhao 2020	-	#	-	100	#	Tüm genom bisülfat sekanslama Derin tüm genom ve transkriptom sekanslama
62	Crumbaker 2020	#	#	#	13	#	Derin tüm genom sekanslama
63	Current	12,5%	0%	0%	24	<i>KRAS</i> 12, 61	PCR/Microarray Hibridizasyon (Randox moleküler tanı cihazı)

#: Ulaşılamadı (Özellikle yeni nesil sekanslama ile yapılan çalışmalarda eşzamanlı çok sayıda gen bölgesinde amplifikasyon, delesyon, mutasyon dâhil çok sayıda genetik değişiklik analiz edildiğinden bazı çalışmalarda söz konusu mutasyonel değişikliklere ait oran bilgisine veya kodon bilgisine ulaşılammıştır).

*Egzon 2, 12 ve 13. kodonu; egzon 3, 61.kodonu içermektedir. Çalışmada egzon bilgisi verilmiş olup kodonlara ait ayrıntıya ulaşılammıştır.

**Çalışmada 3 olgudan 2'si K601E mutasyonu içerip diğer olgunun bilgisine ulaşılammıştır.

***En sık bulunanlar

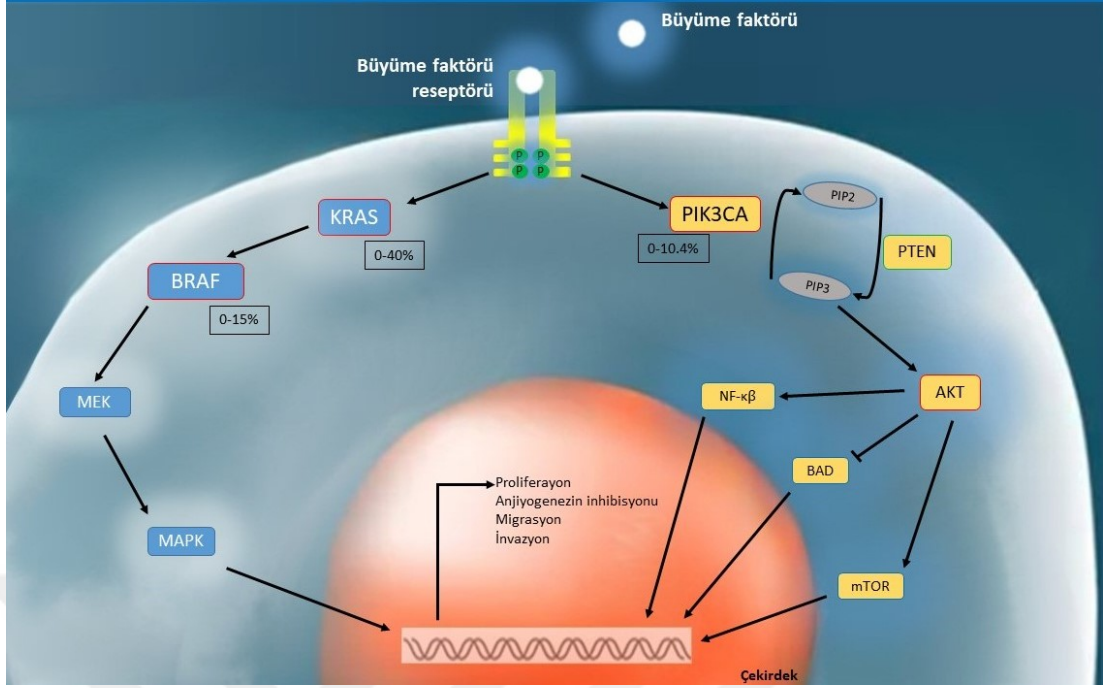
'The Cancer Genome Atlas (TCGA)' verilerine göre PKa'da *BRAF* mutasyon sıklığı %1,4 oranında belirtilmiştir (166). Bu mutasyonlar birkaç aktive edici mutasyonu içermekte olup, kanonik V600E dışındaki varyantlardır. Cho ve ark. (24) 206 hastada yaptıkları çalışmada *BRAF* mutasyon oranını %10 olarak bildirmişlerdir. Keza bu çalışmada tespit edilen mutasyonların çoğunluğu da, nadir görülen ve bizim çalışmamızda değerlendirmedığımız V600A ve V600M varyantlarıdır. Söz konusu çalışmada sadece V600E mutasyon pozitiflikleri oranlanacak olursa bizim çalışmamıza benzer şekilde düşük bir değer (~%1) göstermektedir.

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, Suh ve ark. (57) lokal ileri PKa'da inceledikleri *BRAF* mutasyon oranını literatürdeki en yüksek değer olan %15 şeklinde bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada bulunan yüksek *BRAF* mutasyon oranının, çalışmanın yeni nesil sekanslama (YNS) yöntemi ile yapılmış olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Nitekim saptanan *BRAF* mutasyonlarının 2/3'ü K601E değişikliği şeklindedir. K601E mutasyonu, nispeten yeni olmakla birlikte patojenik olduğu Clinvar and OncoKB veritabanları tarafından doğrulanmıştır. Biz çalışmamızda, *BRAF*'ın hotspot sınıf I mutasyonu olan ekzon 15'teki V600E mutasyonunu inceledik. Bu nedenle ekzon 15'teki diğer mutasyonlar ve ekzon 11'deki mutasyonlar çalışmamız dâhilinde değildir. V600E mutasyonu *BRAF*'ın onkojenik potansiyeli iyi bilinen hotspot mutasyonudur. Bunun dışındaki *BRAF* mutasyonları sınıf II (kinaz-aktif non V600E), sınıf III (RAS bağımlı) ve önemi bilinmeyen varyantlar (ÖBV) olarak kategorize edilmiştir. Sınıf II *BRAF* mutasyonları orta/yüksek kinaz aktivitesi gösterirken, sınıf III mutasyonlar çok zayıf kinaz aktivitesi gösteren veya hiç kinaz aktivitesi bulunmayan varyantlardır (167). YNS yöntemi ile bütün bu varyantları içine alan birçok gen bölgesi aynı anda analiz edilebilir. Fakat YNS birçok merkez için maliyet etkin olmayıp, tesadüfi genetik varyantlar nedeniyle patojenik potansiyeli birebir yansıtmayan sonuçlar vermesi bir dezavantajdır.

PKa'da yalnızca V600E mutasyonunun incelendiği çalışmalardan biri olan, Jafarian ve ark.'nın 100 olguda yaptıkları analizde 4% oranında pozitiflik saptanmıştır (56). Bu çalışmada hastaların yaş ortalaması bizim çalışmamızdakine kıyasla daha yüksek olup (sırasıyla 71,83; 65,4), mutasyon saptanan olguların tamamı 70 ile 90 yaş aralığındaki hastalardır. Ayrıca olguların %80'inden fazlasında Gleason skoru>6 olup bizim çalışmamızda bu oran %50'dir. Diğer taraftan Gleason skoru >6 olan olguların baskın olduğu Agell ve ark.'nın çalışmasında, bizim çalışmamıza paralel şekilde *BRAF* mutasyonu bulunmamıştır (29).

