



T.C. AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**DOSETAKSEL TEDAVİSİNE DİRENÇLİ OLAN VE
OLMAYAN PROSTAT ADENOKARSİNOMLARINDA
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL VE RT-PCR YÖNTEMİ
İLE NOTCH-1 EKSPRESYONUNUN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR.ZEYNEP BAYRAMOĞLU

ANTALYA-2017



T.C. AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**DOSETAKSEL TEDAVİSİNE DİRENÇLİ OLAN VE
OLMAYAN PROSTAT ADENOKARSİNOMLARINDA
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL VE RT-PCR YÖNTEMİ
İLE NOTCH-1 EKSPRESYONUNUN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR.ZEYNEP BAYRAMOĞLU

TEZ DANIŞMANI:DOÇ.DR.BETÜL ÜNAL

ANTALYA-2017



Bu araştırma Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı tarafından desteklenmiştir. BAP Proje no:TTU-2017-2289

TEŞEKKÜRLER

Tez çalışmam süresince, sabırla ve özverili bir şekilde çalışmamla ilgilenen, bilgi ve tecrübelerini bana aktaran, sayın tez hocam Doç.Dr.Betül ÜNAL'a teşekkürlerimi sunarım. Saygıdeğer bölüm başkanımız Prof. Dr. Elif İnaç GÜRER nezdinde tüm hocalarıma uzmanlık eğitimim boyunca mesleki tecrübelerini benimle paylaştıkları için teşekkür ederim. Asistanlık sürecini paylaştığım, birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum, bölümümüzden mezun olmuş ve halen araştırma görevlisi olarak çalışmakta olan arkadaşlarıma, bölümümüzde her aşamada özverili bir şekilde işini yapan tüm bölüm çalışanlarına da ayrıca teşekkür ederim. Son olarak, sevgisini, desteğini ve ilgisini benden esirgemeyen eşim Dr. Denizhan BAYRAMOĞLU'na, oğlum Ege BAYRAMOĞLU'na ve tüm yaşamım boyunca varlıkları ile beni mutlu eden anneme, kardeşime ve ablama teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SİMGELE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
TABLO DİZİNİ.....	vii
ŞEKİL DİZİNİ.....	viii
ÖZET	x
SUMMARY.....	xii
1.AMAÇ.....	1
2.GİRİŞ.....	2
3.GENEL BİLGİLER.....	2
3.1.PROSTAT EMBRİYOLOJİSİ.....	2
3.2.PROSTAT HİSTOLOJİSİ.....	3
3.3.PROSTAT FİZYOLOJİSİ.....	5
3.4.ANATOMİ.....	6
3.4.1.PERİNE ANATOMİSİ.....	6
3.4.2.PROSTATIN YAPISI.....	7
3.4.3PROSTATIN KOMŞULUKLARI.....	8
3.4.4.PROSTATİK ZONLAR.....	9
3.4.5.PROSTAT ARTER, VEN VE LENFATİKLERİ.....	11
3.4.6.PROSTATİK İNNERVASYONU.....	11
4.PROSTAT ADENOKARSİNOMU.....	11

4.1.YAŞ DAĞILIM.....	12
4.2.RİSK FAKTÖRLERİ.....	12
4.2.1.HEREDİTE.....	12
4.2.2.SİGARA.....	12
4.2.3.MESLEK.....	13
4.2.4.ENFEKSİYONLAR.....	13
4.2.5.ANDROJENLER.....	13
4.2.6.İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRÜ.....	13
4.2.7.DİYET.....	14
4.2.8. LOKALİZASYON	14
4.3. KLİNİK BULGULAR	15
4.4.LABORATUVAR TESTLERİ.....	15
4.4.1.PROSTAT SPESİFİK ANTİJEN (PSA):	15
4.4.2.PSA DENSİTESİ	16
4.4.3.SERBEST PSA.....	16
4.4.4.KOMPLEKS PSA	16
4.4.5.SERBEST/TOTAL PSA ORANI	17
4.4.6.PCA-3	17
4.5.TANISAL DEĞERLENDİRME	17
4.6.PARMAKLA REKTAL MUAYENE	17
4.7.PROSTAT BİYOPSİSİ	18

4.8.PROSTAT BİYOPSİSİ ENDİKASYONLARI	18
4.9.RADİKAL PROSTATEKTOMİ	19
5.PROSTAT ADENOKARSİNOMU PATOLOJİSİ.....	20
5.1.MAKROSKOPİK BULGULAR.....	20
5.2.MİKROSKOPİK BULGULAR.....	20
5.3.HİSTOLOJİK VARYANLAR	22
5.4.DİĞER PROSTAT TÜMÖRLERİ.....	24
5.4.1.DUKTAL ADENOKARSİNOM	24
5.4.2.ÜROTELYAL KARSİNOM	24
5.4.3.SKUAMÖZ HÜCRELİ VE ADENOSKUAMÖZ KARSİNOM.....	24
5.4.4.BAZAL HÜCRE HİPERPLAZİSİ VE KARSİNOMU.....	25
5.4.5.NÖROENDOKRİN TÜMÖRLER.....	26
5.4.6.MEZENKİMAL TÜMÖRLER.....	26
5.4.7.PROSTATİK İNTRAEPİTELYAL NEOPLAZİ (PIN)	27
5.5.PROSTAT KANSERİ DERECELENDİRİLMESİ.....	27
5.6.TÜMÖR YAYILIMI VE EVRELEMESİ.....	30
5.7.EKSTRAPROSTATİK YAYILIM.....	34
5.8.CERRAHİ SINIRLAR	34
5.9.TÜMÖR VOLÜM VE BOYUT DEĞERLENDİRİLMESİ.....	35
5.10.PERİNÖRAL İNVAZYON VE LENFOVASKÜLER İNVAZYONU....	36

5.11.METASTATİK KANSER.....	36
5.12.DNA PLOİDİ.....	36
5.13.NÖROENDOKRİN DEĞİŞİKLİKLER	37
5.14.MİKRODAMAR DENSİTESİ	37
5.15.PROLİFERASYON İNDEKSİ	37
5.16.P53 EKSPRESYONU.....	37
6.YÜKSEK RİSKLİ LOKALİZE PROSTAT KANSERLERİNDE TEDAVİ...37	
6.1.RADİKAL PROSTATEKTOMİ VE LENF NODU DİSEKSİYONU	38
6.2.RADYOTERAPİ	39
6.3.HORMONAL TEDAVİ - ANDROJEN DEPRİVASYON TEDAVİSİ.....	39
6.4.NEO-ADJUVAN KEMOTERAPİ.....	40
6.5.METASTATİK PROSTAT KANSERİNİN TEDAVİSİ	40
6.6.DOSETAKSEL.....	41
6.7.GÜNCEL TEDAVİLER	42
7.NOTCH SİNYAL YOLAĞI	43
8.PCR TEKNİĞİNİN TEMEL PRENSİPLERİ.....	46
8.1.REAL TIME PCR.....	47
8.2.REAL TIME PCR'IN TEMEL FAZLARI.....	48
9.GEREÇ VE YÖNTEM.....	50
9.1.OLGU SEÇİMİ.....	50

9.2.KANTİTATİF GERÇEK ZAMANLI RT-PCR YÖNTEMİ.....	50
9.3. PARAFİNE GÖMÜLÜ DOKULARDAN RNA İZOLASYONU.....	51
9.4.RNA' LARIN SPEKTROFOTOMETRİK ÖLÇÜMÜ.....	52
9.5.CDNA DÖNÜŞÜMÜ.....	52
9.6.İMMÜNOHİSTOKİMYA YÖNTEMİ.....	52
10.İSTATİKSEL ANALİZ.....	53
11.BULGULAR.....	54
12.TARTIŞMA.....	77
13.KAYNAKLAR.....	84

SİMGE VE KISALTMALAR

ADT : Androjen Deprivasyon Tedavisi
AR: Androjen Resptörü
BPH: Benign Prostat Hiperplazisi
CK: Sitokeratin
CRPC : Castration-resistant prostate cancer (Kastrasyona dirençli prostat kanseri)
DHT: Dihidrotestosteron
H&E: Hematoksilen&Eozin
HWCK: Yüksek Moekül Ağırlıklı Sitokeratin
İHK: İmmünohistokimya
LNCaP: Androjen Bağımlı Prostat Kanseri Hücre Hattı
NCID: The Notch1 Receptor Intracellular Domain
Notch-1: Notch Homolog 1, Translocation-Associated
PAP: Prostatik Asit Fosfataz
PC-3: Androjen Bağımsız Prostat Kanseri Hücre Hattı
PCR: Polymerase Chain Reaction
PIN: Prostatik İntraepitelyal Neoplazi
PSA: Prostat Spesifik Antijen
RT-PCR: Real-Time Polymerase Chain Reaction
RT: Radikal Prostatektomi
TRAMP: Transgenic Adenocarcinoma Of The Mouse Prostate
TUR-P: Transüretral Prostatik Rezeksiyon
WHO: World Health Organisation

TABLO LİSTESİ

Tablo-1: PSA düzeyine göre Prostat Kanseri görülme ihtimali.

Tablo 2: WHO 2016 Grade grup sistemi.

Tablo-3: Prostat karsinomunda TNM klasifikasyonu.

Tablo-4: Dosetaksel direnci olan ve olmayan hastalarımızın Notch-1 ekspresyonu.

Tablo-5: Tüm hastalarımızın Notch-1 ekspresyonu, yaş, ISUP skoru ve Gleason skoru.

Tablo-6: Prostatik adenokarsinom tanılı 60 hastamızın, benign prostat hiperplazi tanılı hastalarımıza göre Notch-1 gen ekspresyonu.

Tablo-7: Dosetaksel direnci olan hastalarımızın, Dosetaksel direnci olmayan hastalarımıza göre Notch-1 gen ekspresyonu.

Tablo-8: Dosetaksel direnci olmayan hastalarımızın, Dosetaksel direnci olan hastalarımıza göre Notch-1 gen ekspresyonu.

Tablo-9: Tüm hastalarımızın Notch-1 ekspresyonu, Dosetaksel direnci olup olmadığı, PSA, ISUP, Gleason skorları, perinöral invazyon durumu.

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil-1: Perine Anatomisi.

Şekil-2: Prostat fasya, kapsülü ve rektumla komşuluğu.

Şekil-3: Prostatın zonal anatomisi.

Şekil 4: Prostatik adenokarsinomda histolojik derecelendirme (sol: orijinal Gleason-sağ: 2015 ISUP/2016 WHO Gleason derecelendirmesi.)

Şekil 5: Dosetakselin kimyasal yapısı.

Şekil 6: Real Time PCR’da cevap kurvesi.

Şekil-7: Prostat adenokarsinomu olan hastalarımızın yaş dağılımları .

Şekil-8:Prostat adenokarsinomlu hastalarımızın ISUP dağılımları.

Şekil-9: Prostat adenokarsinomu (H&E 10X VE 20X)

Şekil-10: Prostat adenokarsinomu (H&E 20X)

Şekil-11: Prostat adenokarsinomu Notch-1 ile sitoplazmik boyanma (20X)

Şekil-12: A.Prostat adenokarsinomu Notch-1 ile sitoplazmik boyanma (20X) ve B.Notch-1 ile negatif boyanma(10X).

Şekil-13: Prostat adenokarsinomu hastalarımızın cevap eğrileri.

Şekil-14: Prostat adenokarsinomu hastalarımızın cevap eğrileri.

Şekil-15: Dosetaksel direnci olan ve olmayan hastaların Notch-1 ekspresyonu diagramı.

Şekil-16: Notch-1 ekspresyonunun olan hastalarda anlamlı bir şekilde Gleason skoru daha fazla saptanmıştır.

Şekil-17: Notch-1 ekspresyonunun olan hastalarda anlamlı bir şekilde İSUP skoru daha fazla saptanmıştır.

Şekil-18: Notch-1 ekspresyonunun olan hastalarda anlamlı bir şekilde PSA'nın daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Şekil-19: Dosetaksel direnci olan hastalarımızın, Dosetaksel direnci olmayan hastalarımıza göre Notch-1 gen ekspresyonu.

Şekil-20: Dosetaksel direnci olmayan hastalarımızın, Dosetaksel direnci olan hastalarımıza göre Notch-1 gen ekspresyonu.



ÖZET

Prostat kanseri dünyada en sık görülen kanserlerden biridir ve insidansı hızla artmaktadır. Prostat kanseri riski 50 yaşına dek düşükken yaş ilerledikçe giderek artmaktadır. Prostat kanseri histolojik olarak en sık adenokarsinom formunda izlenir. Prostat spesifik antijenin (PSA) rutin olarak klinik kullanıma girmesi; prostat kanserinin daha erken evrede tanı alıp tedavi edilmesini sağlamıştır. Tanı anında hastaların yaklaşık %81'i klinik lokal evrede; yaklaşık %4'ü metastatik evrededir. Prostat karsinomlu bir grup hasta yalnızca aktif izlemle yönetilebilirken bir grup hasta agresif bir seyir göstermektedir. Günümüzde, özel sinyal yolları ve immünoterapi hedefleyen çeşitli yeni tedavi stratejileri prostat kanseri için araştırılmaktadır. Biz bu çalışmada prostat adenokarsinomu olup Dosetaksel kullanıp direnç geliştirmiş hastalarda immünohistokimyasal ve Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) yöntemiyle Notch homolog 1, translocation-associated (Notch-1) gen ekspresyonunun ilişkisini araştırdık. Çalışmamızda 20 adet benign prostat hiperplazisi ve 60 adet prostat adenokarsinomu hastasında immünohistokimyasal ve RT-PCR yöntemiyle Notch-1 çalıştık. Altmış hastamızın 17'sinde anlamlı derecede Notch-1 gen ekspresyonu saptadık. Hastalarımızın 13 tanesinde Dosetaksel ilaç direnci ve bu hastaların 6'sında anlamlı derecede Notch-1 gen ekspresyonu saptadık. Hastalarımızın 47'sinde ise Dosetaksel direnci olmayıp bu hastaların 11'inde anlamlı derecede Notch-1 gen ekspresyonu bulduk. Gleason skor yüksekliği, ISUP skor yüksekliği ve PSA yüksekliği ile Notch-1 gen ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmıştır ($p < 0,05$). Dosetaksel direnci olan 13 hastamızın 6'sında Notch-1 gen ekspresyonun artmasına rağmen Dosetaksel direnci ile Notch-1 arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır. Literatüre bakıldığında Notch sinyal yolağının prostat adenokarsinomlarının ilerlemesi, metastazı ve kemoterapi direncine katkıda bulunabileceğine dair artan kanıtlar olduğunu görmekteyiz. Biz de çalışmamızda elde ettiğimiz verilerle Notch sinyal yolağının Gleason skor yüksekliği, ISUP skor yüksekliği ve PSA yüksekliği ile ilişkili olduğunu tespit ettik ancak Dosetaksel direnci ile Notch-1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki tespit etmedik. Günümüze kadar bu konuyla ilgili çalışmaların çok az oluşu ve

elde edilen verilerin yetersizliği nedeniyle daha geniş serilerle çok sayıda çalışma yapılması PCa hastalarının prognozunu belirlemede ve tedavisine yn vermede önem arz etmektedir.

Anahtar kelimeler: Prostat, Notch-1, Dosetaksel, Adenokarsinom, Gleason Skoru, ISUP



SUMMARY

Prostate cancer is one of the most common cancers in the world and its incidence is rapidly increasing. The risk of prostate cancer is gradually decreasing until age 50 as age progresses. Prostate cancer is most commonly seen in the form of adenocarcinoma histologically. Prostate-specific antigen (PSA) is routinely used for clinical use; prostate cancer to be diagnosed and treated at an earlier stage. At the time of diagnosis, approximately 81% of the patients were in clinical local stage; about 4% are metastatic. A group of patients with prostate carcinoma show an aggressive course, only with active monitoring. Currently, several new treatment strategies targeting specific signaling pathways and immunotherapy are being explored for prostate cancer. In this study, we investigated the relationship between Notch-1 gene expression by immunohistochemistry and RT-PCR in patients with prostate adenocarcinoma of the Notch pathway and who developed resistance using docetaxel.

In our study, 20 patients with benign prostatic hyperplasia and 60 patients with prostate adenocarcinoma were studied by immunohistochemistry and RT-PCR with Notch-1. We found Notch-1 gene expression at a significant level in 17 of our 60 patients. We detected Notch-1 gene expression at a significant level in 6 of these patients with docetaxel resistance in 13 of our patients. Forty-seven of our patients did not have docetaxel resistance and found Notch-1 gene expression at a significant level in 11 of these patients. There was a significant correlation between Gleason score height, ISUP score high and PSA height and Notch-1 gene expression ($p < 0,05$). Despite the increased expression of Notch-1 gene in 6 of 13 patients with docetaxel resistance, there was no significant relationship between docetaxel resistance and Notch-1. From the literature view, we note that the notch signaling pathway has increasing evidence that PCa progression, metastasis and chemotherapy resistance. Our study has shown that the Notch signaling pathway is associated with high Gleason score, high ISUP score, and elevated PSA level. But we did not detect a significant association between docetaxel resistance and Notch-1 expression. Due to the small number of studies related to this topic and the inadequate data obtained, it is important to conduct a large number of studies

with wider series to determine the prognosis of PCa patients and to direct their treatment.

Key words: Prostate, Notch-1, Docetaxel, Adenocarcinoma, Gleason Score, ISUP



1.AMAÇ

Prostat kanseri dünyada en sık görülen kanserlerden biridir ve insidansı hızla artmaktadır. Prostat kanseri için, dünya ortalaması yüz binde 28’lerde iken, Avrupa ortalaması yüz binde 60’larda ve ülkemizde ise yüz binde 37’lerdedir. Prostat karsinomunun oluşum süreci tam olarak bilinmemektedir. Bu süreçte hücre-hücre reaksiyonu ve spesifik genler rol alıyor olabileceğine dair bir çok çalışma vardır. Prostat karsinomuna spesifik mortalitenin primer sebebi kastrasyona rezistans metastatik prostat karsinomlarıdır. Bu anlamda kastrasyona rezistans prostat karsinomlarında rekürensi ve letal gidişi öngörebilen yeni mekanizmaları tanımlayabilmek ve belirleyebilmek prostat karsinomu hastalarında önemlidir. Son çalışmalarda Notch sinyal yolağı prostat gelişimi ve büyümesi için gerekli olduğu ve hormon replasmanı ve kastrasyon sonrası onarım ve regresyon ile de ilişkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca bu yolağın prostat kanser gelişiminde progresyonunda ve metastazında da yer aldığına dair kanıtlar mevcuttur. Notch yolağının prostat karsinomunda etkisi olduğu açık olsa da henüz prostat karsinomuna katkısı tam olarak bilinmemektedir.