Choi ve ark. (28) Kore'de 100 hastada %6,8 oranında, Martinez-Gonzalez (38) ve ark. ise İspanya'da 60 hastada %5 oranında *BRAF* V600E mutasyonu bildirmişlerdir. Bu sonuçlarla bizim çalışmamızın sonuçlarının gösterdiği uyumsuzluğun temelinde, örneklem genişliğinin veya etnik farklılıkların rol oynadığı düşünülebilir. Diğer yandan Tablo 9'da gösterildiği gibi, gerek Asya (Japonya, Çin, Kore, İran) gerek Batı Avrupa (Almanya, İrlanda) ve Amerika dahil birçok bölgenin incelendiği, geniş örneklem içeren çok sayıda farklı çalışmada bizim çalışmamıza benzer sonuç (%) elde edilmiştir (25-27,29-30,34,36,40-41,49-52,55). Bu bağlamda *BRAF* mutasyonunun PKa'daki rolünün sınırlı olduğunu düşünmekteyiz.

Son yıllarda gelişen teknoloji ile birlikte kan ve diğer vücut sıvılarındaki dolaşan tümöral DNA (dtDNA), hücre bağımsız DNA (hbDNA) gibi sıvı biyopsi örneklerinde sekanslama çalışmaları yapmak mümkün olmuştur. PKa'de bu yöntemle yapılan *BRAF* mutasyon analizleri mevcuttur. Prophet ve ark. (168) yaptıkları dtDNA temelli genomik profillemde *BRAF* mutasyon oranını %2,8 olarak bildirmişlerdir. Steinwald ve ark. (169). kastrasyon dirençli PKa hastalarında hbDNA ile yaptıkları analizde %6,8 oranında *BRAF* mutasyonu tespit etmişlerdir. Ne var ki bu pozitiflikler çoğunlukla ÖBV'leri içermektedir. Ayrıca doku biyopsisi ile doğrulanmayan analizlerde sıvı biyopsi sonuçlarının güvenilirliği oldukça tartışmalı bir konudur. Yapılan bir çalışmada tümör hücrelerinde saptanan ekzonik somatik tek nükleotid değişiklerinin %30 gibi büyük bir bölümünün doku temelli analizlerle tutarsızlık göstermiştir (170).



Şekil 20. Hücre içi sinyal iletim yolları etkileşimi ve literatürde PKa dokularında *KRAS*, *BRAF* ve *PIK3CA*'da saptanan mutasyon sıklığı aralıkları

Karsinogenezde, moleküler zeminin en büyük komponentlerinden biri de PI3K/AKT/MTOR yolağıdır. PI3K Delta inhibitörü olan Idelalisib, 2014 yılından beri nöks veya refrakter kronik lenfositik lenfoma hastalarında kullanılmaktadır. Benzer şekilde Copanlisib, Duvelisib ve Alpelisib de FDA (Food and Drug Administration) tarafından onaylanmış PI3K inhibitörleridir. PKa'da henüz onaylanmış bir PI3K inhibitörü olmamakla birlikte Ipatasertib ve Capivasertib gibi ilaçların faz I-II çalışmaları devam etmektedir (ClinicalTrials.gov: [NCT01485861](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01485861) ve [NCT02525068](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02525068)).

PI3K yolağının çeşitli aşamaları PKa moleküler araştırmalarında her zaman ilgi odağı olmuştur. Bu yolağın hemen her aşamasında genetik değişiklikler tespit edilmiştir (171). Lokalize PKa'da %42, metastatik PKa'da %100 oranında PI3K yolağında düzensizlik saptanması; bu yolağın kastrasyon direncinde de rolü olduğunu düşündürmektedir (27). *PIK3CA* geni, PI3K'nın katalitik alt ünitesini kodlayan genidir. Bu gendeki mutasyonlar çoğunlukla E545K ve E542K mutasyonlarıdır (172). Literatürde PKa'da *PIK3CA* mutasyon sıklıkları %0-%10.4 arasında bildirilmiştir (Şekil 20). Bizim çalışmamızda hiçbir olguda *PIK3CA* mutasyonuna rastlanmamıştır.

MacConaill ve ark. (25) çalışmalarında 95 hastada %2,1, Taylor ve ark. (27) 156 hastada %1,2, Toomey ve ark. (41) 83 hastada %4,8 oranında *PIK3CA* mutasyonu

saptamışlardır. Olgu sayısı nispeten geniş olan bu üç çalışmada mutasyon oranının bizim çalışmamızdan hafifçe yüksek olması, her üç çalışmanın da yüksek verimli genotipleme (sırasıyla OncoMap, iPLEX ve Agena) ile kütle spektrometrik yöntemle yapılmasına bağlı olabilir. Ek olarak MacConaill (25) ve ark.nın çalışmasında inceleme, taze tümör örnekleri üzerinde yapılmıştır. Bir diğer kütle spektrometrik yöntemle yapılan analizde, Barnett ve ark. (34) 40 hastadan 2'sinde *PIK3CA* mutasyonu saptamışlardır. Bu mutasyonların biri bizim çalışmamız kapsamındaki H1047R mutasyonu iken diğeri bizim değerlendirmedığımız Q546F mutasyonudur.

Agell ve ark. 102 hastada yaptıkları analizde bizim çalışmamıza paralel olarak hiç mutasyon saptamamışlardır (29). Aynı şekilde Jaratlerdrishi tüm genom sekanslama yöntemiyle 15 olguda %0 *PIK3CA* mutasyon oranı elde etmiştir (39). Bunun dışında Boorman ve ark. (62) da 63 hastada taze tümör dokularından otomatik sekanslama ile yaptıkları analizde bizimle aynı sonuca ulaşmışlardır.

Öte yandan Beltran ve ark. (63) *PIK3CA* mutasyon oranını 45 hastada %4 olarak tespit etmiştir. Bu sonucun bizimkiyle arasındaki farklılığın, metastatik PKa sayısının, lokalize PKa'nin neredeyse iki katı olmasından kaynaklanması muhtemeldir. Bizim çalışmamızdaki metastatik PKa sayısının oransal olarak çok daha düşük olmasının, *PIK3CA* mutasyon profiline negatif yönde etki ettiğini düşünmekteyiz. Nitekim Dawson ve ark. 1010 olguda yaptıkları YNS çalışmasında *PIK3CA* mutasyon oranını %4,5 olarak tespit etmiştir (68). Bu geniş örneklem içeren analizde de dokuların yaklaşık yarısı metastatik biyopsilerden oluşmaktadır.

PI3K yolağının PKa gelişiminde ve kastrasyon direncinde önemli rolü vardır. Preklinik çalışmalarda, PKa'da AR'yi baskılayanın AKT aktivitesini tetiklediği gösterilmiştir. Diğer taraftan mTOR inhibisyonu, hücre içinde HER3 aracılığıyla AR düzeyini artırmaktadır. HER3, AR'nin aktivite ve stabilizasyonunu destekler. Böylece düşük testosteron seviyelerinde bile hücrel cevabı tetikleyerek tümör progresyonuna zemin hazırlamaktadır. Neticede PI3K ile AR yolağının karşılıklı etkileşimi PKa gelişiminde bu iki yolağın kritik rolünün olduğunu açıkça göstermektedir (173-174). Çalışmamızda *PIK3CA*'ya ait nokta mutasyonu saptanmamış olsa da PI3K yolağının PKa'da önemli bir yeri olabilir. Bu bağlamda daha geniş vaka serilerinde, özellikle

kastrasyon dirençli PKa olgularında bu yolak üzerinde durulması gerektiğine inanmaktayız.