Bu çalışma ile Dosetaksel tedavisi alıp direnç geliştiren hastalar ile dosetaksel tedavisine direnç geliştirmeyen hastalarda aynı zamanda da prostat karsinomu olmayan hastalarda Notch-1 ekspresyonunu karşılaştırmak ve Notch yolağının prostat karsinogenezindeki etkisini saptamayı amaçladık. Böylece Notch yolağının prostat karsinomu olan hastalar yerinin daha iyi anlaşılmasını sağlamayı ve immünoterapi hedefi olarak kullanılmasını sağlamayı amaçladık.

Etik Kurul Kararı Çalışmamız, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından, 30.11.2016 tarihinde 625 karar numarası ile onaylanmıştır.

2.GİRİŞ

Prostat kanseri dünyada en sık görülen kanserlerden biridir ve insidansı hızla artmaktadır. Prostat kanseri riski 50 yaşına dek düşükken yaş ilerledikçe giderek artmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde 2016 yılında 180.890 yeni prostat kanseri vakası görülmüştür (1). Prostat kanseri için, dünya ortalaması yüz binde 28'lerde iken, Avrupa ortalaması yüz binde 60'larda ve ülkemizde ise yüz binde 37'lerdedir (2). Prostat kanseri histolojik olarak en sık adenokarsinom formunda izlenir. Prostat kanserinin evreleri sırasıyla lokalize (organa sınırlı) hastalık, lokal ileri evre hastalık, metastatik hastalık ve hormonal tedaviye dirençli hastalıktır. Prostat spesifik antijenin (PSA) rutin olarak klinik kullanıma girmesi; prostat kanserinin daha erken evrede tanı alıp tedavi edilmesini sağlamıştır. Tanı anında hastaların yaklaşık %81'i klinik lokal evrede; yaklaşık %4'ü metastatik evrededir (3).

Prostat karsinomlu bir grup hasta yalnızca aktif izlemle yönetilebilirken bir grup hasta agresif bir seyir göstermektedir. Günümüzde, özel sinyal yolları ve immünoterapi hedefleyen çeşitli yeni tedavi stratejileri prostat kanseri için araştırılmaktadır.

3.GENEL BİLGİLER

3.1.PROSTAT EMBRİYOLOJİ

Prostat bezi, erkek genital sisteminin en büyük aksesuar bezi olup, mezonefrik kanal girişinin distal ve proksimalindeki üretral epitel tomurcuklarından gelişir . Prostatik üretradaki endodermal çıkıntılar, etrafındaki mezenkim içine doğru büyür. Prostatın glandüler bez epiteli bu endodermal hücrelerden gelişir. Prosta stroma ve düz kaslar, epitel hücreleri ile ilişkili mezenkim tarafından oluşturulur (4). Prostatik üretrayı çevreleyen mezenkim, 11-12 haftalar arasında, androjenler tarafından uyarılarak epitelin proliferasyonunu ve tomurcuklanmayı uyarır. Önce primer kanallar tomurcuklanır, daha sonra üretral epitelden dallar gelişir (5). Basit

tübüler oluşumlar 5 ayrı grup halinde gelişir ve 16. haftada gelişimleri tamamlanır. Bu olay dihidrotestosteron (DHT) etkisinde gerçekleşir. DHT, 5 α -redüktaz enziminin aktivitesi ile testosterondan oluşur. DHT yokluğunda prostat rudimenter halde kalır. Bu süreçte ortaya çıkan oluşumlar dallanır ve ürogenital sinüsün etrafında farklılaşan mezenkimal hücrelerle karışan karmaşık bir kanal sistemiyle sonuçlanır. Mezenkimal hücreler dördüncü ayda tübüller çevresinde gelişmeye başlar ve periferde daha da yoğunlaşarak prostatik kapsülü oluşturur (6). Prostatik loblar, epitel tomurcuklarından gelişir (7). İlk grup tomurcuklar verumontanumun distalinde bulunur ve periferal zonü oluşturur. İkinci grup, üretradan iki sıra halinde, verumontanumda ki ejakulatuvar kanalların üretraya açılış orifislerinin her iki yanında yer alır ve santral zonü oluşturur. Üçüncü grup tomurcuklar, vezikoüretral kanalın en proksimalinde yer alır ve transizyonel zonun kanallarını ve bezlerini oluşturur (5). Başlangıçta bu loblar birbirlerinden ayrıktır, fakat daha sonra birleşirler (8). Prostatik kanalların ilk başta lümeni olmayıp, 30. haftadan sonra kanalize olup lümenli yapılar haline gelirler (5). Prostat spesifik antijen (PSA) 28. haftada ortaya çıkmaktadır.

3.2.PROSTAT HİSTOLOJİSİ

Prostat dokusu, bağ ve kas dokusundan oluşan fibromusküler stroma ile iç içe geçmiş olan epitelyal glandüler bileşenlerden oluşur. Prostat bez epiteli esas olarak tek katlı prizmatik epiteldir fakat yer yer çok sıralı görünür. Bez içinde çoğu yerde epitelden lümene doğru villöz veya papiller uzantılar bulunur. Glandüler yapıların belirgin bazal membranları vardır ve birbirlerinden fibromusküler stroma ile ayrılmışlardır. Bu epitelyal glandüler yapılar yaklaşık 25 adet ekskretuvar kanalla verumontanum ve mesane boynu arasındaki bölgede prostatik üretra tabanına açılırlar.

Prostatın epitelyal glandüler yapısının içinde prostatik sekretuvar hücreler, bazal hücreler, transizyonel hücreler ve endokrin parakrin hücreler olmak üzere 4 temel hücre grubu vardır.

A-) Epitelyal Hücreler: Epitelyal hücreler 4 temel gruba ayrılmaktadır.

1-) Sekretuar Hücreler: Epitelyal hücrelerin en önemli bölümüdürler. Sekretuar hücreler luminal yüze yerleşiktir. Seminal sıvının üretimine katkı sağlar. Bu hücreler; küboidal-kolumnar şekilli, küçük yuvarlak nükleuslu, nükleolleri belirsiz, hafif granüler kromatinli, granüler veya homojen sitoplazmadan zengin, sınırları belirsiz, uzun kolumnar şekillidirler. Epitelyal hücrelerin %73'ünü meydana getirirler. Yalnızca prostat asinuslarında değil prostatik kanallar ve prostatik üretrada da bulunurlar. Proliferatif aktiviteleri düşüktür. Prostat spesifik antijen (PSA) ve prostatik asit fosfataz (PAP) üretirler. Sekretuar hücreler ayrıca androjen reseptörleri, asidik müsin ve diğer sekretuar ürünleri üretirler. P63 ve yüksek molekül ağırlıklı keratin (HMWK) ekspresyonu yoktur. Sitokeratin (CK) 8, CK 18 ve vimentin ile immünopozitifler. Ayrıca androjen reseptörü (AR) içermektedirler (9).

2-) Bazal Hücreler: Bazal hücreler, bazal membran ile sekretuar hücreler arasında yer alırlar. Uzun eksenleri bazal membrana paraleldir. Sitoplazmaları dar, iyi sınırlı küboidal veya kısa kolumnar hücrelerdir. İmmünohistokimya (İHK) boyamalarda bazal hücre sitoplazmaları yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin (HMWCK)'ler 34βE12 ve CK903 ile veya nükleusları bir tümör süpresör gen ürünü olan p63 ile boyanırlar (10). Sekretuar hücrelerden farklı olarak PAF ve PSA ile boyanma göstermezler. Lokal düzenleyici maddelerin salgılanmasından sorumlu oldukları düşünülmektedir(7). Bazal hücreler; sekretuar, skuamöz, değişici ve müsinöz epitele dönüşebilmektedir bu nedenden dolayı prostat bezi içindeki kök hücreler olabilecekleri düşünülmektedir.

3-) Transizyonel Epitel: Ekstretuar kanallarda ve üretrada bulunur.

4-) Nöroendokrin Hücreler: Nöroendokrin hücreler en az bulunan hücre tipidir ve sıklıkla H&E (hematoksilen & eozin) kesitlerde tespit edilemez. İşlevleri tam olarak bilinmese de diğer organlardaki nöroendokrin hücrelerle benzer olarak büyüme ve gelişmede parakrin-endokrin düzenleyici rolleri olduğu düşünülmektedir. Kromogranin A ve B yanı sıra serotonin, somatostatin gibi çeşitli peptit hormonları, ve androjen reseptör eksprese ederler(11).

B-) Stroma: Prostat stroması, fibröz ve muskuler dokudan oluşmuştur. Tüm prostat dokusunun %30- 70'ini oluşturur. Stroma prostatın antreiorunda en belirgindir. Muskuler doku, esas olarak düz kasdan yapılmıştır. Prostatik stromal hücreler androjen reseptörü içerirler (9).

Benign prostatik asinuslardaki intraluminal içerik müsin, dejenere epitelyum, kristalloidler, proteinöz debriler, *corpora amylocea*, kalküller ve spermatozoadan oluşur. Müsin sıklıkla benign asinuslarda bulunmazken, neoplastik asinuslarda sıklıkla görülür. *Corpora amylocea* ise benign prostat asinuslarında sıkça bulunurken adenokarsinomlarda neredeyse hiç görülmez. Prostat sekresyonu, hematoksilin ve eozin ile lümende soluk eozinofilik boyanma ile ayırt edilebilirler.. Nötral musin benign bezlere özgü değildir, adenokarsinom bezlerinde de bulunabilir. Asidik musinler ise (Alcian mavisi pozitif, koloidal demir pozitif) genellikle normal ya da hiperplastik bezlerde bulunmazken, adenokarsinomda sıklıkla bulunur (9).

3.3.PROSTATIN FİZYOLOJİ

Prostat bezi sitrat iyonları, kalsiyum (Ca), fosfat iyonları, bir pıhtılaşma enzimi ve fibrinolizin içeren ince, süte benzer bir sıvı salgılar. Emisyon sırasında vaz deferentteki kasılmalarla birlikte prostat kapsülünde de kasılmalar oluşur. 0.5 ml'lik bu sıvı 3-3.5 ml'lik semen sıvısına katılır. Prostat salgısının alkalen yapısı fertilizasyonda önemli görev yapar. Bu sayede ince, sütümsü prostat sıvısı, semen kitlesine eklenir. Prostat sıvısının hafif alkalik özelliği, ovumun başarılı bir şekilde fertilizasyonunda önemlidir. Çünkü vas deferens sıvısı spermin metabolik ürünleri ve sitrik asit varlığında asidik özelliktedir. Buna ek olarak, vajinal salgıları da asidiktir. Bu nedenle, spermin fertilite özelliği baskılanabilir. Sonuç olarak, prostat sıvısının, diğer ejakülat sıvılarının asiditesini nötralize ettiği ve böylece spermin hareket ve fertilizasyon yeteneğini arttırdığı düşünülmektedir (12). Spermin optimal motilite kazanması için çevre pH'ın yaklaşık 6-6.5 olması gerekir (12).

PSA; prostatik epitelyumdan salgılanan ve ejakülatın seminal plazmasında bulunan bir proteinaz olup molekül ağırlığı yaklaşık 29 kilodaltondur. PSA hem tripsin benzeri hem de kimotripsin benzeri enzimatik etkiye sahiptir. PSA'nın biyolojik işlevi semenin likefaksiyonudur. Prostat spesifik antijen kanser spesifik olmayıp organ spesifik bir enzimdir (13).

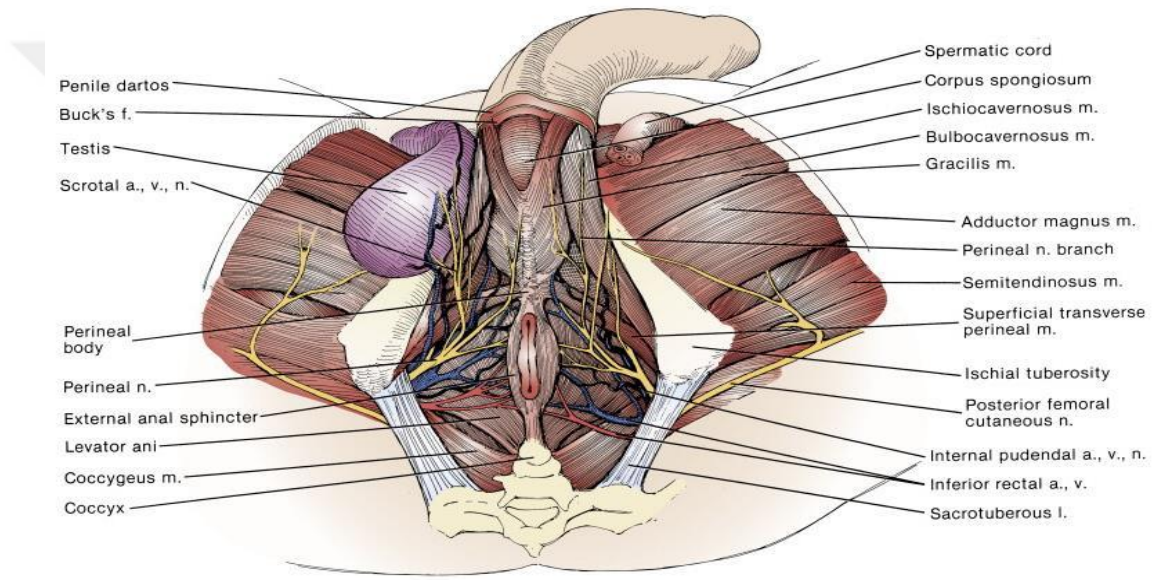
3.4.ANATOMİ

3.4.1.PERİNE ANATOMİSİ

Perine, pubis, kalça ve uyluklar arasında bulunur. Perinenin sınırları aşağıdan bakıldığında yanlarda iskiyal tüberositaslar, yukarıda simfizis pubis, aşağıda koksikden oluşur (14). Perineal alan; perineal membran tarafından yüzeyel ve derin katman olarak, her iki iskiyal tüberositaslar seviyesinden geçen hat ile de anal ve ürogenital üçgen olmak üzere ikiye ayrılır. Perineal alan dıştan içe doğru; yüzeyel fasya (Colles fasyası), perineal membran, derin tabaka olarak 3 adet fasya ile döşelidir. Derin tabaka, derin perineal boşluğun tabanını yapar (15). Anal üçgenin tabanını iskiyal tüberositaslardan geçen yatay çizgi oluştururken tepesi koksikstedir. Anal üçgenin merkezinde anüs bulunur ve etrafından başlayan yağ dokusu ürogenital üçgen, kalçalar ve uyluk medialine kadar devam eder. Her iki yan tarafında iskiorektal fossalar bulunur. İskiorektal fossalar yağ dokusu ile dolu olup, lateralde obturator internus kası ve sakrotuberöz ligaman, medialde ise levator ani ile sınırlıdır. Bu boşluk arkada siyatik forameninden geçen pelvisin orta katmanını ile bağlantılıdır. (14).

Ürogenital üçgenin tabanını, iskiyal tüberositaslardan geçen yatay çizgi oluştururken tepesi *symfizis pubis*'tedir. Penis, skrotum ve ilgili yapılar bu üçgenin içerisinde yer alır. Perine üzerini örten superfisiyal fasya kaldırıldığında görülen boşluğa superfisiyal perineal boşluk adı verilir (16-17). Perineal boşlukta penisin üç erektıl yapısının bağlantıları bulunur. Penisin korpus kavernozumları, iskiokavernöz kaslar tarafından sarılır ve inferior iskiopubik kollar ile perineal membrana yapışır. Diğer erektıl yapı olan korpus spongiosum, perineal gövde ve

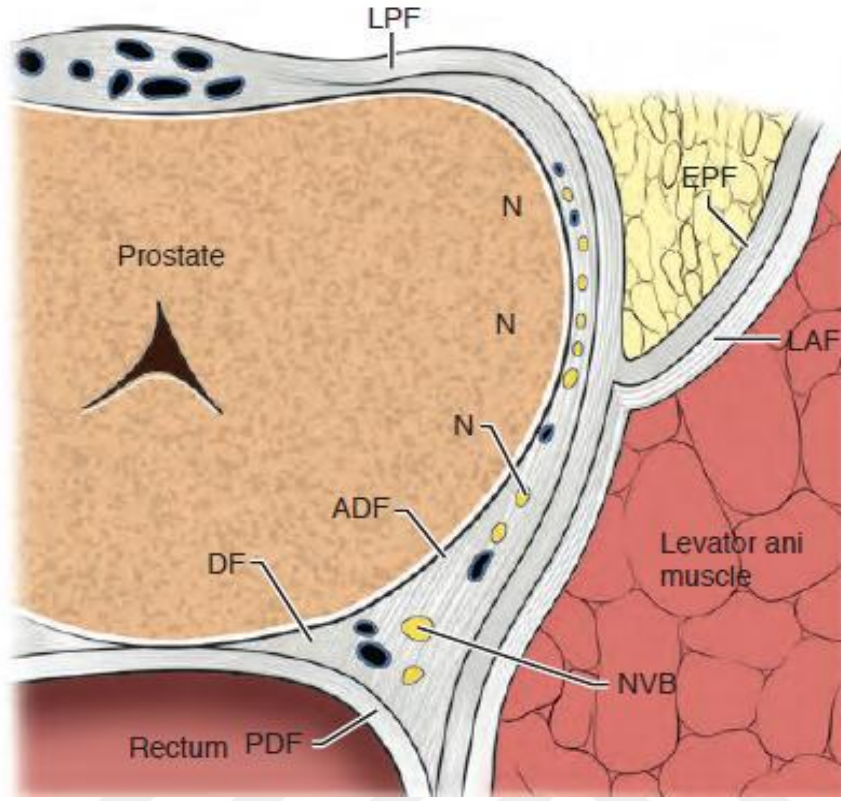
bulbospongioz kas tarafından sarılır. Transvers perine kasları ise perineal membranın arka kenarı boyunca seyrederek perineal yapıyı stabilize eder (14). Perineal cisim fibromuskuler bir yapıya sahip olup anal ve ürogenital üçgenlerin merkezinde bulunur. Aynı zamanda perineal kasların tutunma bölgesi olup, perineal kasların stabilizasyonunu sağlar. Rektal ve prostatik fasya ile üretral-rektal çizgili sfinkterlerin kaslarının, intrensek fasyaları birleşerek perineal cismi meydana getirir. Bulbospongios kas, yüzeysel transvers perineal kas ve eksternal anal sfinkterin yüzeysel kas lifleri bu yapıya tutunur (18).