PKa'nın moleküler heterojenitesinde, hastalar arasındaki farklılıklar yanı sıra intertümöral ve intratümöral heterojenitenin de rolü olduğu düşünülmektedir. Bunun nedeni tümörün evrimsel gelişimiyle birlikte bir tümör odağında birden fazla klon barındırmasıdır (175-176). Çalışmamızda *BRAF* ve *PIK3CA* için aldığımız sonuçlara intratümöral heterojenitenin de etkisi olmuş olabilir.

Yaptığımız meta analiz neticesinde, Türkiye'de PKa'de *KRAS* mutasyon sıklığını bildiren iki yayın olsa da *BRAF* ve *PIK3CA* mutasyonlarının araştırıldığı herhangi bir çalışma yoktur. Ülkemizde *KRAS*, *BRAF* ve *PIK3CA* mutasyonları birlikte; ER,PR negatif meme kanserlerinde çalışılmış; *PIK3CA* ile tümör boyutu (>4 cm.) arasında bir ilişki gözlenmiştir (177). Çalışmamız PKa'nın moleküler temelinde önemli rolü olan iki yolağın aynı anda değerlendirmesi yanı sıra Türkiye'de PKa'da *BRAF* ve *PIK3CA* mutasyon durumunu bildiren ilk çalışma özelliğini taşımaktadır.

Olgu sayısının bütçe elverişsizliği nedeniyle az olması, *BRAF* ve *PIK3CA* için incelenen gen mutasyon panelinin nispeten dar olması ve Randox array platformunda tespit edilen mutasyonların Real time PCR veya sekanslama analizi ile doğrulanamamış olması araştırmamızın kısıtlılıkları arasındadır. Ayrıca çalışmamızdaki metastatik PKa sayısının oransal olarak düşük olması incelememizi olumsuz yönde etkileyen faktörlerdendir.

6. SONUÇLAR

Çalışmamıza göre PKa'da *KRAS* mutasyonunun dikkate değer bir yeri vardır. Çalışmamız, olgu sayısı az olmasına rağmen, farmakolojik hedef tedavi araştırmalarında temel almak üzere literatüre yeni veriler sunmaktadır. *KRAS* mutasyonu saptanan hasta grubunda, araştırma aşamasında olan hedefe yönelik *KRAS* inhibitör ajanları tedavide umut ışığı olabilir.

BRAF V600E mutasyonu çalışmamızda literatürdeki birçok çalışma ile uyumlu olarak saptanmasa da, bizden farklı ama düşük oranlar tespit eden çalışmalar mevcuttur. *BRAF* mutasyonunun PKa'daki yerinin daha net aydınlatılabilmesi için daha geniş seri içeren ve daha detaylı genetik panelin incelenebildiği çalışmalara ihtiyaç vardır. Farklı kanser tiplerinin tedavisinde onay verilen ve yüz güldürücü sonuçlar alınan *BRAF* inhibitörlerinin PKa tedavisinde de kullanımı, gereksiz organ kayıplarını önleyip hastaların yaşam kalitesini artırabilecek potansiyeldedir. Bu nedenle PKa'da *BRAF* mutasyon durumunu netleştirmek oldukça önemlidir.

Çalışmamıza göre PKa olgularında *PIK3CA* mutasyonu bulunmamıştır. PI3K yolağındaki düzensizlikler ağırlıklı olarak *PTEN* kayıpları, *PIK3CA* gen amplifikasyon ve kopya numara kazanımları yoluyla gerçekleşmektedir. PKa'da *PIK3CA* mutasyonları daha sınırlı bir hasta grubunda mevcuttur.

Bu çalışma ülkemizde PKa'da *KRAS*, *BRAF* ve *PIK3CA* mutasyonlarını eşzamanlı inceleyen tek çalışmadır. Çalışmamızda *KRAS* mutasyon sıklığı düşük oranda saptansa da hedef tedavi rotalarının belirlenebilmesi için, kastrasyona dirençli metastatik PKa olgularının baskın olduğu geniş serilerde çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424.
2. Bostwick DG, Cheng L. Neoplasms of the prostate. In: Bostwick DG, Cheng L, Meiers I, editors. *Urologic Surgical Pathology*. 3rd Ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2014. p. 442
3. Lima J, Teixeira Y, Pimenta C, Felipe, AV, Silva, TD, Junior EDL, et al. Fecal Genetic Mutations and Human DNA in Colorectal Cancer and Polyps Patients. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2019;20(10):2929-2934.
4. Solassol J, Vendrell J, Märkl B, Haas C, Bellosillo B, Montagut C, et al. Multi-Center Evaluation of the Fully Automated PCR-Based Idylla™ KRAS Mutation Assay for Rapid KRAS Mutation Status Determination on Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissue of Human Colorectal Cancer. *PLoS One.* 2016;11(9):e0163444.
5. Bos JL. Ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res.* 1989;49(17):4682–4689.
6. 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(6892):949-954.
7. Long GV, Menzies AM, Nagrial AM, Haydu LE, Hamilton AL, Mann GJ, Hughes TM, Thompson JF, Scolyer RA, Kefford RF. Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic BRAF in metastatic melanoma. *J Clin Oncol.* 2011;29(10):1239–1246.
8. Canon J, Rex K, Saiki AY, Mohr C, Cooke K, Bagal D, et al. The clinical KRAS(G12C) inhibitor AMG 510 drives anti-tumour immunity. *Nature.* 2019;575(7781):217-223.
9. Yang J, Nie J, Ma X, Wei Y, Peng Y, Wei X. Targeting PI3K in cancer: mechanisms and advances in clinical trials. *Mol Cancer.* 2019;18(1):26.
10. National Comprehensive Cancer Network [Internet]. Clinical Practice Guidelines in Oncology, Prostate Cancer, version 2.2020 [erişim tarihi

30.05.2020]

Erişim:

https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/prostate.pdf

11. Carter BS, Epstein JI, Isaacs WB. ras gene mutations in human prostate cancer. *Cancer Res.* 1990;50(21):6830-6832.
12. Capella G, Cronauer-Mitra S, Pienado MA, Perucho M. Frequency and spectrum of mutations at codons 12 and 13 of the c-K-ras gene in human tumors. *Environ Health Perspect.* 1991;93:125-131.
13. Gumerlock PH, Poonamallee UR, Meyers FJ, deVere White RW. Activated ras alleles in human carcinoma of the prostate are rare. *Cancer Res.* 1991;51(6):1632-1637.
14. Konishi N, Enomoto T, Buzard G, Ohshima M, Ward JM, Rice JM. K-ras activation and ras p21 expression in latent prostatic carcinoma in Japanese men. *Cancer.* 1992;69(9):2293-2299.
15. Moul JW, Friedrichs PA, Lance RS, Theune SM, Chang EH. Infrequent RAS oncogene mutations in human prostate cancer. *Prostate.* 1992;20(4):327-338.
16. Anwar K, Nakakuki K, Shiraishi T, Naiki H, Yatani R, Inuzuka M. Presence of ras oncogene mutations and human papillomavirus DNA in human prostate carcinomas. *Cancer Res.* 1992;52(21):5991-5996.
17. Pergolizzi RG, Kreis W, Rottach C, Susin M, Broome JD. Mutational status of codons 12 and 13 of the N- and K-RAS genes in tissue and cell lines derived from primary and metastatic prostate carcinomas. *Cancer Invest* 1993;11(1): 25-32.
18. Watanabe M, Shiraishi T, Yatani R, Nomura AM, Stemmermann GN. International comparison on ras gene mutations in latent prostate carcinoma. *Int J Cancer.* 1994;58(2):174-178.
19. Suzuki H, Aida S, Akimoto S, Igarashi T, Yatani R, Shimazaki J. State of adenomatous polyposis coli gene and ras oncogenes in Japanese prostate cancer. *Jpn J Cancer Res.* 1994;85(8):847-852.
20. Konishi N, Hiasa Y, Matsuda H, Tao M, Tsuzuki T, Hayashi I, et al. Intratumor cellular heterogeneity and alterations in ras oncogene and p53 tumor suppressor gene in human prostate carcinoma. *Am J Pathol.* 1995;147(4):1112-1122.

21. Moyret-Lalle C, Marçais C, Jacquemier J, Moles JP, Daver A, Soret JY, et al. ras, p53 and HPV status in benign and malignant prostate tumors. *Int J Cancer*. 1995;21;64(2):124-129.
22. Konishi N, Hiasa Y, Tsuzuki T, Tao M, Enomoto T, Miller GJ. Comparison of ras activation in prostate carcinoma in Japanese and American men. *Prostate*. 1997;30(1):53-57.
23. Shiraishi T, Muneyuki T, Fukutome K, Ito H, Kotake T, Watanabe M, et al. Mutations of ras genes are relatively frequent in Japanese prostate cancers: pointing to genetic differences between populations. *Anticancer Res*. 1998;18(4B):2789-2792.
24. Cho NY, Choi M, Kim BH, Cho YM, Moon KC, Kang GH. BRAF and KRAS mutations in prostatic adenocarcinoma. *Int J Cancer*. 2006;119(8):1858-1862.
25. MacConaill LE, Campbell CD, Kehoe SM, Bass AJ, Hatton C, Niu L, et al. Profiling critical cancer gene mutations in clinical tumor samples. *PLoS One*. 2009;4(11):e7887.
26. Shen Y, Lu Y, Yin X, Zhu G. KRAS and BRAF mutations in prostate carcinomas of Chinese patients. *Cancer Genet Cytogene*. 2010;198(1):35-39.
27. Taylor BS, Schultz N, Hieronymus H, Gopalan A, Xiao Y, Carver BS, et al. Integrative genomic profiling of human prostate cancer. *Cancer Cell*. 2010 Jul 13;18(1):11-22.
28. Choi, S., Chun JM. 741 Clinical significance of BRAF and KRAS mutations in prostate cancer. 25th Annual Congress of the European Association of Urology: Abstract Book, Barcelona, April 19, 2010. *European Urology Supplements*. 2010;9(2):240.
29. Agell L, Hernandez S, Salido M, deMuga S, Juanpere N, Arumí-Uria M, et al. PI3K signaling pathway is activated by PIK3CA mRNA overexpression and copy gain in prostate tumors, but PIK3CA, BRAF, KRAS and AKT1 mutations are infrequent events. *Mod Pathol*. 2011;24:443-452.
30. Ren G, Liu X, Mao X, Zhang Y, Stankiewicz E, Hylands L, et al. Identification of frequent BRAF copy number gain and alterations of RAF genes in Chinese prostate cancer. *Genes Chromosomes Cancer*. 2012;51(11):1014-1023.

31. Sha J, Liang G, Pan J, Xuan H, Ping P, Li D, et al. Application of pyrosequencing technique for improved detection of K-Ras mutation in formalin-fixed and paraffin-embedded prostate carcinoma tissues in Chinese patients. *Clin Chim Acta*. 2012;413(19-20):1532-1535.
32. Silan F, Gultekin Y, Atik S, Kilinc D, Alan C, Yildiz F, et al. Combined point mutations in codon 12 and 13 of KRAS oncogene in prostate carcinomas. *Mol Biol Rep*. 2012;39(2):1595–1599.
33. Grasso CS, Wu YM, Robinson DR, Cao X, Dhanasekaran SM, Khan AP, et al. The mutational landscape of lethal castration-resistant prostate cancer. *Nature*. 2012;487(7406):239-243.
34. Barnett CM, Heinrich MC, Lim J, Nelson D, Beadling C, Warrick A, et al. Genetic profiling to determine risk of relapse-free survival in high-risk localized prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2014;20(5):1306-1312.
35. Fu M, Zhang W, Shan L, Song J, Shang D, Ying J, et al. Mutation status of somatic EGFR and KRAS genes in Chinese patients with prostate cancer (PCa). *Virchows Arch*. 2014;464(5):575-581.
36. Salmaninejad A, Ghadami S, Dizaji MZ, Golchehre Z, Estiar MA, Zamani MR, et al. Molecular Characterization of KRAS, BRAF, and EGFR Genes in Cases with Prostatic Adenocarcinoma; Reporting Bioinformatics Description and Recurrent Mutations. *Clin Lab*. 2015;61(7):749-759.
37. Vural H, Kurar E, Avcı E, Eroğlu C, Çelen E, Çınar İ, et al. KRAS Mutations: A Possible Biomarker for Advanced Prostate Cancer. *Cancer Sci Res*. 2018;1(3):1-4.
38. Martinez-Gonzalez LJ, Pascual Geler M, Robles Fernandez I, Cozar JM, Lorente JA, Alvarez Cubero MJ. Improving the genetic signature of prostate cancer, the somatic mutations. *Urol Oncol*. 2018;36(6):312.e17-312.e23.
39. Jaratlerdsiri W, Chan EKF, Gong T, Petersen DC, Kalsbeek AMF, Venter PA, et al. Whole-Genome Sequencing Reveals Elevated Tumor Mutational Burden and Initiating Driver Mutations in huanican Men with Treatment-Naïve, High-Risk Prostate Cancer. *Cancer Res*. 2018;78(24):6736-6746.
40. Ikeda S, Elkin SK, Tomson BN, Carter JL, Kurzrock R. Next-generation sequencing of prostate cancer: genomic and pathway alterations, potential

- actionability patterns, and relative rate of use of clinical-grade testing. *Cancer Biol Ther*. 2019;20(2):219-226.
41. Toomey S, Carr A, Mezynski MJ, Mezynski MJ, Elamin Y, Rafee S, Cremona M, et al. Identification and clinical impact of potentially actionable somatic oncogenic mutations in solid tumor samples. *J Transl Med*. 2020;18(1):99.
 42. Cancer Genome Atlas Research N. The Molecular Taxonomy of Primary Prostate Cancer. *Cell*. 2015;163(4):1011–1025
 43. Hovelson DH, McDaniel AS, Cani AK, Johnson B, Rhodes K, Williams PD, et al. Development and validation of a scalable next-generation sequencing system for assessing relevant somatic variants in solid tumors. *Neoplasia*. 2015;17(4):385-399.
 44. Grasso CS, Cani AK, Hovelson DH, Quist MJ, Douville NJ, Yadati V, et al. Integrative molecular profiling of routine clinical prostate cancer specimens. *Ann Oncol*. 2015;26(6):1110-1118.
 45. Barata PC, Mendiratta P, Heald B, Klek S, Grivas P, Sohal DPS, et al. Targeted Next-Generation Sequencing in Men with Metastatic Prostate Cancer: a Pilot Study. *Target Oncol*. 2018;13(4):495-500.
 46. Mitri ZI, Parmar S, Johnson B, Kolodzie A, Keck JM, Morris M, et al. Implementing a comprehensive translational oncology platform: from molecular testing to actionability. *J Transl Med*. 2018;16(1):358.
 47. Abida W, Cyrta J, Heller G, Prandi D, Armenia J, Coleman I, et al. Genomic correlates of clinical outcome in advanced prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019;116(23):11428-11436.
 48. Crumbaker M, Chan EKF, Gong T, Corcoran N, Jaratlerdsiri W, Lyons RJ, et al. The Impact of Whole Genome Data on Therapeutic Decision-Making in Metastatic Prostate Cancer: A Retrospective Analysis. *Cancers (Basel)*. 2020;12(5):1178.
 49. Cohen Y, Xing M, Mambo E, Guo Z, Wu G, Trink B, et al. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 2003;95(8):625-627.
 50. Burger M, Denzinger S, Hammerschmied C, Tannapfel A, Maderstorfer A, Wieland WF, et al. Mitogen-activated protein kinase signaling is activated in

- prostate tumors but not mediated by B-RAF mutations. *Eur Urol.* 2006;50(5):1102–1110.
51. Liu T, Willmore-Payne C, Layfield LJ, Holden JA. Lack of BRAF activating mutations in prostate adenocarcinoma: a study of 93 cases. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2009;17(2):121-125.
 52. Köllermann J, Albrecht H, Schlomm T, Huland H, Graefen M, Bokemeyer C, et al. Activating BRAF gene mutations are uncommon in hormone refractory prostate cancer in Caucasian patients. *Oncol Lett.* 2010;1(4):729-732.
 53. Robinson D, Van Allen EM, Wu YM, Schultz N, Lonigro RJ, Mosquera JM, Montgomery B, et al. Integrative clinical genomics of advanced prostate cancer. *Cell.* 2015;161(5):1215-1228.
 54. Beltran H, Prandi D, Mosquera JM, Benelli M, Puca L, Cyrta J, et al. Divergent clonal evolution of castration-resistant neuroendocrine prostate cancer. *Nat Med.* 2016;22(3):298-305.
 55. Cohn AL, Day BM, Abhyankar S, McKenna E, Riehl T, Puzanov I. BRAF^{V600} mutations in solid tumors, other than metastatic melanoma and papillary thyroid cancer, or multiple myeloma: a screening study. *Oncotargets Ther.* 2017;10:965-971.
 56. Jafarian AH, Mirshekar Nasirabadi K, Etemad S, Jafaripour M, Darijani M, Sheikhi M, et al. Molecular Status of BRAF Mutation in Prostate Adenocarcinoma: The Analysis of 100 Cases in North-East of IRAN. *Iran J Pathol.* 2018;13(4):415-421.
 57. Suh J, Jeong CW, Choi S, Ku JH, Kim HH, Kim KS, et al. Targeted next-generation sequencing for locally advanced prostate cancer in the Korean population. *Investig Clin Urol.* 2020;61(2):127-135.
 58. Kasajima R, Yamaguchi R, Shimizu E, Tamada Y, Niida A, Tremmel G, et al. Variant analysis of prostate cancer in Japanese patients and a new attempt to predict related biological pathways. *Oncol Rep.* 2020;43(3):943-952.
 59. Zhao SG, Chen WS, Li H, Foye A, Zhang M, Sjöström M, et al. The DNA methylation landscape of advanced prostate cancer. *Nat Genet.* 2020;52(8):778-789.

60. Müller CI, Miller CW, Hofmann WK, Gross ME, Walsh CS, Kawamata N, et al. Rare mutations of the PIK3CA gene in malignancies of the hematopoietic system as well as endometrium, ovary, prostate and osteosarcomas, and discovery of a PIK3CA pseudogene. *Leuk Res.* 2007;31(1):27-32.
61. Sun X, Huang J, Homma T, Kita D, Klocker H, Schafer G, et al. Genetic alterations in the PI3K pathway in prostate cancer. *Anticancer Res.* 2009;29(5):1739-1743.
62. Boormans JL, Korsten H, Ziel-van der Made AC, van Leenders GJ, Verhagen PC, Trapman J. E17K substitution in AKT1 in prostate cancer. *Br J Cancer.* 2010;102(10):1491-1494.
63. Beltran H, Yelensky R, Frampton GM, Park K, Downing SR, MacDonald TY, et al. Targeted next-generation sequencing of advanced prostate cancer identifies potential therapeutic targets and disease heterogeneity. *Eur Urol.* 2013;63(5):920-926.
64. Barbieri CE, Baca SC, Lawrence MS, Demichelis F, Blattner M, Theurillat JP, et al. Exome sequencing identifies recurrent SPOP, FOXA1 and MED12 mutations in prostate cancer. *Nat Genet.* 2012;44(6):685-689.
65. Millis SZ, Ikeda S, Reddy S, Gatalica Z, Kurzrock R. Landscape of Phosphatidylinositol-3-Kinase Pathway Alterations Across 19 784 Diverse Solid Tumors. *JAMA Oncol.* 2016;2(12):1565-1573.
66. Kumar A, Coleman I, Morrissey C, Zhang X, True LD, Gulati R, et al. Substantial interindividual and limited intraindividual genomic diversity among tumors from men with metastatic prostate cancer. *Nat Med.* 2016;22(4):369-378.
67. Huang FW, Mosquera JM, Garofalo A, Oh C, Baco M, Amin-Mansour A, et al. Exome Sequencing of African-American Prostate Cancer Reveals Loss-of-Function ERF Mutations. *Cancer Discov.* 2017;7(9):973-983.
68. Dawson NA, Zibelman M, Lindsay T, Feldman RA, Saul M, Gatalica Z, et al. An Emerging Landscape for Canonical and Actionable Molecular Alterations in Primary and Metastatic Prostate Cancer. *Mol Cancer Ther.* 2020;19(6):1373-1382.