Şekil-1: Perine Anatomisi (18).

3.4.2.PROSTATIN YAPISI

Normal prostat 18 gram ağırlığında, 3 cm uzunluğunda 4 cm genişliğinde 2 cm kalınlığında içerisinde prostatik üretra geçen sıkı elastik bir organ olup, mesanenin hemen altında ve ürogenital diafragmanın üst tabakasına oturur ve ona sıkıca yapışmıştır. Kollajen elastin ve yoğun düz kas yapısından oluşan bir kapsül ile çevrilidir. Kapsül posteriorsa Denonvillier fasyası ile birleşir. Prostatın anterior ve anterolateral yüzeylerinde kapsül endopelvik fasyanın viseral uzantısı ile karışır.



Şekil-2: Prostat fasya, kapsülü ve rektumla komşuluğu (18). (LPF:Lateral prostatik fasya, EPF:Endopelvik fasya, LAF:Levator Ani Fasyası, N: Sinirler, NVB: Nöro vasküler bundle, DF: Denonviller fasyası, ADF: Anterior Denonviller fasyası, PDF: Posterior Denonviller fasyası)

3.4.3PROSTATIN KOMŞULUKLARI

Prostat bezi anterior, posterior ve iki adet lateral olmak üzere 4 adet yüzeye sahiptir. Apeksi altta daralmış, üstte ise mesane tabanı ile devam eden geniş bir tabana sahiptir. Posterior kısmı rektum ile komşu olup, rektumdan fibröz kapsülü ve Denonvilliers fasyası ile ayrılır. Anterior yüzeyi dardır ve apeksten tabana kadar uzanır. Pubik kemik ile anterior yüz arasındaki boşlukta, yağ dokusu ve zengin venöz pleksus vardır. Lateral kısmında prostat, levator aninin pubokoksigeal parçası ile komşudur. Levator ani kasının üstünde endopelvik fasya ile ilişkilidir. Endopelvik fasyanın pariyetal ve viseral yaprakları '*arkus tendinosus fasya pelvis*' üzerinde birleşir. Bu seviyenin altında pelvik fasya ve prostat kapsülü birbirlerinden ayrılır) .

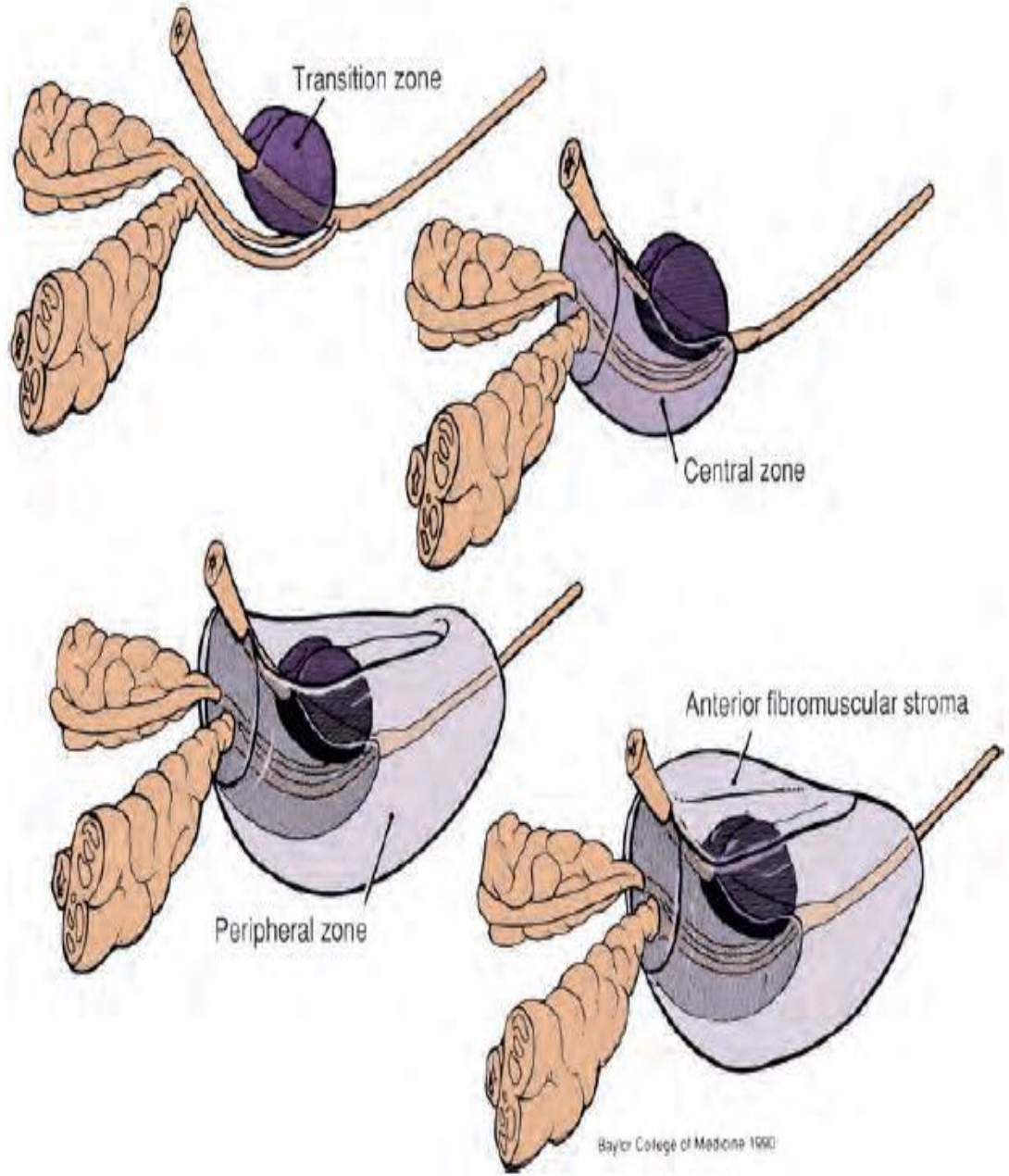
3.4.4.PROSTATİK ZONLAR

McNeal 1968’de glandüler elemanları santral zon, periferik zon ve transizyonel zon olarak üç bölüme, glandüler olmayan yapıları da fibromusküler stroma ve preprostatik sfinkter olmak üzere iki bölüme ayırmıştır (19).

Santral zon: Santral zon, verumontanum arkasında üretrayı saracak biçimde yerleşmiştir. Santral zon, prostatın glandüler dokusunun yaklaşık %25’ini oluşturur. Prostat adenokarsinomlarının yaklaşık %1-5’i bu zondan gelişir (14,18).

Transizyonel zon: Transizyonel zon, üretranın proksimal ve distal parçalarının birleşim yerinde, üretranın çevresinde yer alan glandüler elemanlardan oluşur. Glandüler dokunun %5- 10’ unu oluşturur. Benign prostat hiperplazisi (BPH) bu zondan kaynaklanır. Prostat adenokarsinomlarının ise yaklaşık %20’ sinin bu zondan kaynaklandığı düşünülmektedir (19).

Periferik zon: Periferik zon, prostat bezinin en büyük bölümünü oluşturur. Glandüler dokunun yaklaşık %70’ini oluşturur ve prostat kanserlerinin %70’i bu zondan kaynaklanır. Ayrıca kronik prostatit tarafından en sık etkilenen zondur (14,18).



Şekil-3: Prostatın zonal anatomisi (18).

3.4.5.PROSTAT ARTER, VEN VE LENFATİKLERİ

Prostatın kan akımı inferior vezikal arterden sağlanır. Beze yaklaştıkça prostatın beslenmesini sağlamak üzere üretral ve kapsüler dal olarak iki ana dala ayrılır. İlk ana dal üretral arterdir ve transizyonel zonu besledikleri için, benign prostat hipertrofisindeki adenomun ana arterleridir. Prostatik arterin ikinci ana dalı kapsüler arterdir. Bu arter dik açıyla prostatı delerek girer ve glandüler dokuları beslerler (19).

Prostat bezinin venöz drenajı beslenmeyi sağlayan arterlere eşlik eden venler çok sayıdadır ve prostat kapsülünün üzerinde birleşip periprostatik pleksusu oluştururlar. Bu pleksus, presakral, prevertebral ve inferior hipogastrik pleksus ile bağlantılıdır. Venöz drenaj, derin dorsal ven ile birleşerek internal iliak venlere olur (19). Prostat bezinin primer lenf akımı, obturator, internal ve eksternal iliak lenf nodlarına olur.

3.4.6.PROSTATIN İNNERVASYONU

Pelvik pleksus (*inferior hipogastik pleksus*)’tan kaynak alan sempatik ve parasempatik lifler, kavernoöz sinirler aracılığıyla prostat bezine ulaşır. Parasempatik sinirler asinüslerde sonlanıp, sekresyonu başlatırlar. Sempatik lifler ise kapsül ve stromada bulunan düz kasların kasılmasına neden olur, ayrıca preprostatik sfinkteri de innerve ederler (14-18).

4.PROSTAT ADENOKARSİNOMU

Prostat kanseri dünyada en sık görülen kanserlerden biridir ve insidansı hızla artmaktadır. Prostat kanseri riski 50 yaşına dek düşükken yaşla birlikte giderek artar. ABD’de 2016 yılında 180.890 yeni prostat kanseri vakası ve 26.120 buna bağlı ölüm tahmin edilmektedir (1). Avrupa’da 5 yıllık hastalıklı ilişkili sağkalım 1999- 2001’lerde %73.4 iken 2005-2008 yıllarında %84.4’lere ulaşmıştır (20). Prostat kanseri için, dünya ortalaması yüz binde 28’lerde iken, Avrupa ortalaması yüz binde 60’larda ve ülkemizde ise yüz binde 37’lerdedir . Son yıllardaki insidans oranları yalnızca hastalık riski farklılıklarını değil aynı zamanda latent

kanserlerin tanısında hem asemptomatik bireyleri tarama tespiti ile ortaya çıkan oranları da yansıtır. Böylece taramanın yaygın olduğu ülkelerde (A.B.D, Avustralya, İskandinav ülkeleri) kaydedilen insidans çok yüksek olabilir. Avrupa'da insidans oranları oldukça değişkendir. Örneğin Kuzey ve batı Avrupa ülkelerinde insidans yüksek iken, güney ve doğu Avrupa ülkelerinde düşük olma eğilimindedir. Prostat kanseri Asya popülasyonlarında ise daha nadirdir. Sağkalım, insidansı yüksek olan ülkelerde (ABD'de % 80, gelişmekte olan ülkelerde % 40) önemli ölçüde daha fazladır. Mortalite oranları Kuzey Amerika, Kuzey ve Batı Avrupa, Avustralya/Yeni Zellanda, Güney Amerika, Karayipler ve Sahra altı Afrika'da yüksekken Asya ve Kuzey Afrika'da düşüktür (11).

4.1.YAŞ DAĞILIMI

Prostat kanseri riski 50 yaşına dek düşükken yaşla birlikte giderek artar. Dünya çapında, tüm olguların yaklaşık dörtte üçü 65 yaş ve üzeri erkeklerde görülür (11).

4.2.RİSK FAKTÖRLERİ

Yapılan birçok çalışmada, prostat karsinomunun genetik bir yatkınlığına ilişkin güçlü kanıtlar gösterilmiştir. En önemli etkenler, etnik köken ve aile öyküsüdür (21). Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları Prostat karsinomu riskine katkıda bulunan 100 ortak gen lokusunu tespit etmiştir (22).

4.2.1.HEREDİTE

Prostat kanseri öyküsünün ailede olması hastalığın gelişmesi için en büyük risk faktörü olarak kabul edilir (23-24). Prostat kanserinin yaklaşık %9'u gerçek ailesel prostat kanseridir. Yapılan bir çalışmada prostat karsinomundan etkilenen aile bireylerinin sayısı, bunların akrabalık derecesi ve tanı anındaki yaşlarıyla rölatif riskin ve nüks oranının arttığı bildirilmiştir (25).

4.2.2.SİGARA

Sigara içimi prostat kanseri açısından bir risk faktörü olabilir. Sigara önemli derecede hücresel oksidatif stresi artırabilir. Kadmiyum maruziyeti, dolaşımdaki androjen seviyelerinin artmasına neden olabilir (27)

4.2.3.MESLEK

Prostat kanseri için artmış risk, böcek ilaçlarına maruz kalan çiftçilerde (27) ve petrol endüstrisinde çalışanlarda bildirilmiştir. Yüksek elektromanyetik alanlarda çalışan elektrik sağlayıcı işçiler arasında artmış prostat kanser mortalitesi saptanmıştır (28).

4.2.4.ENFEKSİYONLAR

Prostatit ile prostat kanserinin artmış riskini ortaya koyan çalışmaların yanında (29), prostat kanser riskini artırmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (30).

4.2.5.ANDROJENLER

Androjenler prostatın gelişimini, maturasyonunu ve devamlılığını sağlayan başlıca hormonlardır. Yüksek androjen seviyesinin prostat kanser riskini artırıp arttırmadığını belirlemek için çok sayıda çalışma yapılmıştır ancak kesin ilişki saptanamamıştır. Shaneyfelt ve ark.'larının prostat kanserinin hormonal habercileri hakkında önceden yayınlanmış çalışmaların meta-analizini yapmışlar ve total testosteron seviyesinin yüksek olduğu erkeklerde kanser gelişme olasılığının 2,34 kez yüksek olduğu sonucuna varmışlardır (31). Prostat Kanseri Çalışma Grubu tarafından 2008 yılında yapılan, endojen seks hormonlar ile prostat kanseri arasındaki ilişkiyi araştıran çok merkezli prospektif çalışmada arada bir ilişki olmadığı bildirilmiştir (32).

4.2.6.İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRÜ

İnsülin benzeri büyüme faktörü-1'in (IGF-1) hem normal hem transforme prostat epitelyal hücrelerinde mitojenik ve antiapoptotik etkileri vardır. Yapılan bir prospektif çalışmada serumdaki IGF-1 miktarındaki 100 ng/ml'lik bir artışın prostat kanseri riskini 2 kat arttırdığını gösterilmiştir. (33).

4.2.7.DİYET

Prostat kanseri gelişiminde, coğrafi değişikliklerin ve diyetin önemi vurgulanmıştır (26). Özellikle diyetin latent ya da histolojik kanserlerin klinik olarak ortaya çıkmasında rol alabileceği öne sürülmektedir. Dünyada prostat kanseri insidans ve mortalite oranları özellikle çoklu doymamış yağlar olmak üzere diyetsel yağ miktarı ile koreledir (34). Yüksek miktarda alınan yağ miktarının prostat kanser hücre proliferasyonunu uyardığı gösterilmiştir (35). Obezitenin prostat kanseri mortalite ve agresifliğiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (36). Leptin, tümör nekrotizan faktör alfa, adiponektin gibi sitokinler obeziteyle kanser arasındaki bağlantının temsilcisi olabilir (37). Ancak obezitenin prostat kanser prognozu ve insidansındaki rolü hala tartışmalıdır. Hipogonadik erkeklere uygulanan testosteron tedavisinin prostat kanseri riskini anlamlı arttırmadığı gösterilmiştir (38). Aspirin ve non-steroid antienflamatuar ilaç kullanımı ile prostat kanseri gelişimi arasında çelişkili veriler mevcuttur (39). Metabolik sendrom, Prostat kanseri riski ile zayıf ve net olmayan bir şekilde ilişkilidir. Sendromun bileşenlerinden hipertansiyon ve bel çevresi ölçümünün >102 cm olması anlamlı olarak artmış prostat kanseri riski ile ilişkilidir. Medikal müdahale ile bu riskin azaltılabileceğini öneren net veri yoktur (40).

ABD’de devam etmekte olan ve 10000’den fazla hastayı içeren bu konudaki “Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial” (SELECT) çalışması bu maddelerin kanseri önlemedeki etkisini net olarak ortaya koymamıştır (41). Ayrıca yeşil çay ve soya tüketiminin düşük kanser gelişme riskiyle ilgili olduğu bildirilmiştir (42).

4.2.8. LOKALİZASYON

İğne biyopsi ile tanı alan non-palpabl kanserlerin yaklaşık %15-25’i transizyonel zonda yerleşmiş olmasına rağmen baskın olarak periferik zonda bulunmaktadır. İğne biyopsi ile tanı alan ve klinik olarak palpabl prostat kanserleri ise baskın olarak posterior ve posterolateral yerleşimlidir (11). Bazı olgularda ise büyük transizyonel zon tümörleri periferik zona uzanıp palpabl hale gelebilir. Transüretral rezeksiyon (TURP) ile saptanan kanserler daha çok

transizyonel zonda yerleşmiştir. Büyük tümörler santral zona uzanabilir ama kanserler nadiren bu bölgede ortaya çıkarlar. %85 prostat karsinomu olgusunda adenokarsinom multifokaldır.

4.3. KLİNİK BULGULAR

Serum prostat spesifik antijen (PSA) testi sık olarak kullanılmaya başlamadan önce çoğu prostat kanseri asemptomatik olup dijital rektal muayene ile tanı almıştır. PSA taraması ile ortalama tümör hacmi azalmış olup semptomatik olarak başvuran hasta sayısı da düşmüştür. Çoğu kanserler periferik zonda ortaya çıktığından, transizyonel zonda ortaya çıkan hiperplaziler gibi mesane çıkışında tıkanıklığa yol açmazlar. Nadiren büyük tümörler obstrüksiyona yol açabilirler. Pelvik ağrı, rektal kanama ve tıkanıklıkla ortaya çıkabilen lokal yayılan kanserler geçmişe oranla daha az görülmektedir. Pelvik kemiklere ve spinal korda metastaz yapmış olan prostat adenokarsinomları kemik ağrısına ve spinal kord basısına yol açabilir. Büyümüş lenf nodları (genellikle pelvik, nadiren supraklavikuler ve aksiller) bazen bir semptom olarak ortaya çıkabilir. Asit ve plevral efüzyon prostat kanserinin nadir prezentasyonlarıdır (11).