69. Lo Iacono M, Buttigliero C, Monica V, Bollito E, Garrou D, Cappia S, et al. Retrospective study testing next generation sequencing of selected cancer-associated genes in resected prostate cancer. *Oncotarget*. 2016 Mar 22;7(12):14394-14404.
70. Seed G, Yuan W, Mateo J, Carreira S, Bertan C, Lambros M, et al. Gene Copy Number Estimation from Targeted Next-Generation Sequencing of Prostate Cancer Biopsies: Analytic Validation and Clinical Qualification. *Clin Cancer Res*. 2017;23(20):6070-6077.
71. Hussain M, Daignault-Newton S, Twardowski PW, Albany C, Stein MN, Kunju LP, et al. Targeting Androgen Receptor and DNA Repair in Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: Results From NCI 9012. *J Clin Oncol*. 2018;36(10):991-999.
72. Rescigno P, Rediti M, Dolling D, Rodrigues DN et al. PI3K/AKT pathway deleterious mutations in lethal prostate cancer. *Ann of Oncol*. 2018;29:8.
73. Tanagho EA, Hiep TN. Embryology of the Genitourinary System. In: Tanagho EA, McAninch JW, Lue TF, editors. *Smith and Tanagho's General Urology*, 14th ed. Connecticut: Appleton & Lange; 1995. p. 17-30.
74. Zhuang TN, Ly LP, Cumming RG, Handelsman DJ. Growth and development during early manhood as determinants of prostate size in later life. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(11):6055–6063.
75. McConnell JD. Benign prostatic hyperplasia. Hormonal treatment. *Urol Clin North Am*. 1995;22(2):387–400.
76. Şentürk AB. Prostat Embriyolojisi, Fizyolojisi ve Anatomisi. Ankara: Derman Tıbbi Yayıncılık; 2015. p. 1-4.
77. Lee CH, Akin-Olugbade O, Kirschenbaum A. Overview of prostate anatomy, histology, and pathology. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2011;40(3):565-575.
78. Villers A, Mcneal JE, Freiha FS, Boccon-Gibod L, Stamey TA. Invasion of Denonvilliers' fascia in radical prostatectomy specimens. *J urol*. 1993;149(4):793-798.
79. McNeal JE. Regional morphology and pathology of the prostate. *Am J Clin Pathol*. 1968;49(3):347-357.

80. Walsh P, Retik A, Vaughan D, Wein A. Campbell Uroloji. 8. Ed. Anafarta MK, Yaman MÖ (Çeviren). İstanbul; Güneş Kitap Evleri: 2005. p.84.
81. McNeal JE. Normal histology of the prostate. Am J Surg Pathol. 1988;12(8):619-633.
82. Mills SE. Histology for Pathologists. 4th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2012. pp. 987–998.
83. Cohen RJ, Gleason G, Taylor LF, Grundle HA, Naudé JH. The neuroendocrine cell population of the human prostate gland. J Urol. 1993;150(2 Pt 1):365-368.
84. Humphrey PA, Moch H, Cubilla AL, Ulbright TM, Reuter VE. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs—Part B: Prostate and Bladder Tumours. Eur Urol. 2016;70(1):106-119.
85. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. CA Cancer J Clin. 2019;69(1):7-34.
86. Kara F, İlter H, Keskinliç İ. Türkiye kanser istatistikleri 2015. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Sağlık Bakanlığı, Ankara, Türkiye, 2018.
87. Cancer Stat Facts: Prostate Cancer [Internet]. SEER, 2018. [erişim tarihi 06.06.2020] Erişim: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/prost.html>
88. Scardino PT. Early detection of prostate cancer. Urol Clin North Am. 1989;16(4):635-655.
89. Rawla P. Epidemiology of Prostate Cancer. World J Oncol. 2019;10(2):63-89
90. Kheirandish P, Chingwundoh F. Ethnic differences in prostate cancer. Br J Cancer. 2011;105(4):481-485.
91. Chu LW, Ritchey J, Devesa SS, Quraishi SM, Zhang H, Hsing AW. Prostate cancer incidence rates in Africa. Prostate Cancer. 2011;2011:947870.
92. Lesko SM, Rosenberg L, Shapiro S. Family history and prostate cancer risk. Am J Epidemiol. 1996;144(11):1041-1047.
93. Nupponen NN, Wallén MJ, Ponciano D, Robbins CM, Tammela TL, Vessella RL, et al. Mutational analysis of susceptibility genes RNASEL/HPC1, ELAC2/HPC2, and MSR1 in sporadic prostate cancer. Genes, Chromosomes Cancer. 2004;39(2):119-125.

94. Gallagher DJ, Gaudet MM, Pal P, Kirchhoff T, Balistreri L, Vora K, et al. Germline BRCA mutations denote a clinicopathologic subset of prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2010;16(7):2115–2121.
95. Culig Z, Santer FR. Androgen receptor signaling in prostate cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2014;33(2-3):413-427.
96. Whittemore AS, Kolonel LN, Wu AH, John EM, Gallagher RP, Howe GR, et al. Prostate cancer in relation to diet, physical activity, and body size in blacks, whites, and Asians in the United States and Canada. *J Natl Cancer Inst* 1995;87(9):652-661.
97. Kaaks R, Stattin P. Obesity, endogenous hormone metabolism, and prostate cancer risk: a conundrum of "highs" and "lows". *Cancer Prev Res (Phila)* 2010;3(3):259–262.
98. Rapisarda V, Miozzi E, Loreto C, Matera S, Fenga C, Avola R, et al. Cadmium exposure and prostate cancer: insights, mechanisms and perspectives. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2018;23:1687-1700.
99. Murphy AB, Akereyeni F, Nyame YA, Guy MC, Martin IK, Hollowell CM, et al. Smoking and prostate cancer in a multi-ethnic cohort. *Prostate.* 2013;73(14):1518-1528.
100. Epstein JI, Walsh PC, Carmichael M, Brendler CB. Pathologic and clinical findings to predict tumor extent of nonpalpable (stage T1c) prostate cancer. *JAMA.* 1994;271:368-374.
101. Grubb RL 3rd, Pinsky PF, Greenlee RT, Izmirlian G, Miller AB, Hickey TP, et al. Prostate cancer screening in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian cancer screening trial: update on findings from the initial four rounds of screening in a randomized trial. *BJU Int.* 2008;102(11):1524-1530.
102. Bostwick DG. Prospective origins of prostate carcinoma. Prostatic intraepithelial neoplasia and atypical adenomatous hyperplasia. *Cancer* 1996;78(2):330–336.
103. Bostwick, DG, and Montironi R. Conference summary: prostatic intraepithelial neoplasia and the origin of prostatic carcinoma. *Pathol. Res. Pract.* 1995;191:828-832.

104. McNeal JE. Origin and development of carcinoma in the prostate. *Cancer*. 1969;23(1):24-34.
105. Helpap B, Bonkhoff H, Cockett A, Montironi R, Troncso P, Waters D, et al. Relationship between atypical adenomatous hyperplasia (AAH), prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) and prostatic adenocarcinoma. *Pathologica*. 1997;89(3):288-300.
106. Montironi R, Mazzucchelli R, Lopez-Beltran A, Scarpelli M, Cheng L. Prostatic intraepithelial neoplasia: its morphological and molecular diagnosis and clinical significance. *BJU Int*. 2011;108(9):1394-1401.
107. Varma M, Lee MW, Tamboli P, Zarbo RJ, Jimenez RE, Salles PG, et al. Morphologic criteria for the diagnosis of prostatic adenocarcinoma in needle biopsy specimens. A study of 250 consecutive cases in a routine surgical pathology practise. *Arch Pathol Lab Med*. 2002;126(5):554-111.
108. Epstein JI. Diagnostic criteria of limited adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy. *Hum Pathol*. 1995;26(2):223-229.
109. Brimo F, Epstein JI. Immunohistochemical pitfalls in prostate pathology *Hum Pathol*. 2012;43(3):313-324.
110. Humphrey PA. Histological variants of prostatic carcinoma and their significance. *Histopathology*. 2012;60(1):59-74.
111. Kaleem Z, Swanson PE, Vollmer RT, Humphrey PA. Prostatic adenocarcinoma with atrophic features: a study of 202 consecutive completely embedded radical prostatectomy specimens, *Am J Clin Pathol*. 1998;109(6):695-703.
112. Humphrey PA. Pseudohyperplastic adenocarcinoma of the prostate. *J Urol*. 2014;191(5):1416-1417.
113. Hudson J, Cao D, Vollmer R, Kibel AS, Grewal S, Humphrey PA. Foamy gland adenocarcinoma of the prostate: Incidence, Gleason grade, and early clinical outcome. *Hum Pathol*. 2012;43(7):974-979.
114. Gleason DF. Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother Rep*. 1966;50(3):125-128.
115. Epstein JI, Egevad L, Amin MB, Delahunt B, Srigley JR, Humphrey PA. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus

Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. *Am J Surg Pathol*. 2016;40(2):244-252.

116. Gottipati S, Warncke J, Vollmer R, Humphrey PA. Usual and unusual histologic patterns of high gleason score 8 to 10 adenocarcinoma of the prostate in needle biopsy tissue. *Am J Surg Pathol*. 2012;36(6):900-907.
117. Fine SW. Evolution in Prostate Cancer Staging: Pathology Updates From AJCC 8th Edition and Opportunities That Remain. *Advances In Anatomic Pathology*. 2018;25(5):327-332.
118. Buyyounouski MK, Choyke PL, McKenney JK, et al. Prostate cancer - major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J. Clin*. 2017; 67(3):245– 253.
119. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000;100(1):57-70.
120. Pawson T. Regulation and targets of receptor tyrosine kinases. *Eur J Cancer* 2002; 38(Supple5):3-10.
121. Kolch W. Meaningful relationships: The regulation of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway by protein interactions. 2000;351Pt2(Pt 2):289-305.
122. Lee EY, Muller WJ. Oncogenes and tumor suppressor genes. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010;2(10):a003236.
123. Avruch J, Khokhlatchev A, Kyriakis JM, Luo Z, Tzivion G, Vavvas D, et al. Ras activation of the Raf kinase: tyrosine kinase recruitment of the MAP kinase cascade. *Recent Prog. Horm. Res*. 2001;56:127–155.
124. Prior IA, Lewis PD, Mattos C. A comprehensive survey of Ras mutations in cancer. *Cancer Res*. 2012;72(10):2457–2467.
125. Liu P, Wang Y, Li X. Targeting the untargetable KRAS in cancer therapy. *ActaPharm Sin B*. 2019;9(5):871-879
126. U.S.National Library of Medicine [Internet]. Genetics Home Reference. [erişim tarihi 07.06.2020]. Erişim: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/KRAS#location>

127. Dergham ST, Dugan MC, Kucway R, Du W, Kamarauskiene DS, Vaitkevicius VK, et al. Prevalence and clinical significance of combined K-ras mutation and p53 aberration in pancreatic adenocarcinoma. *Int J Pancreatol.* 1997;21(2):127-143.
128. Mascaux C, Iannino N, Martin B, Paesmans M, Berghmans T, Dusart M, et al. The role of RAS oncogene in survival of patients with lung cancer: a systematic review of the literature with meta-analysis. *Br. J. Cancer.* 2005;92(1):131-139.
129. Zhao, Xihong & Chang, Chia-Chen & Chuang, Tsung-Liang & Lin, Chii-Wann. (2016). Detection of KRAS mutations of colorectal cancer with peptide-nucleic-acid-mediated real-time PCR clamping. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 2016;30:1155-1162.
130. Churi CR, Shroff R, Wang Y, Rashid A, Kang HC, Weatherly J, et al. Mutation profiling in cholangiocarcinoma: prognostic and therapeutic implications. *PLoS One* 2014;9:e115383.
131. Kodaz H, Kostek O, Hacıoglu MB, Erdoğan B, Kodaz CE, et al. Frequency of RAS Mutations (KRAS, NRAS, HRAS) in Human Solid Cancer. *EJMO.* 2017;1(1):1–7.
132. Pylayeva-Gupta Y, Grabocka E, Bar-Sagi D. RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. *Nat Rev Cancer.* 2011;11(11):761-774.
133. Cox AD, Fesik SW, Kimmelman AC, Luo J, Der CJ. Drugging the undruggable RAS: Mission possible?. *Nat Rev Drug Discov.* 2014;13(11):828-851.
134. Pratilas CA, Taylor BS, Ye Q, Viale A, Sander C, Solit DB et al. (V600E)BRAF is associated with disabled feedback inhibition of RAF-MEK signaling and elevated transcriptional output of the pathway. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106(11):4519-4524.
135. Wellbrock C, Karasarides M, Marais R. The RAF proteins take centre stage. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2004;5(11): 875–885.
136. Kimura ET, Nikiforova MN, Zhu Z, Knauf JA, Nikiforov YE, Fagin JA. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence

- for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Res.* 2003;63(7):1454-1457.
137. Tiacci E, Trifonov V, Schiavoni G, Holmes A, Kern W, Martelli MP, et al. BRAF mutations in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med.* 2011;364(24):2305-2315.
 138. Gamsizkan M, Yilmaz I, Simsek HA, Onguru O, Griffin A, Tihan T. Mutation analysis of metastatic melanomas in the central nervous system: results of a panel of 5 genes in 48 cases. *Clin Neuropathol.* 2016;35(4):178-185.
 139. Yilmaz I, Gamsizkan M, Sari SO, Yaman B, Demirkesen C, Heper A. Molecular alterations in malignant blue nevi and related blue lesions. *Virchows Arch.* 2015;467(6):723-732.
 140. Şahpaz A, Önal B, Yeşilyurt A, Han Ü, Delibaşı T. BRAFV600E Mutation, RET/PTC1 and PAX8-PPAR Gamma Rearrangements in Follicular Epithelium Derived Thyroid Lesions - Institutional Experience and Literature Review. *Balkan Med J* 2015;32(2):156-166.
 141. Doğan A, Güç D. Sinyal iletimi mekanizmaları ve kanser. *Acta Medica.* 2004;35(1):34-42.
 142. Nicholson KM, Anderson NG. The protein kinase B/Akt signalling pathway in human malignancy. *Cellular Signalling* 2002;14(5):381-395.
 143. Sekulić A, Hudson CC, Homme JL, Yin P, Otterness DM, Karnitz LM, et al. A direct linkage between the phosphoinositide 3-kinase-AKT signaling pathway and the mammalian target of rapamycin in mitogen-stimulated and transformed cells. *Cancer Res.* 2000;60(13):3504-3513.
 144. McCormick F. Signalling networks that cause cancer. *Trends Cell Biol.* 1999;9(12):53-56.
 145. Blalock WL, Navolanic PM, Steelman LS, Shelton JG, Moye PW, Lee JT, et al. Requirement for the PI3K/Akt pathway in MEK1-mediated growth and prevention of apoptosis: identification of an Achilles heel in leukemia. *Leukemia.* 2003;17(6):1058-1067.
 146. Karakas B, Bachman KE, Park BH. Mutation of the PIK3CA oncogene in human cancers. *Br J Cancer.* 2006;94(4):455-459.