4.4.LABORATUVAR TESTLERİ

4.4.1.Prostat spesifik antijen (PSA):

PSA 'nın bir serum markeri olarak kullanılması prostat kanser tanısında bir devrim yaratmıştır (68). PSA hastalık spesifik olmayıp organ spesifik bir biyomarkerdir. BPH, prostatit ve malign olmayan birçok durumda yükselebilir (43). Bağımsız bir değişken olarak PSA prostat kanserinde PRM ve TRUS'dan daha iyi bir öngörücüdür. Kesin bir ölçü değeri yoktur (44). Birçok erkek düşük PSA düzeylerinde dahi prostat kanseri olabilir (45). Bu nedenle serum PSA prostat kanseri için yüksek sensitivitesi ve spesifitesi yoktur. Bu sorun birkaç PSA ilişkili endeks hesaplanması ve diğer serum markerları ile kısmen çözülmüştür. PSA testleri tümör nüksü ve tedavi sonrası yanıtı tespit etmede yararlıdır. Nüksü tanımlamak için kullanılan değer tedavi şekline bağlı olarak değişiklik gösterebilir.

PSA level (ng/mL)	Risk of PCa (%)	Risk of Gleason $\geq$ 7 PCa (%)
0.0-0.5	6.6	0.8
0.6-1.0	10.1	1.0
1.1-2.0	17.0	2.0
2.1-3.0	23.9	4.6
3.1-4.0	26.9	6.7

Tablo-1: PSA düzeyine göre Prostat Kanseri görülme ihtimali (68)

4.4.2.PSA dansitesi

PSA dansitesi serum total PSA konsantrasyonunun transrektal ultrasonografi ile ölçülen prostat hacmine oranıdır. Yüksek olması klinik anlamlı prostat kanseri görülme riskini arttırır (46). Prostat dokusu hacmi başına PSA değeri BPH ve prostat kanseri varlığı, epitelyal hücre oranı ve karsinomun histolojik derecesi ile ilişkilidir.

4.4.3.Serbest PSA

Kanseri olmayan erkeklerde total PSA'nın büyük kısmı serbest PSA formunda bulunur. Prostat kanseri olan kişilerde total PSA'nın median değeri 7.8 ng/ml, serbest/total PSA oranı %10.5'dir. Bu değerler sırasıyla BPH olan kişilerde 4.3 ng/ml ve %20.8, BPH olmayan kontrol grubunda 1.4 ng/ml ve %23.6'dır (44).

4.4.4.Kompleks PSA

Ölçüm yöntemlerindeki değişkenliklere de bağlı olarak ortaya çıkabilecek serbest/total PSA oranı ölçümlerindeki problemler ve artmış hata payı kompleks PSA ölçümüyle önlenabilir. Kompleks PSA'nın spesifite değeri total PSA ve serbest/total PSA oranından yüksektir.

4.4.5.Serbest/total PSA oranı

Serbest/total PSA oranı BPH ile PCa ayırmada kullanılabilir. Özellikle PSA değeri 4-10 ng/dl olan hastalarda serbest/total PSA oranı < 0.10 ise PCa oranı % 56 iken bu oran >0.20 üzerinde iken prostat adenokarsinomu tespit etme oranı %8 dir (47).

4.4.6.PCA-3

Prostata özgü, parmakla rektal muayene ile prostat masajı sonrası idrar sedimentinden elde edilen kodlanmamış mRNA biyomarkerına PCA-3 denir (48). PCA3, prostat kansinomu volümü ile birlikte artış gösterir. Henüz aktif izlem hastalarının takibinde biyopsinin yerine kullanıma girmemiştir.(49).

4.5.TANISAL DEĞERLENDİRME

Prostat kanserinin taranması ile tanı konma oranları artmıştır. Tarama ile daha lokal evre hastalık tanısı artarken lokal ileri hastalık tanısı oranları azalmıştır. Elli yaş üzeri erkekler, ailede prostat kanseri öyküsü olan erkekler, 45 yaşın üzerinde ve Afro-Amerikan erkeklerde prostat kanseri risk artışı mevcuttur. Ayrıca 40 yaşında PSA >1 ng/dl ; 60 yaşında iken PSA >2 ng/dl ise ileri yaşlarda prostat kanseri gelişimi ve buna bağlı mortalite riski artmıştır (50-51). Prostat kanseri tanısı genellikle şüpheli parmakla rektal muayene ve yüksek PSA düzeyleri nedeniyle yapılan prostat biyopsisi veya prostat hiperplazisi nedeniyle yapılan transüretal rezeksiyon/prostatektomi materyellerinin histopatolojik incelenmesi ile konulur.

4.6.PARMAKLA REKTAL MUAYENE

Prostat kanserlerinin çoğu prostatın periferik zonundan kaynaklandığından tümör volümü 0,2 mL'nin üzerinde ise parmakla rektal muayene ile palpe edilebilir (52). Anormal PRM biyopsi endikasyonunu güçlendirir ve yüksek Gleason Skor ile ilişkilidir (53).

4.7.PROSTAT BİYOPSİSİ

Biyopsi endikasyonu genellikle PSA düzeyi veya şüpheli parmakla rektal muayene bulgularına dayanır. Ejekülasyon, manipulasyon ve üriner sistem enfeksiyonu olmadan birkaç hafta ara ile bakılan en az iki PSA değeri ile biyopsi endikasyonu konulmalıdır (54). USG klavuzluğunda yapılan prostat biyopsisi standart halini almıştır. Transrektal ve perineal uygulanabilir (55-56).

4.8.PROSTAT BİYOPSİSİ ENDİKASYONLARI

PSA yüksekliği ve/veya rektal muayenede anormal bulgu olması prostat biyopsisi endikasyonu doğurur. Bununla birlikte prostat kanseri tanısı almış hastaların takiplerinde ve radyoterapi başarısızlığını gösterme gibi durumlarda da prostat biyopsisi kullanılabilir. Biyopsi kararı alınmadan önce hastanın yaşı ve varsa komorbiditeleri göz önüne alınarak, risk sınıflaması yapılması gereksiz biyopsilerin önüne geçmek için önemlidir (57).

Akut prostatit, düzeltilemeyen belirgin kanama-pıhtılaşma bozukluğu, ileri derecede immun yetmezlik durumlarında prostat biyopsisi kontrendikedir. Ultrason klavuzluğunda yapılan biyopsiler günümüzde standart hale gelmiştir. Prostat iğne biyopsisi; transrektal, transperineal ve transüretral olarak yapılabilir. Transrektal ultrasonografi yardımcı yöntemde, genellikle sol lateral dekubit pozisyonunda diz ve kalçalar 90 derece bükülerek hastaya pozisyon verilir. Daha sonra proba uyumlu iğne ve biyopsi tabancası yardımıyla biyopsi alınır (58).

Prostat biyopsileri önceden altı kadran yapılmaktayken, günümüzde altı kor biyopsi yetersiz kabul edilip, 30-40 ml civarında hacmi olan bir prostat dokusundan 10-12 kadran örnekleme önerilmektedir (59). Başlangıç biyopsilerinde, prostat bezinin periferal zon, apeksten tabana kadar iki taraflı örneklenmeli ve ilk biyopside alınan örnekler mümkün olduğunca periferal zonun yan ve arka kısımlarından olmalıdır (60). Alınan örneklerdeki doku miktarları

farklılık göstermekle beraber örnekteki doku uzunluğu arttıkça prostat kanserini saptama ihtimali artmaktadır. Kanser saptanma ihtimalinin en yüksek olduğu yerler, bezin orta- yan ve taban-yan taraflarıdır (61).

On iki kadran biyopsi ile kanseri olan hastaların yaklaşık %20'sinde biyopsi negatif çıkabilmektedir. PSA'nın yüksek seyretmeye devam etmesi, rektal muayenede anormal bulgu olması ve/veya ilk biyopsi patolojisinde şüpheli histopatolojik bulgu olması tekrar biyopsi yapılması için endikasyon teşkil eder (62).

4.9.RADİKAL PROSTATEKTOMİ

Radikal Prostatektomi prostat kanseri için uygulanan ilk tedavi yöntemidir. Radikal perineal prostatektomi ilk olarak 1904'de Hugh Hamptom Young tarafından yapılmıştır ve radikal retropubik yaklaşım ilk olarak 1945'de Millin tarafından tanımlanmıştır. 100 yılı aşkın zamandır halen tedavide altın standarttır. Radikal Prostatektomi üretra ve mesane arasındaki tüm prostat dokusunun ve seminal vezikülleri içeren çevre dokunun negatif marjin bırakılacak şekilde rezeksiyonunu ifade eder. Prosedüre bilateral pelvik lenf nodu diseksiyonu da eşlik edebilir (63).

Radikal Prostatektominin tekniğine bakılmaksızın amaç; hastalığın ortadan kaldırılması, kontinansın sağlanması ve mümkünse erektil fonksiyonların korunmasıdır. Radikal prostatektomi genellikle en az 10 yıllık yaşam beklentisi olan hastalara önerilmektedir (64). Lokal evre prostat kanserinde radikal prostatektominin hem toplam sağkalıma hem kanser spesifik sağkalıma katkısı kanıtlanmıştır (65).

5.PROSTAT ADENOKARSİNOMU PATOLOJİSİ

5.1.MAKROSKOPİK BULGULAR

Prostatektomi materyallerinde tümörün kesit yüzeyi çok değişken görünümde olmakla birlikte genellikle gri-sarı renkte, düzensiz sınırlı, sert bir odak olarak görülür(9). Fakat sadece PSA artışı ile yakalanmış T1c tümörler genellikle makroskopik olarak belirlenemez (11). Prostat kanserlerinin büyük kısmı periferik zondan köken alır, posterior, lateral ve anterior bölgelerde görülebilir, ileri evre olmadıkça genellikle periüretral bölgeyi atlar. Nadiren prostat kanserleri prostatik transizyonel zondan köken alabilirler (9).

5.2.MİKROSKOPİK BULGULAR

Mikroskopik incelemede prostatik adenokarsinomlar non-neoplastik glandlardan zor ayırt edilebilen iyi diferansiye neoplazmlardan, anaplastik tümörlere kadar geniş bir spektrum gösterebilirler. Tanı çoğu zaman yapısal ve sitolojik bulguların kombinasyonu ile konulur. Bazen immünohistokimyasal ek incelemeler gerekebilir (66). Şüpheli odaklardaki asinuslar küçük-orta boyutlu, düzensiz, elonge kontürlü olarak izlenir.

Bazen tanı zorluğu olan alanlarda çevre normal benign prostatik asinüslerle karşılaştırmak yararlı olabilir. Tanı için asinüslerin dizilimi önemlidir. Malign asinüsler stromadaki kas liflerini yararak gelişen güzel dizilim gösterirler (66). Asinüs yapısını kaybederek diffüz infiltratif patern, kribriform, komedo, solid ve glomeruloid patern oluşturabilirler. Prostat adenokarsinomunun en belirgin sitolojik özelliği nükleol belirginliğidir. Nükleol belirginliği tanı için. Fakat nükleol tek kriter olarak kullanılmamalıdır. Belirgin nükleol kanseri taklit eden bazı durumlarda da görülebilir. Bu nedenle belirgin nükleol görüldüğünde glandın bazal membranının bulunup bulunmadığı bakılmalı ve ayırıcı tanıda benign lezyolar mutlaka akılda tutulmalıdır. Bazen köpüksü hücreli varyant adenokarsinom, düşük gradeli (gleason skor 4-5) ve transizyonel zon adenokarsinomlarda nükleol belirginliği izlenemeyebilir. Diğer sitolojik bulgular ise nükleer irileşme ve hiperkromazidir (11). Bazal hücre tabakası

adenokarsinomlarda izlenmez. Bazen hemotoksilen ve eozin (H&E) boyalı kesitlerde bazal tabakayı değerlendirmek zor olabilir. Genellikle asininin periferinde fokal olarak izlenen sıkışmış stromal fibroblastlar bazal hücreleri taklit edebilir. Zor vakalarda immünohistokimyasal olarak HMWCK ve p63 kullanılabilir (66). Nükleer bulgulara ek olarak sitoplazmik bulgular da prostatik adenokarsinom tanısı için kullanılabilir. Prostatik karsinom, soluk şeffaf sitoplazmaya sahip çevre benign glandlardan daha amfofilik sitoplazmaya sahiptir (11).

Prostatik adenokarsinom tanısında luminal içerikleri değerlendirmek de faydalı olabilir. Prostatik kristaloidler yoğun eosinofilik kristal benzeri yapılardır. Diğer tanısal lüminal içerikler ise mavi, müsinöz ve/veya pembe yoğun amorf asellüler sekresyonlardır. İyi sınırlı yuvarlak-oval konsantrik lamellar halkaları olan ve benign glandların içinde belirgin olarak izlenebilen corpora amylacea'dan ayrılmalıdır.

Genellikle prostat adenokarsinomları belirgin dezmoplastik veya inflamatuvar yanıt oluşturmaz. Ancak dezmoplastik reaksiyon izlenmesi daha çok yüksek gradeli karsinom ile ilişkilidir (11).

Prostat karsinomu için tanısal olan ve sadece prostat karsinomlarında görülen 3 bulgu vardır; müsinöz fibroplazi (kollajenöz mikronodüller), glomerulasyonlar ve perinöral invazyon (11, 66).

Kollajenöz mikronodüller asiner lüminada, sellüleritesi az, eosinofilik fibriller stromadan oluşan, mikroskopik nodüler kümelerdir. Genellikle müsin üreten adenokarsinomlarda asidik müsinin stromaya ekstrasvazasyonu sonucu oluşur. Adenokarsinom vakalarında %2-13 oranında mevcuttur. Benign epitel, nodüler hiperplazi veya prostatik intraepitelyal neoplazide (PIN) görülmezler (66).

Perinöral invazyon kanser için çok güçlü bir bulgudur fakat nadiren benign asinilerde de görülebilir. Siniri komplet çevreleme, intranöral invazyon ve ganglionik invazyon genellikle prostatik adenokarsinomlarda görülür. Fakat benign asinilerde de çok nadir perinöral girintiler, siniri takip etme, perinöral

sarmalama ve bazen intranöral yayılım izlenebilir (66). Perinöral invazyonun benign hiperplastik glandlara benzeme eğilimi vardır. Bu duruma psödohiperplastik perinöral invazyon adı verilir.

5.3.HİSTOLOJİK VARYANTLAR

Atrofik varyant: Atrofik varyant sitoplazmik volüm kaybına uğramış malign glandlardan oluşur. İnfiltratif patern, nükleer irileşme, makronükleol varlığı ve bazen komşu tipik karsinom varlığı malignite tanısı için yardımcıdır (9). Sporadik olarak, radyasyon terapisi veya hormon terapisi sonucu gelişebilir. Atrofik patern adenokarsinom benign atrofik glandlara benzeyebilir. Özellikle nükleus düzleşmiş görünümde ise, nükleer irilik ve belirgin nükleol varlığı izlenmiyorsa malignite tanısı koymak zordur (11).

Psödohiperplastik varyant: Psödohiperplastik varyant prostatik luminal hücre epitel hiperplazisine benzer bir şekilde görülür. Yapısal olarak dallanmalar, papiller içe katlantılar ve luminal ondülasyonlar izlenir (9). Küçük büyütmede hafif mikrositik görünüm mevcuttur. Nükleer irilik, makronükleol varlığı, mitoz, intraluminal kristaloidler ve komşu prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) alanları izlenmesi malignite tanısı koymada yararlıdır (9).

Mikrokistik varyant: Tipik olarak yuvarlak profil gösterir ve düzleşmiş luminal hücreler ile döşelidir. Döşeyici hücreler sitoplazmik volüm kaybına uğrayabilir ve atrofik görünümde olabilir (11). Radikal prostatektomilerde tipik asiner adenokarsinomlar %11 oranında mikrokistik odak içerebilir.

Köpüksü hücreli varyant: Köpüksü hücreli varyantta abondan, köpüksü/ksantomatöz sitoplazma izlenir (66). Nükleuslar piknotiktir (küçük, yuvarlak ve hiperkromatik). Nükleer irilik ve belirgin nükleol genellikle izlenmez. Müsin ve lipid boyaları negatif, koloidal demir ve alsian blue boyaları pozitifdir. Genellikle asiner adenokarsinomun komponenti olarak bulunur (11).

Müsinöz(kolloid) varyant: Müsinöz adenokarsinom tanısı için tümörde %25 ten fazla ekstrasellüler müsin gölcükleri bulunmalıdır. Bu nedenle bu tanı sadece radikal prostatektomi spesimenlerinde konulabilir. Mikroskopik incelemede tek tek duran veya birleşik glandlar ve kribriform yuvalar geniş müsin gölcüklerinin içinde yüzer. Tümör hücreleri asiner adenokarsinomun tipik özelliklerine (poligonal, alçak kolumnar, soluk, eosinofilik ve amfofilik stoplazma) benzer (11). Müsin boyaları müsinini gösterir ancak sitoplazmik müsin genellikle görülmez. Prostatik müsin PAS, PAS-AB ve müsikarmin ile boyanır. Genellikle benign asinüslerde nötral müsin, malign asinüslerde asidik müsin izlenir. Ancak benign asinüsler az miktarda asidik müsin üretebilir. Ayrıca asidi müsin atipik adenomatöz hiperplazi, müsinöz metaplazi, PIN, sklerozan adenozis ve bazal hücreli hiperplazide de izlenebilir (66).

Taşlı yüzük hücreli benzeri hücreli varyant: Taşlı yüzük hücreli benzeri varyant tanısını koyabilmek için tümörün en az %25'i signet ring hücreli morfolojide olmalıdır. Solid, asiner veya peşpeşe sıralanmış tek hücreler şeklinde gelişen intrasellüler müsin içeren oldukça malign bir varyanttır.