147. Asati V, Mahapatra DK, Bharti SK. PI3K/Akt/mTOR and Ras/Raf/MEK/ERK signaling pathways inhibitors as anticancer agents: Structural and pharmacological perspectives. *Eur J Med Chem.* 2016;109:314-341.
148. Hennessy BT, Smith DL, Ram PT, Lu Y, Mills GB. Exploiting the PI3K/AKT pathway for cancer drug discovery. *Nat Rev Drug Discov.* 2005;4(12):988–1004.
149. Yang J, Nie J, Ma X, Wei Y, Peng Y, Wei X. Targeting PI3K in cancer: mechanisms and advances in clinical trials. *Mol Cancer.* 2019;18(1):26.
150. Önal B. Sitopatolojinin Uygulama Alanları. In: Önal B. Ed. *Kanser Tanısında Sitopatolojinin Rolü ve İnce İğne Aspirasyon Ünitesinin Fonksiyonu* (ISBN:975-590-018-7). TCSB Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı. Ankara 2001: 4-7.
151. Miller KD, Siegel RL, Lin CC, Mariotto AB, Kramer JL, Rowland JH, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. *CA Cancer J Clin.* 2016;66(4):271-289.
152. Higano CS. Side effects of androgen deprivation therapy: Monitoring and minimizing toxicity. *Urology.* 2003;61(supple2A):32-38.
153. Saraon P, Drabovich AP, Jarvi KA, Diamandis EP. Mechanisms of Androgen-Independent Prostate Cancer. *EJIFCC.* 2014;25(1):42-54.
154. Lepor H, Nieder AM, Ferrandino MN. Intraoperative and postoperative complications of radical retropubic prostatectomy in a consecutive series of 1,000 cases. *J Urol.* 2001;166(5):1729-1733.
155. Potosky AL, Legler J, Albertsen PC, Stanford JL, Gilliland FD, Hamilton AS, et al. Health outcomes after prostatectomy or radiotherapy for prostate cancer: results from the Prostate Cancer Outcomes Study. *J Natl Cancer Inst.* 200;92(19):1582-1592.
156. Önal B., Ortaç R, Gümüş Z., Genç T. Evaluation bu Silver-Binding Nucleolar Organizer Regions (AgNORs) in normal, hyperplastic and neoplastic tissues. *ASS İzmir Devlet Hastanesi Tıp Dergisi IDHTD,* 1991; 29(4): 415-419.

157. Peterson LE, Kovyrshina T. Progression inference for somatic mutations in cancer. *Heliyon*. 2017;3(4):e00277.
158. Chaiyapan W, Duangpakdee P, Boonpipattanapong T, Kanngern S, Sangkhathat S. Somatic mutations of K-ras and BRAF in Thai colorectal cancer and their prognostic value. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013;14(1):329–332.
159. Muñoz-Maldonado C, Zimmer Y, Medová M. A Comparative Analysis of Individual RAS Mutations in Cancer Biology. *Front Oncol*. 2019;9:1088.
160. Haigis KM. KRAS Alleles: The Devil Is in the Detail. *Trends Cancer*. 2017;3(10):686-697.
161. Vatansever S, Erman B, Gümüş ZH. Oncogenic G12D mutation alters local conformations and dynamics of K-Ras. *Sci Rep*. 2019;9(1):11730.
162. Mukhopadhyay NK, Cinar B, Mukhopadhyay L, Lutchman M, Ferdinand AS, Kim J, et al. The zinc finger protein ras-responsive element binding protein-1 is a coregulator of the androgen receptor: implications for the role of the Ras pathway in enhancing androgenic signaling in prostate cancer. *Mol Endocrinol*. 2007;21(9):2056-2070.
163. Weber MJ, Gioeli D. Ras signaling in prostate cancer progression. *J Cell Biochem*. 2004;91(1):13-25.
164. Bakin RE, Gioeli D, Sikes RA, Bissonette EA, Weber MJ. Constitutive activation of the Ras/mitogen-activated protein kinase signaling pathway promotes androgen hypersensitivity in LNCaP prostate cancer cells. *Cancer Res*. 2003;63(8):1981-1989.
165. Moon DO, Kim BY, Jang JH, Kim MO, Jayasooriya RG, Kang CH, et al. K-RAS transformation in prostate epithelial cell overcomes H₂O₂-induced apoptosis via upregulation of gamma-glutamyltransferase-2. *Toxicol In Vitro*. 2012;26(3):429-434.
166. National Cancer Institute [Internet]. GDC Data Portal [erişim tarihi 17.06.2020]. Erişim: https://portal.gdc.cancer.gov/genes/ENSG00000157764?canDistTable_size=100

167. Yao Z, Yaeger R, Rodrik-Outmezguine VS, Tao A, Torres NM, Chang MT, et al. Tumours with class 3 BRAF mutants are sensitive to the inhibition of activated RAS. *Nature*. 2017;548(7666):234–238.
168. Prophet M, Xiao K, Gourdin T, Nagy RC, Kiedrowski RA, Ledet E, et al. Detection of actionable BRAF missense mutations by ctDNA-based genomic analysis in prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2018;36(supple6):306-306.
169. Steinwald P, Ledet E, Christensen BR, Christensen BR, Moses MM, Chapman L, Shahbandi A, et al. Cell-free DNA (cfDNA) analysis and evaluation of BRAF amplifications and mutations in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2018;36(supple6):255-255.
170. Lohr JG, Adalsteinsson VA, Cibulskis K, Choudhury AD, Rosenberg M, Cruz-Gordillo P, et al. Whole-exome sequencing of circulating tumor cells provides a window into metastatic prostate cancer. *Nat Biotechnol*. 2014;32(5):479-484.
171. Yuan TL, Cantley LC. PI3K pathway alterations in cancer: variations on a theme. *Oncogene*. 2008;27(41):5497-5510.
172. Bachman KE, Argani P, Samuels Y, Silliman N, Ptak J, Szabo S, et al. The PIK3CA gene is mutated with high frequency in human breast cancers. *Cancer Biol Ther*. 2004;3(8):772–775.
173. Statz CM, Patterson SE, Mockus SM. mTOR Inhibitors in Castration-Resistant Prostate Cancer: A Systematic Review. *Target Oncol*. 2017;12(1):47-59.
174. Carver BS, Chapinski C, Wongvipat J, Hieronymus H, Chen Y, Chandarlapaty S, et al. Reciprocal feedback regulation of PI3K and androgen receptor signaling in PTEN-deficient prostate cancer. *Cancer Cell*. 2011;19(5):575-86.
175. Gerlinger M, Catto JW, Orntoft TF, Real FX, Zwarthoff EC, Swanton C. Intratumour heterogeneity in urologic cancers: from molecular evidence to clinical implications. *Eur Urol*. 2015;67(4):729-737.

176. Tolkach Y, Kristiansen G. The Heterogeneity of Prostate Cancer: A Practical Approach. Pathobiology. 2018;85(1-2):108-116.
177. Naldemir A. Östrojen ve progesteron reseptörü negatif meme kanserlerinde *KRAS*, *BRAF* ve *PIK3CA* mutasyonların değerlendirilmesi. (Danışman: Önal B, Coşkun SK.) Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Uzmanlık Tezi, 2020.