Pleomorfik dev hücreli varyant: Dev, bizar, anaplastik hücrelerden oluşan, pleomorfik nükleus görülen çok nadir bir varyanttır. İğsi hücreli komponent izlenmez. Fokal küçük hücreli nöroendokrin ve duktal adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinom odakları izlenebilir. Hastalarda hormonoterapi veya radyoterapi ile tedavi edilmiş konvansiyonel prostat karsinomu hikayesi bulunabilir.

Sarkomatoid varyant (Karsinosarkom): Hem epitelyal hem de mezenkimal diferansiyasyon gösteren bifazik malign bir tümördür. Hastaların yarısında radyasyon veya hormon tedavisi almış önceki asiner adenokarsinom hikayesi vardır. Mikroskopik olarak epitelyal komponent genellikle değişkendir ama çoğunlukla yüksek Gleason skora sahiptir. Mezenkimal komponent osteosarkom, kondrosarkom, rabdomyosarkom, leiomyosarkom, liposarkom ve anjiosarkom olabilir (11).

5.4.DİĞER PROSTAT TÜMÖRLERİ

5.4.1.DUKTAL ADENOKARSİNOM

Histolojik olarak papiller ya da kribriform patern olmak üzere iki tip patern gösterir. Papiller paterne sahip tümörler, sıklıkla üretra içine ekzofitik olarak büyürler. Kribriform paternde, sırt sırta vermiş büyük asinuslar ve bunlar arasında epitelyal köprüleşmeler, yarık benzeri lümen oluşumları görülür. Kribriform paterni, kribriform PIN'den ayırmak güçtür. Bazı olgularda çok sayıda mitoz ve belirgin sitolojik atipi izlenir. Prostatik adenokarsinomlar %0,3 ila %0,9 oranında prostatik duktuslardan kaynaklanır. Yaklaşık %5'inde hem duktal hem de asiner diferansiasyon bulunur. Pek çok çalışmada duktal adenokarsinomun agresif bir gidiş gösterdiği bildirilmiştir (67).

5.4.2.ÜROTELYAL KARSİNOM

Primer prostatik ürotelyal karsinom, periüretal glandların ürotelyal epitelinden köken alır veya duktus ve asinusların ürotelyal metaplazisi zemininde, displazi-insitu ve invaziv karsinom süreciyle gelişir (68). Ürotelyal tümörlerin bütün histolojik tipleri ve grade'leri, primer ve sekonder prostatik ürotelyal tümörlerde de görülebilmektedir. Histolojik olarak insitu ürotelyal karsinom ve stromal infiltrasyonun eşlik etmesi ile karakterizedir. Primer prostatik ürotelyal karsinom, mesane boynu ve çevre yumuşak dokuları infiltre etme eğilimi gösterir. Tümör hücreleri PSA ve PAP negatiftir. Sitokeratin 7 ve sitokeratin 20 olguların büyük çoğunluğunda HMWCK veya p63 ise olguların %50'sinde boyanır. Primer veya sekonder prostatik ürotelyal karsinomda en önemli prognostik parametre, stromal invazyon varlığıdır (68).

5.4.3.SKUAMÖZ HÜCRELİ VE ADENOSKUAMÖZ KARSİNOM

Adenoskuamöz karsinom, skuamöz hücreli karsinom ve asiner karsinomun kombinasyonundan oluşur. Histolojik olarak diğer organlarda izlenen skuamöz hücreli karsinom ile aynı özelliklere sahiptir. Bulgular ve semptomlar tipik prostat adenokarsinomu ile benzerdir. Skuamöz hücreli karsinom prostatta nadiren

izlenir. Serum PSA ve PAP seviyesi, metastaz varlığında bile normal izlenir. Prognozu kötüdür. Keratinize skuamöz hücreli karsinom, prostatta genellikle periüretral duktuslardan kaynaklanır. Skuamöz hücreli ve adenoskuamöz karsinomun her ikisinin de mesane veya üretral kanserin sekonder yayılımından ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Adenoskuamöz karsinomda glandüler komponent PSA ve PAP ile boyanır, skuamöz komponent ise HMWCK ile boyanır (68).

5.4.4.BAZAL HÜCRE HİPERPLAZİSİ VE KARSİNOMU

Bazal hücre hiperplazisi üç patern gösterir: Tipik bazal hücre hiperplazisi, Atipik bazal hücre hiperplazisi ve Bazal hücre adenomu (66). Bazal hücre hiperplazisi; uniform hücrelerin oluşturduğu küçük solid yuvalar yapar. Hücrelerin etrafında palizadik dizilim izlenir (69). Yuva yapıları solid olabildiği gibi kistik dilate veya kribriform paternde de olabilir. Bazal hücreler büyük, oval veya yuvarlak olup, ince retiküler kromatinli, büyük, oval, soluk nükleus ve bir miktar sitoplazma içerir. Nukleolus belirgin değildir (69). Bazal hücre lezyonları, transizyonel zonda yerleşmeye eğilimli olup genellikle TUR-P materyallerinde izlenir. Fakat bazen iğne biyopsisinde de bulunabilir. Bazaloid yuva yapılarının iyi sınırlı açık renkli nodülleri ile oluşan şekli bazal hücre adenomudur (67). Atipik bazal hücre hiperplazisinde ise bu yuva yapılarındaki hücrelerde büyük belirgin nükleolus mevcuttur. Bu lezyonun önemi, adenokarsinom ile karışabilmesidir. Bazal hücre hiperplazisinin tipik ve atipik formlarında bütün hücreler HMWCK ile ve diğer bazal hücreye spesifik işaretleyicilerle immunreaktivite gösterir (67). Bazal hücreli karsinom, bazal hücre hiperplazisinden farklı olarak desmoplastik stromal yanıt, perinöral invazyon, nekroz ve çevre dokuya geniş infiltrasyon içerir (67). İki farklı patern gösterir: Adenoid kistik patern ve Bazaloid patern. Adenoid kistik paternde, bazal hücrelerin oluşturduğu düzensiz gruplar, tükürük bezinin adenoid kistik karsinomuna benzeyen müsinöz materyal içerir. Bazaloid patern ise belirgin palizadlaşma içeren, bazaloid hücre nestleri içerir (66). Bu paternler sıklıkla beraber olsa da pür formları da bildirilmiştir. Adenoid kistik karsinom, HMWCK ile değişik derecelerde immunreaktivite gösterir (66).

5.4.5.NÖROENDOKRİN TÜMÖRLER

Nöroendokrin diferansiasyon gösteren adenokarsinomun klinik özellikleri tipik asiner adenokarsinoma benzer. Adenokarsinomdaki nöroendokrin diferansiasyonun prognoz üzerine etkisi yoktur (66). Prostat nöroendokrin karsinomun çeşitli histopatolojik tipleri vardır. Karsinoid benzeri paternden (düşük grade'li nöroendokrin karsinom), küçük hücreli indifferansiye -oat cell-karsinoma (yüksek grade'li nöroendokrin karsinom) kadar uzanır. Bu tümörler akciğer ve diğer bölgelerdeki benzerleri ile morfolojik olarak aynıdır. Cushing sendromu, malign hiperkalsemi, uygunsuz Antidiüretik Hormon sekresyonu sendromu ve myastenik (Eaton-Lambert) sendromunu da içeren paraneoplastik sendromlarla birlikte görülür (9). Tümör hücrelerinde Serotonin, Kalsitonin, Adrenokortikotropik Hormon, Human Koryonogonadotropik Hormon, Tiroid Sitümüle Edici Hormon, Bombesin ve İnhibin gibi sekretuar ürünler saptanır. Aynı hücreler PSA, PAP ve peptid hormonları da eksprese eder fakat pür küçük hücreli karsinomda PSA immunreaktivitesi gözlenmez.

5.4.6.MEZENKİMAL TÜMÖRLER

Prostatta nadir olup bunların çoğunu leiomyom oluşturur (66). Nadiren fibrom, soliter fibröz tümör, kondrom, osteokondrom, ganglionörom, granüler hücreli tümör, nörofibrom ve schwannoma gibi diğer benign stromal tümörler görülebilir. Bu tümörler yumuşak doku ve kemikte görülenlerle aynı özellikleri taşır. Prostat sarkomları, malign prostat tümörlerinin % 0,1-0,2'sini oluşturur (66).

Rabdomyosarkom ise çocukluk çağında prostatta en sık izlenen mezenkimal tümördür (66). Nadir olarak malign fibröz histiyositom, anjiosarkom, osteosarkom, kondrosarkom, malign periferik sinir kılıfı tümörü ve sinovyal sarkom bildirilmiştir (9).

5.4.7.PROSTATİK İNTRAEPİTELYAL NEOPLAZİ (PIN)

Yapısal olarak benign ancak sitolojik olarak atipik hücrelerle döşeli büyük duktus ve asinuslardan oluşmaktadır. Hücresel kalabalıklaşma ve sıralanma artışı, nükleer büyüme, pleomorfizm ve nükleolus varlığı esas alınarak düşük dereceli ve yüksek dereceli PIN olarak iki gruba ayrılmaktadır. Yüksek dereceli PIN’da nükleol belirginliği esas alınmaktadır. Yüksek dereceli PIN, sıklıkla periferall zonda multifokal odaklar şeklinde görölmekte ve yaşla birlikte görölme insidansı artmaktadır. Yüksek dereceli PIN, prostat adenokarsinomlarının öncöl lezyonu olarak kabul edilmekte ve çoğı prostat adenokarsinomuna eşlik etmektedir (66).

5.5.PROSTAT KANSERİ DERECELENDİRİLMESİ

Mikroskopik derecelendirme klinik veya patolojik evre ile doğrudan ilişkilidir. Histolojik olarak derecelendirme prostatik adenokarsinomlar için güçlü bir prognostik faktördür. Gleason derecelendirme sistemi; Veterans’ Administration Cooperative Urological Research Group tarafından, 1960 ile 1975 arasında, 4000’den fazla hasta üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda ortaya çıkmıştır (66). Bu sistem yapısal diferansiyasyon derecesine göre yapılmaktadır. Nükleer atipi kullanılmamaktadır (11). Nükleer atipiyi de içeren derecelendirme sistemleri vardır. Fakat yapılan çalışmalarda, nükleer atipinin, sadece glandüler diferansiyasyona göre yapılan derecelendirmeye bağımsız prognostik bir bulgu kattığına dair ikna edici bir sonuç yoktur (11). 1999 yılından bu yana Gleason derecelendirilmesi prostat kanseri sınıflanmasında uluslararası Standard olarak kabul edilmektedir (66). Gleason derecelendirme sisteminde tümör derecesinin yalnızca arkitektürel paterne göre yapılması ve en yaygın görölün 2 derecenin toplamına göre göre skor verilmesidir (Gleason skor). Derecelendirme 1’den (en iyi differansiye) 5’e (en kötü differansiye) kadar yapılır. Baskın olan derece primer patern, baskın olmayan derece ise sekonder patern olarak değeriendirilir ve bu ikisinin toplamından 2 ile 10 arasında değışen toplam histolojik skor elde edilir. Eğer tümör tek bir patern içeriyorsa Gleason skoru bu paternin iki katıdır. Gleason skoru 2 ve 3 çok istisnai bir durumdur. Çünkü Gleason patern 1 çok nadirdir. Gleason skoru 4 ise göreceli olarak nadirdir. Çünkü patern 2 sıklıkla

patern 3 ile karışık olarak bulunur. Gleason skoru 2 ile 4 arasında olan tümörler transisyonel zonu örnekleyen TURP materyallerinde görülebilir. İğne biyopsi materyallerinde Gleason skoru 2-4'ün kullanılmaması gerektiği söylenmektedir. Gleason skoru 6 ve 7 en sık görülen skorlardır ve çalışmaların çoğunda tümörlerin büyük bir kısmını oluşturmaktadır (11).

Gleason patern 1: Uniform, tek, ayrı ve sıkı paketlenmiş bezlerden oluşan, iyi sınırlı tümör nodülleri Gleason patern 1 olarak derecelendirilir. İyi sınırlı, nodüler, uniform, iyi diferansiye orta büyüklükteki glandlardan oluşur. Bez boşluğu bir bez boyutunu geçmez. Bu patern sıklıkla transisyonel zon kanserlerinde görülür. Gleason patern 1 çok nadirdir ve varlığı tartışmalı bir konudur (11).

Gleason patern 2: Gleason patern 2'de tümör hala oldukça iyi sınırlıdır. Gleason patern 1'e göre bezler daha gevşek paketler halinde ve daha az uniformdur.]. Şekillerinde hafif farklılık izlenen neoplastik glandlar mevcuttur. Glandlar arasındaki stromada hafif artış olabilir. Nodülün periferinde hafif düzensizlik olabilir. Gleason patern 1 ve 2 bezler orta dereceli tümörlere göre daha büyük olma eğilimindedir ve abondan soluk eozinofilik sitoplazmaları vardır. Genellikle transisyonel zonda görülürler ancak bazen periferel zonda da ortaya çıkabilirler (11).

Gleason patern 3: En sık görülen paternidir. Bu tümörlerin büyük çoğunluğu, belirgin şekil ve boyut farklılıkları gösteren, sıklıkla anguler şekilli, tek tek bezlerden oluşur. Genellikle benign glandların arasında duran stromayı infiltre eder. Küçük bezler, patern 3 için tipiktir fakat daha büyük ve düzensiz şekilli bezler de görülebilir. Bütün bezler lümenine sahiptir ve stroma tarafından çevrelenirler (11).

Gleason patern 4: Büyük, düzensiz, kribriform ya da lümeni belirsiz, birleşmiş, düzensiz sınırlı bezleri içerir. Birleşmiş bezler stroma tarafından birbirinden ayrılmayan bezler grubundan oluşur. Kribriform patern 4 bezleri büyük ve düzensiz şekillidir. Birleşmiş bezleri aksine kribriform bezlerin arasında stroma görülmez. Glomerulasyonlarda (iç içe glandlar) bu paternde yer alır(11).

Gleason patern 5: Tek tek duran ve herhangi bir gland yapısı oluşturmeyan tümör hücrelerinden oluşur. solid, kord benzeri büyüme ve infiltrasyon gösterir (11, 66). Gleason patern 5'te tümörde glandüler diferansiyasyon kaybı görülür. Kribriform ya da ortasında komedonekroz içeren solid adalar patern 5 olarak derecelendirilir (11).

Tersiyer patern: İğne biyopsi ve radikal prostatektomi materyallerinde tersiyer patern tanımlaması farklıdır. İğne biyopsilerde tersiyer patern üçüncü sıklıkta görülen paterndir. Radikal prostatektomi materyallerinde ise primer ve sekonder paternlerden daha yüksek dereceli ve toplam tümör hacminin %5'inden azını oluşturan patern olarak tanımlanmaktadır.

The International Society of Urologic Pathology (ISUP), üç ve üzeri farklı patern içeren olgularda, Gleason skorlamasını en sık olan patern ile en kötü paternin toplamı şeklinde modifiye etmişlerdir. Örnek olarak; %65 oranında derece 3, %40 derece 4 ve %5 oranında derece 5 içeren bir radikal prostatektomi materyali ISUP'a göre $3 \text{ (en sık patern)} + 5 \text{ (en kötü patern)} = 8$ olarak derecelendirilmelidir. Fakat bu materyalin klasik Gleason skoru $3 \text{ (en sık patern)} + 4 \text{ (en sık ikinci patern)} = 7$ 'dir. Bu modifiye Gleason skorlamasının prospektif doğrulama gerektirdiği düşünülmektedir (11).

Daha sonra ISUP tarafından 2014 yılında yeni grade grup sistemi önerildi ve 2016 WHO (world health organisation) klasifikasyonuna alındı (70). Bu konsensusta kribriform ve glomeruloid glandların morfolojiden bağımsız gleason patern 4 olarak alınması (23), müsinöz (kolloid) karsinomun altta yatan büyüme paternine göre sınıflanması, intraduktal karsinomda invaziv komponent yoksa sınıflandırılmaması ancak raporda klinisyenin bilgilendirilmesi, gleason skor 7 (özellikle 3+4) tümörlerde gleason patern 4 yüzdesinin verilmesi kararlaştırılmıştır. (70).



Şekil 4: Prostatik adenokarsinomda histolojik derecelendirme (sol: orijinal Gleason -sağ: 2015 ISUP/2016 WHO Gleason derecelendirmesi.) (11)

Table 4.2.1 International Society of Urological Pathology 2014 grade groups

Gleason score	Grade group
2-6	1
7 (3 + 4)	2
7 (4 + 3)	3
8 (4 + 4) or (3+ 5) or (5 + 3)	4
9-10	5

Table 4.2.2: EAU risk groups for biochemical recurrence of localised and locally advanced prostate cancer

	Low-risk	Intermediate-risk	High-risk	
Definition	PSA < 10 ng / mL and GS < 7 and cT1-2a	PSA 10-20 ng /mL or GS 7 or cT2b	PSA > 20 ng / mL or GS > 7 or cT2c	any PSA any GS cT3-4 or cN+
	Localised			Locally advanced

PSA = prostate-specific antigen.

Tablo 2: WHO 2016 Grade grup sistemi (70)

5.6.TÜMÖR YAYILIMI VE EVRELEMESİ

Radikal prostatektomilerde patolojik evre, derecelendirmenin ardından rekürens ve prostatik karsinoma spesifik ölümlerin en önemli prognostik faktörüdür (11).

TX	Primer tümör değerlendirilemiyor
T0	Primer tümör bulgusu yok
T1	Palpasyonla ya da görüntüleme yöntemleri ile klinik olarak belirgin olmayan tümör
T1	Histolojik incelemede rezeke edilen dokunun %5 veya daha azında tümör
T1b	Histolojik incelemede rezeke edilen dokunun %5 veya daha fazlasında tümör
T1c	İğne biopsilerinde saptanan tümör (örn: Yükselmiş PSA değerleri)
T2	Prostat içinde sınırlı tümör*
T2a	Bir lobun yarısını veya daha azını tutan tümör
T2b	Bir lobun yarısından fazlasını tutan fakat iki lobu tutmayan tümör
T2c	Her iki lobu tutan tümör
T3	Prostat kapsülü boyunca yayılan tümör**
T3a	Ekstrakapsüler yayılım (tek yada iki taraflı)(mikroskopik mesane boynu tutulumu dahil)
T3b	Vesicula seminalis (lere) yayılan tümör
T4	Tümör, vesicula seminalis dışındaki komşu yapılara da fıkse olmuş veya yayılmıştır.

Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
No	Bölgesel lenf nodu metastazı izlenmedi
N1	Bölgesel lenf nodu metastazı mevcut
MO	Uzak metastaz izlenmedi
M1	Uzak metastaz mevcut
M1a	Bölgesel olmayan lenf nodu metastazı
M1b	Kemik metastazı
M1c	Diğer bölge (ler) de metastaz

Tablo-3: Prostat kansinomuunda TNM klasifikasyonu (11).

T- Primer tümör

* İğne biyopsisi ile bir ya da iki lobda saptanan tümör, palpe edilemiyor ya da görüntüleme ile gösterilemiyorsa T1c olarak sınıflandırılır

** Prostat apeksine ya da kapsül içine invazyon (dışına değil), T2 olarak sınıflandırılır .

N- Bölgesel lenf nodları

M- Uzak metastaz

5.7.EKSTRAPROSTATİK YAYILIM

Ekstraprostatik yayılım, tümörün prostat sınırlarını geçerek periprostatik yağ dokuya, mikroskopik olarak mesane boynuna (pT3a) veya seminal veziküllere (pT3b) invazyonudur. Yağ doku yokluğunda, posterior/ posterolateral alanlarda ekstraprostatik yayılım, tümörün prostat sınırını aşması ve/veya kondanse düz kaslara girmesi olarak tanımlanır (11) . Ekstraprostatik yayılım olan hastalar diğer hastalara göre daha kötü prognozludur (71). Apekte prostat sınırları net olarak belli olmadığı için bu alanlarda ekstraprostatik uzanım tanısı güvenilir değildir. Anterior bölgede EPY tanısı tümör yağ dokuya geçtiğinde veya prostat sınırını belirgin olarak aştığında verilebilir (11).

Seminal vezikül invazyonu prostatik adenokarsinomun seminal vezikülün ekstra prostatik alanındaki kas tabakasına geçmesidir (11). En sık invazyon yolu tümörün prostatın bazalinden çıkarak seminal vezikülün yumuşak dokusuna girmesi ve burdan invaze etmesidir. Daha nadir olarak ejakulatuar kanaldan direk invazyon ya da prostatın bazalinden seminal vezikülün duvarına direk invazyon görülebilir (70).

‘College of American Pathologists’ (CAP), pozitif cerrahi sınır ve ekstraprostatik uzanım aynı alandaysa raporda belirtilmesi gerektiğini, bu durumun lokal ileri tümör varlığını gösterebileceğini vurgulamıştır (72).

5.8.CERRAHİ SINIRLAR

Cerrahi sınır pozitifliği radikal prostatektomi sonrası klinik ve biyokimyasal nüks ile ilişkilidir. Pozitif cerrahi sınır(PCS) mikroskopik olarak malign glandların boyalı cerrahi sınıra değmesi olarak kabul edilir (73). Çalışmalarda PCS’nin yaygınlığı iki farklı yaklaşımla sınıflandırılır; cerrahi sınırdaki tümörün çevresel uzunluğu mm olarak ölçülür ya da fokal veya yaygın olarak belirtilir. Bazı yayınlarda pozitif cerrahi sınırın çevresel uzunluğu biyokimyasal rekürens için bağımsız prognostik risk faktörü olarak bulunmuştur bu nedenle ISUP 2011 PCS alanların uzunluğunun (mm olarak) ölçülerek raporda belirtilmesini

önermiştir (70-73). Ancak kanser spesifik mortaliteye etkisi kesin değildir (11). Bazı yayınlar PCS'lerden bir kısmının intraoperatif ya da patolojik spesimen örneklenirken çekilmeye bağlı meydana gelen doku travması nedeni ile olabileceğini belirtmektedirler (74).

ISUP 2011 pozitif cerrahi sınırların lokalizasyonun patoloji raporunda belirtilmesinin, cerraha geri dönüş sağlaması ve bazen cerrahi tekniğin modifikasyonunu kolaylaştırması, adjuvan tedaviyi yönlendirmede yardımcı olabileceğini belirtmiştir (70). Ayrıca PCS alanındaki gleason derecesi veya skorunun bağımsız rekürens belirteci olduğuna ilişkin yayınlar mevcuttur (75).

Birçok çalışma tümörün cerrahi sınıra uzaklığının prognostik değer ile ilişkisini değerlendirmiş ancak prognozu etkilemediğini göstermiştir (76).

5.9.TÜMÖR VOLÜM VE BOYUT DEĞERLENDİRİLMESİ

Radikal prostatektomi spesmenlerindeki tümör volümü; histolojik derece, patolojik evre, tümör gelişimi ile ilişkilidir (77). Ayrıca yapılan araştırmalar tümör volümünün sağkalım için bağımsız belirleyici faktör olduğunu göstermiştir (78). Bilgisayar destekli morfometrik saptama, 'uzunluk x en x kesit kalınlığı' hesabı (bazen en büyük odak alınarak), en büyük tümör nodülü boyutu, en büyük tümör nodülün uzunluğu, grid metodu, kanser alanının yüzdesinin görsel değerlendirilmesi gibi birçok hesaplama yöntemi mevcuttur (11). Dünya çapında kabul görmüş bir yaklaşım olmasa da, prostatektomi materyallerinde tümör hacmi ölçülmelidir. Tümör hacmi ölçümü; bilgisayarlı morfometrik ölçüm, genişlik ve kesit kalınlığının basit ölçümü (bazı patologlar en büyük fokusu ölçerken, bazıları agregat hacmini rapor etmektedir), en büyük tümör genişliği, nokta sayma yöntemi ve tümör yüzdesinin görsel ölçümü gibi yöntemlerle yapılmaktadır [3]. Prostat kanserinde tümör volüm ölçümü için standart bir yöntem bulunmamaktadır. ISUP (2011) konsensusuna göre en sık kullanılan method tümör volümünün yüzdesini görsel olarak belirlemek veya en büyük tümörün ölçülerini vermektir (11).Tümör hacmi sıklıkla radikal prostatektomi sonrasında nüks ile ilişkilidir.

İğne biyopsi materyallerinde en sık kullanılan yöntem ise her kordaki kanser yüzdesi ile toplam kanser yüzdesinin ölçümüdür. İğne biyopsilerde izlenen yaygın tümör kötü prognoz göstergesidir. Bununla birlikte iğne biyopsilerde tümör oranının düşük olması, örnekleme sınırlılıkları nedeniyle, iyi prognoz göstergesi değildir. Patolog için uygulanabilir olan ve mantıklı yaklaşım tümör içeren kor sayısını ve tümör uzunluğu veya yüzdesini rapor etmektir.

5.10.PERİNÖRAL İNVAZYON VE LENFOVASKÜLER İNVAZYONU

Perinöral invazyon ve lenfovasküler invazyon ISUP 2011 tarafından raporlanması önerilmiştir (77). Perinöral invazyon radikal prostatektomilerin çoğunda mevcut olup prostatektomi sonrası sağ kalımı etkilemez. Lenfovasküler boşluk invazyonu ise daha az sıklıkta görülmekte olup biyokimyasal rekürens için önemli prognostik belirteçtir. Cheng ve ark. çok değişkenli bir çalışmada, lenfovasküler invazyonun, PSA nüksü ya da kansere bağlı ölüm açısından bağımsız bir prognostik faktör olduğunu göstermişlerdir. Çok değişkenli çalışmalarda, lenfovasküler invazyon ve Gleason skorunun biyokimyasal nüks açısından bağımsız göstergeler olduğu saptanmıştır.

5.11.METASTATİK KANSER

Tarama teknikleri sayesinde lenf nodu metastazı oranları, erken evrede yakalanmıştır ve gittikçe azalmıştır. Viseral metastatik hastalıkların prognozu nodal metastaza göre daha kötü seyretmektedir (11).

5.12.DNA PLOİDİ

DNA ploidi analizi prostat karsinomlarında gittikçe önem kazanmıştır. Hatta DNA ploidi analizi histopatolojik incelemeye ek olarak önemli prediktif bulgular sağlamaktadır. Diploid tümörler, anöploid tümörlere göre çok daha iyi prognozludur. Fakat prostat karsinomu ploidi paterni sıklıkla heterojendir. DNA plöidi ve histolojik derece arasında önemli bir ilişki vardır. Flow sitometri yöntemi ile değerlendirilen DNA plöidi paterni; derece, hacim, evre, nüks ve uzak metastaz ile ilişkilidir. Düşük dereceli tümörlerin çoğu diploid, yüksek dereceliler ise non-diploiddir. Ancak istisnai durumlar görülebilmektedir (34).

5.13.NÖROENDOKRİN DEĞİŞİKLİKLER

Prostat karsinomlarında nöroendokrin diferansiyasyon, az diferansiyasyon ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur. Bununla birlikte nöroendokrin diferansiyasyon derecesi ile tümör progresyonu arasında ilişki olduğu iddia edilmektedir (9).

5.14.MİKRODAMAR DENSİTESİ

Tümör boyutu arttıkça oksijen ve esansiyel elementlerin sınırlı difüzyon kapasitesi nedeniyle, tümör yeni damarlara ihtiyaç duymaktadır. Kan damarları normalde tipik olarak düzenli bir dağılım gösterir fakat tümör içerisinde damarlar disorganize olabilir. Çoğu çalışmada mikrodamar dansitesinin Gleason skoru ve patolojik evre ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (66).

5.15.PROLİFERASYON İNDEKSİ

Prostat karsinomlarında proliferasyon indeksi, Gleason skoru ile birlikte önemli bir prognostik faktördür (66). Prostat karsinomunda Ki-67 indeksi; lenf nodu metastazını gösteren veya organa sınırlı olgularda, tümöre bağlı mortalite ile ilişkili bulunmuştur.

5.16.P53 EKSPRESYONU

Bazı ileri evre prostat karsinomlarında p53 tümör supresör gen mutasyonu saptanmıştır. Bu bulgunun evre ve dereceden bağımsız bir faktör olduğu düşünülmektedir (66).

6.YÜKSEK RİSKLİ LOKALİZE PROSTAT KANSERLERİNDE TEDAVİ

Günümüzde yüksek riskli Prostat kanseri vakalarında uygulanması gereken optimal tedavi planı hakkında görüş birliğine varılamamıştır. Yüksek riskli Prostat kanseri hastaları PSA nüksü, sekonder tedavi ihtiyacı, metastaz riski ve Prostat

kanserine bağılı ölüm açısından artmış risk taşımaktadırlar. Hastalara uygulanacak tedavi kararının alınması sürecinde ürologlar, radyasyon onkologları, medikal onkologlar radyologlar ve patoloğlardan oluşan bir multidisipliner ekip tarafından tedavi planının olası fayda ve zararları tartışıldıktan sonra bu bilgiler hasta ile de paylaşılarak tedavi yöntemine karar verilmesi en uygun yaklaşımdır.

Prostat kanseri tedavisinin tarihi gelişim sürecine bakıldığında; özellikle lokal ileri evredeki yüksek riskli prostat kanseri vakalarında cerrahi sınır pozitifliği, yetersiz tedavi ve cerrahinin yol açabileceği potansiyel morbiditeler endişesiyle tedavide ilk tercih olarak adjuvan androjen deprivasyon tedavisi (ADT) ve/veya radyoterapinin(RT) tercih edildiği görülebilir (117). Yapılan çalışmalar, RT ve ADT kombinasyonuna göre tek başına ADT ve tek başına RT'nin daha başarısız olduğunu ortaya koymuştur (118, 119). Böylece yüksek riskli prostat adenokarsinomlarında tedavi planı yapılırken hem lokal definitif tedavi hem de sistemik tedavilerin bir arada kullanıldığı multimodal tedavi yaklaşımı gündeme gelmiştir.

6.1.RADİKAL PROSTATEKTOMİ VE LENF NODU DİSEKSİYONU

Radikal Prostatektomi prostat kanseri için uygulanan ilk tedavi yöntemidir. Radikal prostatektomide cerrahın amacı ilk olarak kanserin kontrolü ancak bunun yanı sıra idrar kontinansının ve cinsel fonksiyonun korunmasıdır. Radikal perineal prostatektomi ilk olarak 1904'de Hugh Hamptom Young tarafından yapılmıştır ve radikal retropubik yaklaşım ilk olarak 1945'de Millin tarafından tanımlanmıştır. 100 yılı aşkın zamandır halen tedavide altın standarttır. Radikal Prostatektomi üretra ve mesane arasındaki tüm prostat dokusunun ve seminal vezikülleri içeren çevre dokunun negatif marjin bırakılacak şekilde rezeksiyonunu ifade eder. Prosedüre bilateral pelvik lenf nodu diseksiyonu da eşlik edebilir. Radikal prostatektomi genellikle en az 10 yıllık yaşam beklentisi olan hastalara önerilmektedir. Radikal prostatektomi ile tedavi edilen T1-T2 prostat kanserli hastalarda 5 yıl için yaklaşık %80, 10 yıl için ise yaklaşık %70 oranında biyokimyasal nüksüz takip oranları bildirilmektedir. Lokal evre prostat kanserinde radikal prostatektominin hem toplam sağkalıma hem kanser spesifik sağkalıma katkısı kanıtlanmıştır. Yüksek riskli Prostat kanseri hastalarında

öngörülen Lenf nodu metastaz riski %15-40 civarında olduğu için Radikal prostatektomi uygulanan hastalarda rutin olarak genişletilmiş lenf nodu diseksiyonu uygulanması önerilmektedir. Genişletilmiş lenf nodu diseksiyonu için tarif edilen sınırlar; eksternal iliak arter ve venin üzerindeki lenf nodları, obturator fossada kaudalde obturator sinire kadar yer alan lenf nodları ve internal iliak arterin medialinde ve lateralinde kalan lenf nodları olarak tarif edilmektedir.

6.2.RADYOTERAPİ

Radyoterapinin lokalize prostat kanserinin tedavisinde çeşitli avantajları vardır. Yapılan çalışmalarda radikal radyoterapi ile cerrahide elde edilen sonuçlara yakın sonuçlar elde edildiği ancak hastalıksız yaşamın cerrahi tedavi alan hastalarda daha iyi olduğuna dair kanıtlar vardır. Ancak cerrahi tedavi ile radyoterapinin sonuçlarını doğru bir şekilde karşılaştırmak hemen hemen olanaksızdır. Bunun temel sebebi cerrahi tedavi uygulanan hastaların patolojik evrelendirmeleri yapılmışken, radyoterapi uygulanan hastaların gerçek patolojik evrelerinin bilinmeyiştir.

6.3.HORMONAL TEDAVİ - ANDROJEN DEPRİVASYON TEDAVİSİ (ADT)

Androjen deprivasyonu tedavisi testislerden salınan androjenleri baskılanması ya da androjenlerin reseptör seviyesinde inhibe edilmesi ile yapılabilir. Her iki yöntemin bir arada kullanılması ise maksimum androjen blokajı olarak isimlendirilir. Eskiden yüksek riskli Prostat karsinomlarında, ADT tek başına bir tedavi girişimi olarak da düşünülmüştür. Ancak tek başına ADT tedavisinin sonuçları birçok çalışmada ADT ile Radikal prostatektomi veya RT kombinasyonuna karşı başarısız bulunmuş olup, yüksek riskli hastalarda sistemik ADT tedavisine ek olarak lokal hastalığın tedavisinin de yapılması gerektiği net bir şekilde anlaşılmıştır. Günümüzde Prostat karsinomların tedavisinde radikal prostatektomi öncesi neo- adjuvan ADT kullanılmamaktadır. Adjuvan bir tedavi yöntemi olarak radikal prostatektomiye takiben ADT uygulanmasının biyokimyasal nüksüz ve progresyonsuz sağkalımı arttırdığı gösterilmiştir.

6.4.NEO-ADJUVAN KEMOTERAPİ (NAKT)

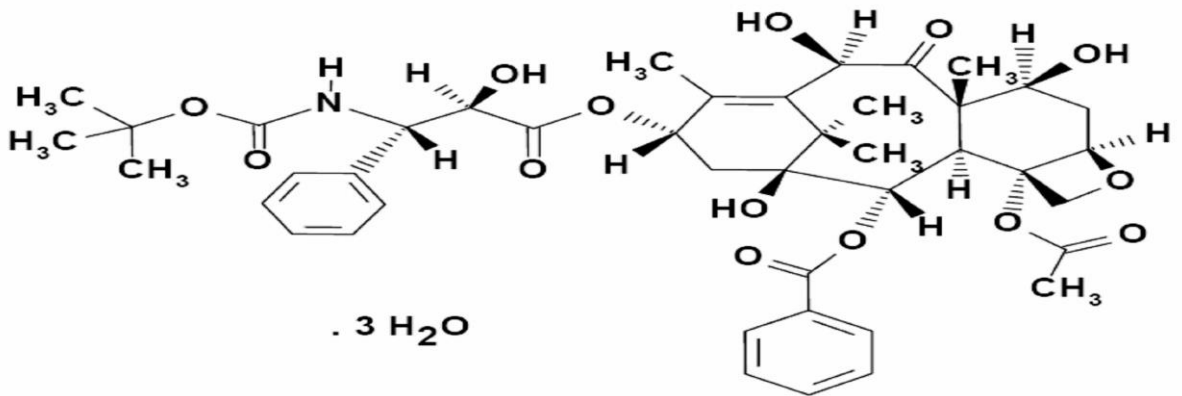
Yüksek riskli Prostat karsinomu vakalarında uygulanan multimodal tedavi yaklaşımlarından birisi de adjuvan veya neo-adjuvan kemoterapi (KT) uygulanmasıdır. Yüksek riskli prostat adenokarsinomu hastalarında erken dönemde KT uygulanması, metastatik kastrasyona rezistan prostat adenokarsinomu hastalarında uygulanan KT'nin ortaya koyduğu başarılı sonuçlar ile gündeme gelmiştir. Prostat karsinomu tedavisinde NAKT üzerine yapılan çalışmalar, NAKT'nin biyokimyasal, patolojik ve radyolojik parametreler üzerinde etkili olduğunu göstermektedir ancak klinik etkilerinin ortaya konulabilmesi için yeni faz III çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6.5.METASTATİK PROSTAT KANSERİNİN TEDAVİSİ

Günümüzde tarama programlarının artmasıyla, tanı anında metastatik hastalık saptanması oranları azalmış olsa da, lokal tedavi uygulanan hastaların bir kısmında izlemde metastatik hastalık gelişebilmektedir (79). Metastatik hastalık varlığında, genellikle ilk tedavi olan androjen yoksunluk tedavisine başlangıç cevabı oldukça yüksek (>%90) olsa da, tedaviye duyarlılığın süresi değişmektedir (80-81). Bu sürenin sonunda prostat kanserinin son aşaması olarak kabul edilen ve hastalığın androjen yoksunluk tedavisine altında kemiklere ve diğer organlara ilerlediği evre olan kastrasyona dirençli prostat kanseri (KDPK) tedavisinde, son dönemde bir çok yeni hormonal ve kemoterapi ajanları geliştirilmiş ve sunulan her yeni yaklaşımla genel sağkalımda bir kaç aylık artışlar bildirilmiştir (79). Dosetaksel kemoterapisinin metastatik KDPK hastalarında genel sağkalımı arttırdığına dair çalışma sonuçlarının 2004 yılında bildirilmesi sonrasında bu tedavi yaklaşımı standart tedavi halini almıştır (82). Son yıllarda, yeni tanı almış metastatik prostat kanseri hastalarında başlangıç tedavisi olarak androjen yoksunluk tedavisi ile farklı kemoterapi kombinasyonlarının uygulanmasına dair çalışmalar yayınlanmıştır (83-85).

6.6.DOSETAKSEL

Dosetaksel Avrupa porsuk ağacı *Taxus Baccata* nın yapraklarından elde edilen taxan ailesine ait yarı sentetik bir ilaçtır. Molekül ağırlığı 807.879 g/mol dür. Etki mekanizması, hücre içindeki mikrotubulleri stabilize eder ve tubulin dimerlerden mikrotubulus oluşumunu artırır. Hücrede tubulin / mikrotubul dengesi bozulur ve nonfonksiyone tübüller lehine denge oranı değişir. Hücre içinde biriken polimerize mikrotubuller DNA, RNA ve protein sentezini bozarak G2/M fazında maksimum sitotoksik etkisini gösterir. Bcl 2 ve Bcl-x gen ekspresyonunun etkilerini tersine çevirdiği saptanmıştır. Dosetakselin hücre içinde birikimiyle polimerize mikrotubullerin ayrılamadığına inanılmaktadır. Proliferasyon aşamasındaki kanser hücresi, siklusun G2/M fazında arrest olur ve apoptoza yönelir (86).



Şekil 5: Dosetakselin kimyasal yapısı (86)

Dosetaksel üç farklı şekilde doğrudan veya dolaylı olacak şekilde apoptoza neden olur. Dosetakselin temel terapötik etkisi mikrotübül dinamiklerinin baskılanmasıdır (birleştirme ve ayırma). Diğer yöntemler ise hücre siklusunun bozulması ve Bcl-2' nin fosforilasyonudur. Birincisi, DTX hücrelerdeki mitotik ve interfaz hücresel fonksiyon için zorunluluk olan, mikrotübüler ağı bozulmasında rol alan antineoplastik bir ajandır. Boş tübülünleri bağlayarak tübülünlerin stabil mikrotübüller halinde birleşmesini destekler ve eş zamanlı olarak ayrılmalarını inhibe eder. Bu aktivite normal fonksiyonu olmayan mikrotübül yığınları

üretimine ve mikrotübüllerin stabilizasyonuna sebep olur, bu durum hücrelerde mitozun inhibisyonu ile sonuçlanır. İkincisi, DTX hücrelerin yaşam döngüsündeki 3 fazı engelleyerek çalıştığı düşünülmektedir. Hücre döngüsünü S (synthesis) fazı, G2 (growth 2) fazı ve M (mitotic) faz aşamalarında bloke etmektedir. S fazında DNA eşlenmesi olmakta, G2 fazında büyümekte ve M fazında bölünmek için hazır hale gelmektedir. Hücre döngüsünün bu üç fazının engellenmesi ile DTX hücrelerin bir sonraki faza ilerlemesini olanaksız hale getirmekte, böylelikle apoptozisi tetiklemektedir. DTX'in üçüncü yolu ise Bcl-2' nin fosforilasyonunu indükleyerek apoptozisi başlatmasıdır. Kanser hücrelerinde Bcl-2'nin yüksek ekspresyonu, apoptozisi önlemektedir. DTX Bcl-2 fosforilasyonunu sağlayarak inaktive eder ve hücre ölümünün gerçekleşmesini sağlar.

6.7.GÜNCEL TEDAVİLER

Prostat kanserli olgular için bazıları tek ajandan oluşan, bazıları ise kemoterapi ile kombine edilen araştırma aşamasında bir çok tedavi şeması vardır. Bunları aşağıdaki şekilde özetleyebiliriz.

- 1) Dosetakselin konvansiyonel kemoterapotiklerle ve değişik biyolojik ajanlarla kombinasyonu.
- 2) Oral aktif platin bileşikleri (satraplatin) ve epotilonlar (ixebeplon).
- 3) Diferansiyasyon sağlayan ajanlar veya antiproliferatif kromatin remodeling terapiler (vitamin D, fenilbutirat, suberoylanilid hidroksamik asid, histon deasetilaz inhibitörleri ve nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar).
- 4) Tümör ilişkili antijenlere karşı geliştirilen monoklonal antikorlar, otolog dendritik hücre aşıları, tümör hücresi iminojenisitesini arttırmak için gen transferi yaklaşımları ve T hücresi inhibitör molekülerin antikor ilişkili blokajını kapsayan immün bazlı terapiler.
- 5) Apoptozisi aktive etmek için adenovirüs ilişkili BAX overekspresyonunu kapsayan gen terapi yaklaşımları.

- 6) Sinyal ileti yolakları ve büyüme faktörlerine karşı geliştirilen yeni hedefe yönelik tedaviler (endotelin reseptör antagonistleri, epidermal growth faktör reseptörüne karşı geliştirilen monoklonal antikorlar, antisens oligonükleotitler, reseptör trozin kinaz inhibitörleri).
- 7) Matriks metalloproteinaz inhibitörleri ve integrin inhibitörleri.
- 8) Yeni hormonal terapiler.

7.NOTCH SİNYAL YOLAĞI

Kansere neden olan çok sayıda gen tanımlanmıştır ve çeşitli mekanizmaların bu genler aracılığıyla insan kanserlerinin oluşumuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar henüz tamamlanmamıştır fakat onkogenlerin büyük çoğunluğunun bu yolaklarda kanseri indükleyici etkisi olduğu belirlenmiştir. Bu yolaklar aynı zamanda normal hücrelerinde çoğalmasını, farklılaşmasını, yaşamını ve fonksiyonunu düzenleyen sistemlerdir. Kanser hücreleri kontrolsüz çoğalma, farklılaşmanın bloke edilmesi, azalmış apoptoz, değişmiş doku yapısı gibi karakteristik özelliklere sahiptir ve kanser hücrelerinde bu yolakların aktivitesi artmış veya azalmıştır. Kanser ilişkili bir yolak kanserin gelişimi için genetik veya epigenetik mutasyonla aktivasyonu veya inaktivasyonu gerekli olan hücresel düzenleme sistemidir. Tipik olarak kanser yolakları bir kanser tipine veya farklı kanser tiplerine sahip bireylerde aynı regülatör sistemlerin farklı bileşenlerindeki değişimlerle ortaya çıkabilirler (87).

Bir çok kanser yolağı (MAPK yolağı, TP53 yolağı ,RB1 yolağı, PI3K yolağı, PKC yolağı, STAT yolağı) tanımlanmıştır. Son çalışmalarda WNT ve Hedhehog yanıt yolağı ve Notch regülatör sistemlerinden bahsedilmiştir. (88). Notch sinyal yolağı gelişim döneminde hücre kaderinin belirlenmesinde rol oynar. Notch sinyal yolağı organ oluşumunu ve morfogenezini etkileyerek proliferasyonda, farklılaşmada ve apoptozda düzenleyici rol oynar (89). Notch aktivitesi organ oluşumu ve morfogenezde rol oynayarak farklılaşma, çoğalma ve apoptozu

etkiler. Kanser hücrelerinde Notch aktivasyonunun anormal hücre çoğalmasına neden olduğu görülmüştür. Notch ile hücre çoğalması arasında önemli bir bağlantı olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir.

Notch yolağına ilk olarak *Drosophila melanogaster*'de tanımlanmıştır. Kanserde etkinliği bilinen TGF β ve STAT yolakları gibi Notch yolağı da farklı hücre tiplerinde fonksiyon kaybı ya da aşırı aktivite gibi farklı özellikler göstererek kanser gelişimine neden olmaktadır. Notch yolağının karakteristik fonksiyonu iki yönlü hücre akıbeti kararlarının regülasyonudur. Örnek olarak bir doku öncülü olarak mı kalacağı veya farklılaşmaya mı gideceği kararlarını da içerir. Notch sinyalleşmesi aynı zamanda farklılaşmış bir intestinal hücrenin bir enterosit mi, goblet hücresi mi olacağı veya lenfosit hattında T hücre veya B hücresi alt hatlarına mı geçeceği ile ilgili kararları da içerir (88).

Memelilerde dört Notch geni (Notch 1, 2, 3, 4) bulunur. Notch reseptörünün ligandları Delta benzeri liganlar (DLL1, DLL3 ve DLL4) ve Serrate Benzeri liganlar (JAG1 ve JAG2) olmak üzere iki gruba ayrılır. Hücre hücre etkileşimlerinde bir hücrede Notch reseptörü diğer hücrede ise Notch ligandı bulunur (90).

Notch geni 300 kd'luk tek geçişli transmembran reseptörü kodlar. Notch reseptörü hücre içi ve hücre dışı kısımlar olmak üzere iki kısımdan oluşur. Büyük ekstraselüler bölge 36 ardışık EGF (Epidermal Growth Factor) benzeri tekrar ve 3 sistein zengin LIN 12 tekrarı bulundurur. EGF tekrarları Notch reseptörünün ligandlarla etkileşimini sağlar. Notch reseptörünün hücre içi kısmına Notch hücre içi bölge (Notch Intraselüler Domain: NICD) de denir. Hücre içi bölgede ise; 6 ardışık ankirin tekrarı, RAM 23 bölgesi, bir glutamin zengin bölge (opa) ve prolin, glutamat, serin ve treonin zengin PEST bölgesi bulunur. RAM 23 domaini ve ankirin tekrarları Notch reseptörünün nükleustaki transkripsiyon faktörleri ile bağlantısını güçlendirir (91).

Notch reseptörü ve ligandları arasındaki etkileşim farklılaşma, çoğalma ve apoptoz gibi hücre kaderinin kararlarını yöneten bir sinyal kaskadını başlatır (92). Aktivasyonu sırasında Notch reseptörü en azından 3 kere ayrılma işlemine maruz

kalır. İlk olarak Notch reseptörünün biyosentez işleminin bir parçası olarak, golgi içinde furin-benzeri proteazlar Notch proteinlerini heterodimerlere dönüştürür. Bu ayrılma 'S1 ayrılması' olarak adlandırılır ve aktif hücre içi bölgenin (NICD) ligand indüklü salınımı ile ilgili değildir, fakat Notch reseptörünün hücre yüzey ifadesi için gereklidir. Notch reseptörü sentez işleminden sonra olgunlaşarak hücre zarına yerleşir. Bir transmembran protein olan Notch reseptörü hücre içi bölge, hücre dışı bölge ve zarı kateden bölge olmak üzere 3 kısımdan oluşur. Notch reseptörü ligandı ile hücre dışı bölge aracılığıyla bağlantı kurar. Bu bağlantı Notch reseptörünün hücre dışı bölgesinde yer alan EGF benzeri tekrarlarla sağlanır. Ayrıca ligandlar da reseptörlerle DSL bölgeleri aracılığıyla bağlantı kurarlar. Ligand reseptör bağlantısı gerçekleştiği zaman ikinci ayrılma gerçekleşir. Bu ayrılma 'S2 ayrılması' olarak adlandırılır ve Notch'un hücre dışı bölgesi serbest kalır. Bu proteolitik ayrılma işlemi hücre zarında bulunan ADAM17 metalloproteazın katkısıyla olur. 'S3 ayrılması' olarak adlandırılan üçüncü ayrılma hemen sonrasında gerçekleşir (93). Transkripsiyonel olarak aktif olan hücre içi kısım (NICD) zardan ayrılır ve böylece aktive Notch oluşur. Son ayrılma da proteolitik bir işlemdir ve bu işlemde yine zarıya yer alan presenilin ve nicastrini bünyesinde bulunduran Gamma sekretaz kompleksi sorumludur. Gamma sekretaz Notch'un karboksil ucunu (NICD) keser ve NICD sitoplazma içinde serbest kalır. Aktive Notch bundan sonra bir taşıyıcı protein aracılığıyla nükleusa geçer (94). NICD'nin nükleustaki metabolizması E3 ubiquitin ligazlar ile ubiquitinasyon ve fosforilasyon ile kontrol edilir. Fosforilasyona maruz kalan NICD aktif haldedir. NICD ubiquitinlenerek yıkıma uğrarsa hücre eski haline gelir ve Notch sinyalinin bir sonraki turu için hazırlanır (95).

Apoptoz, programlı hücre ölümü olarak adlandırılır ve tüm çok hücreli organizmalarda gelişim sırasında düzgün organogenezi yöneten ve doku homeostazını sağlayan önemli bir işlemdir. Örneğin; uzuvların gelişimi sırasında bağımsız parmakların oluşumu için fazladan hücreleri seçici olarak yok eder. Ayrıca immün sistemin olgunlaşması sırasında görevini yitirmiş T hücrelerinin yıkımından da sorumludur. Yine apoptoz hücrelere geri dönüşümsüz zararlar veren iyonize radyasyon gibi dış etkilere karşı hücresel savunma mekanizması olarak görev yapar (96). Notch sinyal yolağı hem embriyonik gelişimde hem de

organ homeostazında hücre kaderinin belirlenmesinde önemli rol oynar. Notch hücre döngüsü, gelişim ve sağ kalım ile ilgili yolları içeren geniş ağlar boyunca apoptozu düzenler (97). Notch sinyal yolağı ile p53 ve NF- κ B sinyal yolları arasındaki ilişki apoptozu çeşitli yollardan etkileyerek kanserleşme sürecine katkıda bulunabilir. Notch sinyal yolağı apoptoz ve kanser üzerindeki etkisinden dolayı p53 sinyal yolağı ile ilişkilidir. Aktive olmuş Notch'un ekspresyonu p53 ekspresyonu ile negatif olarak ilişkilidir (98). Notch sinyal yolağı çeşitli mekanizmalarla p53 ekspresyonunu ve aktivitesini baskılamaktadır. Aktive olmuş Notch bir tümör süpressör olarak görev yapan INK4a/ARF'nin ekspresyonunu baskılar, bu da daha fazla Mdm2'nin serbest kalmasına yol açar. Ortamda fazla miktarda bulunan Mdm2 p53'e bağlanarak onun degradasyonuna neden olur (98). Ayrıca Notch ilişkili bir transkripsiyon faktörü olan RBJK p53 promotörü ile bağlanarak p53'ün transkripsiyonunu engelleyebilir (99). Notch sinyal yolağı bu mekanizmalar aracılığıyla kanserde p53 fonksiyonlarını baskılar ve böylece kanserleşme sürecine katkıda bulunur (97). NF- κ B'nin en iyi bilinen fonksiyonu hücre sağ kalımını desteklemesi ve apoptozu inhibe etmesidir (100). Apoptoz üzerinde Notch sinyalinin etkisi; NF- κ B yolağında Notch'un regülasyonu ile olur. RBP-JK, NF- κ B yolağında promoter element olarak görev yapar ve NF- κ B prekürsör p100'ün transkripsiyonunu baskılar. Aktive Notch varlığında RBP-JK'nın promoter aktivitesi indüklenir ve bu da transkripsiyonun artmasına neden olur (101). RBP-JK ayrıca I κ B- α 'nın transkripsiyonunu baskılar ve NICD varlığında transkripsiyon benzer olarak tekrar aktive edilir (102). Notch NF- κ B'nin apoptozu inhibe etme fonksiyonuna NF- κ B aktivitesini artırarak dahil olur ve böylece kanserleşme sürecine katkıda bulunur.

8.POLYMERASE CHAIN REACTION TEKNİĞİNİN TEMEL PRENSİPLERİ

1980'li yıllarda Cetus firması araştırmacıları, Polymerase Chain Reaction tekniğini, genetik hastalıkların teşhisi için tanımlanmıştır. Tek ya da çift zincirli DNA molekülüne ilave olarak, iki oligonükleotid primer, dNTP

(deoksiribonükleozidtrifosfat), ısıya dayanıklı polimeraz enzimi ve buffer içerisindeki magnezyum iyonları kullanılarak yapılan bir yöntemdir (103) PCR yöntemi, hedef bir gen ya da DNA bölgesinin, uç bölgelerine bağlanan oligonükleotid primerler aracılığıyla bir dizi replikasyon geçirerek çoğaltılmasına (amplifikasyon) dayanır. (104). PCR için mutlaka saf DNA gerekli değildir. Bir döngü sonucunda başlangıçta “n” olan DNA zincir sayısı 2 n’e yükselir. Döngüler arka arkaya çok kez tekrarlanırken her bir döngünün ürünü, bir sonrakinde kalıp olarak kullanıldığı için her döngüde hedef DNA fragmentinin miktarı 2 katına çıkarak, kısa zamanda çok az miktardaki DNA’nın milyonlarca hatta milyarlarca kopyası elde edilmektedir. PCR tekniğinde, DNA’nın çift sarmal yapısını ayırmak için yüksek bir sıcaklık uygulanmakta ve ardından primerlerin kalıp DNA’ya bağlanması için sıcaklık 72°C civarına (polimeraz enziminin optimum aktivite gösterdiği sıcaklık) düşürülerek polimeraz enziminin ortamdaki dNTP’leri kullanarak primerleri uzatması sağlanmaktadır. Yeni DNA sentezinden sonra aynı primerler serbest kalarak tekrar kullanılabilir. Bu şekilde DNA’nın logaritmik olarak amplifikasyonu sağlanabilmektedir (104).

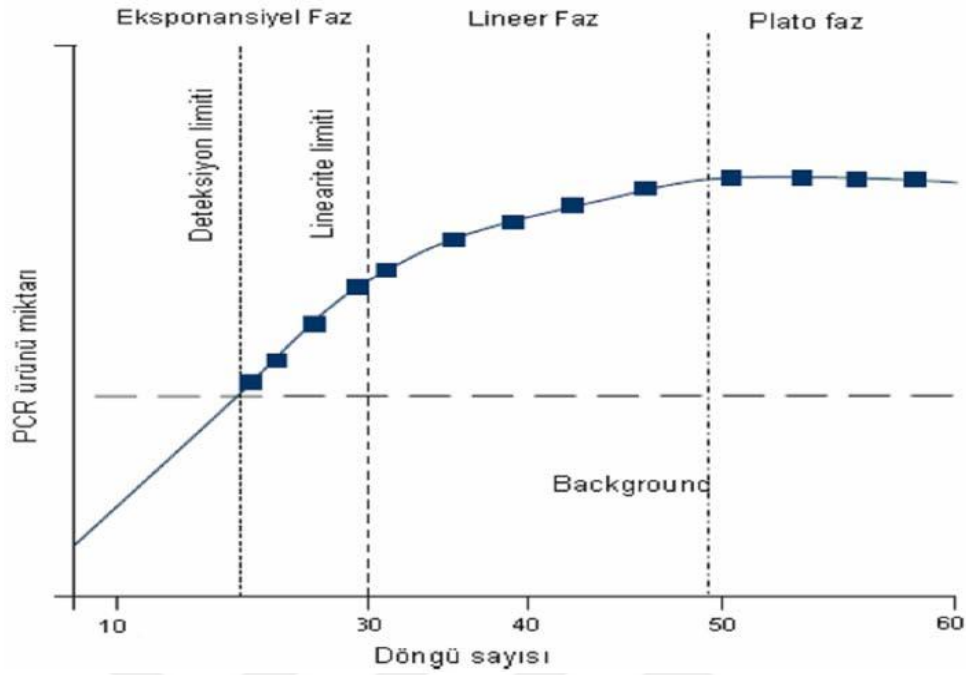
8.1.REAL TIME PCR

PCR reaksiyonlarında sıcaklık döngüleri sağlamak için kullanılan cihazların, hassas ölçüm aletleriyle birleştirilmesi ile real-time PCR olarak adlandırılan yeni bir yöntem bulunmuştur. Bu yöntem sayesinde DNA ve RNA örnekleri kalitatif ve kantitatif olarak kısa sürede analiz edilebilmekte ve çok sayıda örnek son derece az bir kontaminasyon riskiyle güvenle çalışılabilmektedir (105). Real-time PCR’da ürünlerin analizi, reaksiyon sırasında gerçekleştiği için, klasik PCR tekniğinde ihtiyaç duyulan agaroz jel elektroforezi, DNA bantlarının mor ötesi ışık altında görüntülenmesi gibi işlemlerin uygulanmasına gerek kalmamaktadır. Real-time PCR ürünlerinin kalitatif ve kantitatif analizlerinde, diziye özgün olmayan floresan boyalar ya da diziye özgün probalar kullanılmakta ve sonuçlar anında alınarak, tüm işlemler otomatik olarak devam etmektedir. “Real-time PCR”da oluşan ürün miktarı, reaksiyon boyunca oluşan ürün miktarıyla orantılı

olarak artan floresan boyanın verdiği sinyalin izlenmesiyle belirlenir. Reaksiyon süresince gelişen amplifikasyon ve buna bağlı olarak artan floresan, bilgisayar monitöründen takip edilebilir. Real time PCR yöntemi ile polimeraz zincir reaksiyonu boyunca, her amplifikasyon döngüsünde çoğalan DNA miktarı ile paralel olarak artış gösteren floresans sinyaller toplanmakta ve bu sinyaller her bir örnek için sayısal değerlere çevrilmektedir. Kalıp molekülün amplifikasyonunu, görünür hale getiren ve monitorize edebilen floresan isaretili prob ve boyaların kullanıldığı real-time PCR, değişik kaynaklarda “kinetik PCR”, “homojen PCR”, “kantitatif real-time PCR” gibi çeşitli adlarla da anılmaktadır.

8.2.REAL TIME PCR’IN TEMEL FAZLARI

Real Time PCR’da ürün miktarı arttıkça, oluşan sinyal miktarı da artmakta ve bu artış üssel olarak devam etmektedir. Daha sonra bu artış sona erer ve doygunluk seviyesine varır. Bu nedenle tipik bir real time PCR’da 3 fazdan söz edilir. Her bir döngüde ürün miktarının iki katına çıktığı faz “eksponansiyel faz”,reaksiyon komponentlerinin tükenmeye başladığı, reaksiyonun yavaşladığı ve ürünlerin degrade olmaya başladığı faz ise “linear faz” , reaksiyonun durduğu, daha fazla ürünün oluşmadığı ve uzun süre bu safhada kalındığında PCR ürünlerinin degrade olduğu faza ise “plato fazıdır (end point)” Real time PCR çalışmasında tüm örnekler için cevap kurveleri aynı aşamada doygunluk seviyesine gelir. Örneklerin cevap kurvelerini belli bir eşik floresans sinyal seviyesine ulaştırmak için gerekli amplifikasyon döngülerinin sayısı karşılaştırılarak farkları belirlenir. Eşik değere ulaşmak için gerekli döngü sayısı CT (threshold cycle) değeri olarak belirlenir. (103-104) Yani CT değeri ΔR_n ’de önemli bir artışın olduğu ilk siklus anlamına gelir.



Şekil 6: Real Time PCR’da cevap kurvesi (Anonim. Real-Time PCR Applications Critical Factors for Successful Real-Time. Qiagen PCR Hand Book).

ΔRn (normalize reporter sinyal) ise; $\Delta Rn = (Rn+) - (Rn-)$ formülü ile ifade edilir. Burada; $Rn+$; kalıp molekülü de içeren reaksiyona giren tüm komponentlerin floresan emisyonu, $Rn-$ ise; negatif kontrolün (pasif boya) ve reaksiyon girmeyen örneklerin floresan emisyonudur. ΔRn , $Rn+$ ve $Rn-$ arasındaki fark olup CT değerinin hesaplanmasında kullanılan temel değerdir (105). %100 efektif olduğu varsayılan A ve B örneklerindeki kalıp zincirin kopyalarının ilk sayıları arasındaki oran; $[No]A / [No]B = 2^{(CtB - CtA)}$ ’dır (103). Burada $[No]A$ ve $[No]B$, A ve B örneklerindeki kalıp molekülün başlangıç sayısıdır. CtA ve CtB ise bu örneklerle ait Ct değerlerine karşılık gelmektedir. Buna göre başlangıç molekül sayısı az olan örneğe ait sinyal, eşik sinyal seviyesine ulaşabilmesi için daha yüksek sayıda amplifikasyon döngüsüne ihtiyaç duyar, bu nedenle Ct değeri de daha büyüktür.

Eğer PCR mükemmel değilse PCR'ın etkinliği için şu eşitlik geçerlidir; $[No]A/[No]B = (1-E)^{(CtB - CtA)}$ 'dır. Burada "E", PCR reaksiyonun etkinliğini ifade eder.

Etkinlik = $[10^{(-1/egim)}]^{-1}$ formülü ile ifade edilen etkinlik PCR reaksiyonunun ve reaksiyon şartlarının ne kadar düzgün ayarlandığını ifade eden bir başlangıç kontrol parametresidir.

9.GEREÇ ve YÖNTEM

9.1.Olgu Seçimi

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2005-2017 yılları arasında tanı alan 80 olgu çalışma için seçildi. Formalin fiksasyonlu, parafine gömülü bloklardan elde edilen Hematoksilen Eozin (H&E) ile boyalı lamalar arşivden çıkarılıp, yeniden gözden geçirildi. İmmünohistokimya ve RT-PCR yöntemi için en uygun bloklar seçildi. Olguların anamnez, evre, tanı tarihleri, PSA değerleri, tedavi takip süreleri hastanemiz otomasyon sisteminden, hasta takip dosyalarından ve telefon aracılığı ile kendilerinden ve yakınlarından öğrenildi.

9.2.Kantitatif Gerçek Zamanlı RT-PCR Yöntemi:

Çalışma kapsamında; retrospektif olarak seçilmiş, prostat adenokarsinomlu 60 vaka ve benign prostat hiperplazi tanılı 20 vaka yer almaktadır. Vakalara ait; Hemotoksilen&Eosin boyalı preparatlarda tümör alanları belirlenmiştir. %80 ve daha fazla tümör alanı içeren bloklardan doku büyüklüğüne bağlı olarak. Parafin dokudan 10 µm'lik 3-5 adet (yaprak) ince kesit yapıldı. Kesitler steril kürdan yardımı ile 1.5 ml'lik DNase-RNase free eppendorf tüpüne konulup aşağıdaki işlemler yapıldı. Formalinle fikse olmuş parafine gömülü doku olması nedeniyle takipten kaynaklanan durumlardan veya küçük biopsi örneği olması nedeniyle olduğu düşünülen sebeplerden dolayı bazı örneklerden RNA elde edilememiştir.

Sonuç olarak; 47 Dosetaksi direnci olmayan ve 13 dosetaksi direnci olduğu bilinen prostat adenokarsinom tanılı vakada Notch-1 gen ekspresyon düzeyi araştırılmıştır. Kontrol grubu olarak ise; 20 benign prostat örneği çalışılmıştır. Normalizasyon için 18SrRNA geni kullanılmıştır.

9.3.Formalinle Fikse Olmuş Parafine Gömülü Dokulardan RNA İzolasyonu:

RNA izolasyonu için kit (Purelink FFPE RNA Isolation Kit; Kat No: K156002; Invitrogen) kullanılmıştır. İşlem basamakları aşağıdaki gibidir.

- 1- Doku büyüklüğüne bağlı olarak 10 µm kalınlığında, 3-8 kesit RNase içermeyen steril 1.5 ml'lik santrifüj tüpüne alınır.
- 2- Üzerine Melting Buffer eklenir ve 72°C de 10 dakika inkübe edilir.
- 3- Süre sonunda 20 µl Proteinaz K eklenir ve doku iyice paraçalanana kadar maksimum 3 saat olmak üzere 60 °C de inkübasyona bırakılır.
- 4- Süre sonunda, maksimum hızda 1 dakika santrifüj yapılır ve lizat ayrılır.
- 5- Parafinden ayrılan kısım temiz santrifüj tüpüne alınır.
- 6- Lizat üzerine, 300 µl Binding buffer ve 800 µl %100 Etanol eklenir. Vortekslenerek iyice karıştırılır.
- 7- Spin kolona 700 µl karışımdan eklenir ve 800xg de 1 dakika santrifüj yapılır.
- 8- Süpernatant atılır. Geri kalan karışım tekrar kolona aktarılır ve 800xg de 1 dakika tekrar santrifüj yapılır.
- 9- Süpernatant atılır. Kolona 500 µl Wash buffer eklenir. Maksimum hızda 1 dakika santrifüj yapılır. Bu işlem basamağı iki kez tekrarlanır.

10- Kolon temiz bir toplama tüpüne alınır ve tamamen alkol uzaklaşması için maksimum hızda 1 dakika santrifüj yapılır.

11- Kolon temiz santrifüj tüpüne alınır ve 50 µl RNAase içermeyen su eklenir.

12- Kolonlar, 1 dakika oda ısısında inkübe edilir.

13- Son olarak maksimum hızda 1 dakika santrifüj yapılarak RNA izolasyonu tamamlanır.

9.4.RNA' ların Spektrofotometrik Ölçümü:

Nanodrop kullanarak her bir örneğin RNA miktarı belirlenir. Tüm örnekler aynı konsantrasyonda olacak şekilde 25 ng/ml konsantrasyonda sulandırılır.

9.5.cDNA Dönüşümü:

cDNA dönüşümü için, High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kits (Appliedbiosystems) kullanılmıştır. İşlem basamakları aşağıdaki gibidir:

Kit içindeki solüsyonlar kullanılarak miks oluşturulur

10xRT Buffer	2.0 µl
25xdNTP Miks (100 mM)	0.8 µl
10x RT Random Primers	2.0 µl
MultiScribe Reverse Transcriptase	1.0 µl

9.6.İmmünohistokimya Yöntemi

Alınan kesitlere Notch-1 immunhistokimyasal boyası ile Daco otomatik boyama makinasında standart prosedür kullanılarak yapıldı. Notch-1 immunhistokimyasal boyamaları için aşağıdaki boyama protokolü uygulandı. Kesitler etüvde yaklaşık 55 °C'de bir gece bekletilerek parafin eritildi. Ertesi gün kesitler ksilen ile deparafinize edildi. Kesitler azalan alkol serilerinde rehidrate

edildi. Kesitler distile su ile yıkandı. Su banyosunda 95-98°C'de Ph 7 EDTA buffer solüsyonunda Notch-1 50 dk kaynatılarak ısı yardımıyla epitopun açığa çıkması sağlandı. Kesitler oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Daha sonra kesitler TRIS tampon solüsyonunda yıkandı.Yüzde üçlük hidrojen peroksit solüsyonunda 15 dk bekletilerek endojen peroksidaz aktivitesi blok edildi. Daha sonra kesitler Tris buffer solüsyonunda yıkandı.

Ultra V block damlatılıp 10 dk bekletilerek nonspesifik bağlanma reaksiyonları önlendi. Yıkama yapmadan lamaların üzerindeki solüsyonlar dökülerek; üzerine 1/50 dilüsyonda uygun primer antikor damlatıldı ve oda sıcaklığında 1 saat antikor inkübasyonu yapıldı ve antikorun bağlanması sağlandı. Daha sonra kesitler Tris buffer solüsyonunda yıkandı. Biotin damlatılarak oda sıcaklığında 10 dk inkübasyon sağlandı. Daha sonra kesitler Tris buffer solüsyonunda yıkandı. Streptavidin damlatılarak oda sıcaklığında 10 dk inkübasyon sağlandı. Daha sonra kesitler Tris buffer solüsyonunda 20 dk bekletildi. 1 ml substrata ve 1 damla kromojen eklenerek (1:1) diaminobenzidin (DAB) solüsyonu hazırlandı. Her kesite 100 mikrolitre hazırlanan DAB solüsyonundan damlatılarak oda sıcaklığında 7 dk bekletildi. Ardından yaya alınan kesitler çeşme suyunda yıkandı. Mayer's hematoksilende yaklaşık 1dk bekletilerek kontrast boyanma sağlandı. Ardından kesitler çeşme suyunda yıkandı.Yükselen alkol serilerinde her birinde 2 dk bekletilerek geçirilen kesitler daha sonra 10 dk ksilolde bekletildi. Son olarak ise lameller lamalar üzerine kapatıldı. Notch-1 için sitoplazmik boyanma pozitif kabul edilmiştir.

10.İSTATİKSEL ANALİZ

Verilerin normal dağılıma uygunluğu test edilmiş, normal dağılım gösteren sürekli değişkenlerin analizinde bağımsız gruplarda t testi ve tek yönlü varyans analizi, normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenlerin analizinde ise Mann whitney U veya Kruskall Wallis testi kullanılmıştır.

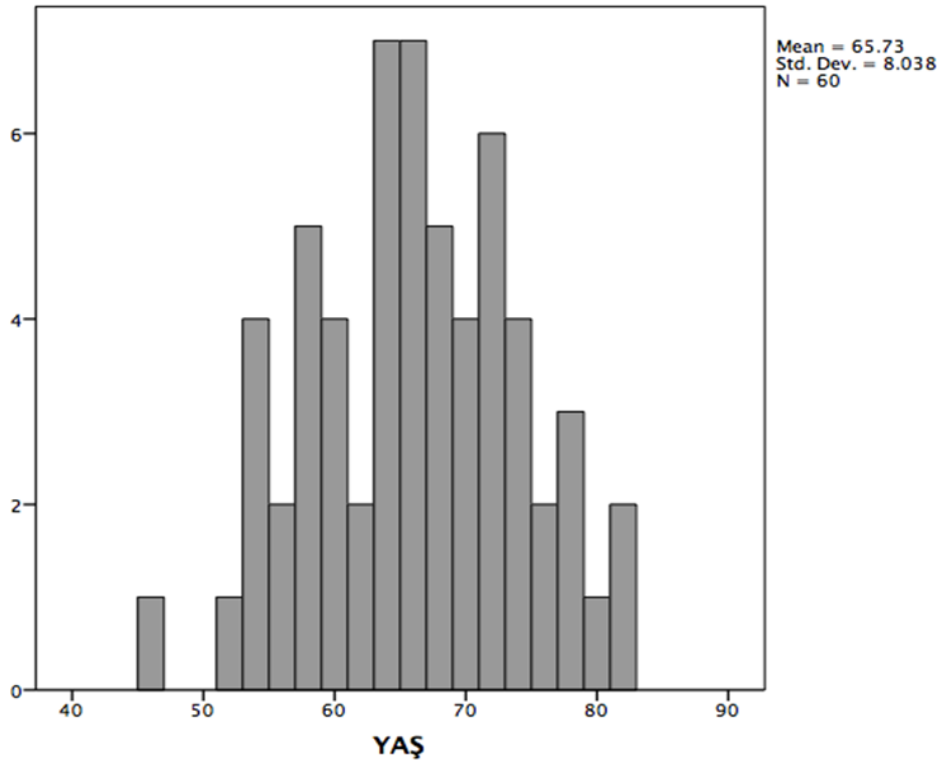
Kategorik değişkenlerin analizinde ise Ki-kare testi kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama±standart sapma,medyan,n ve yüzde olarak ifade edilmiştir. p değerinin

<0,05 olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Analizlerde SPSS 19.0 paket programı kullanılmıştır.

11.BULGULAR

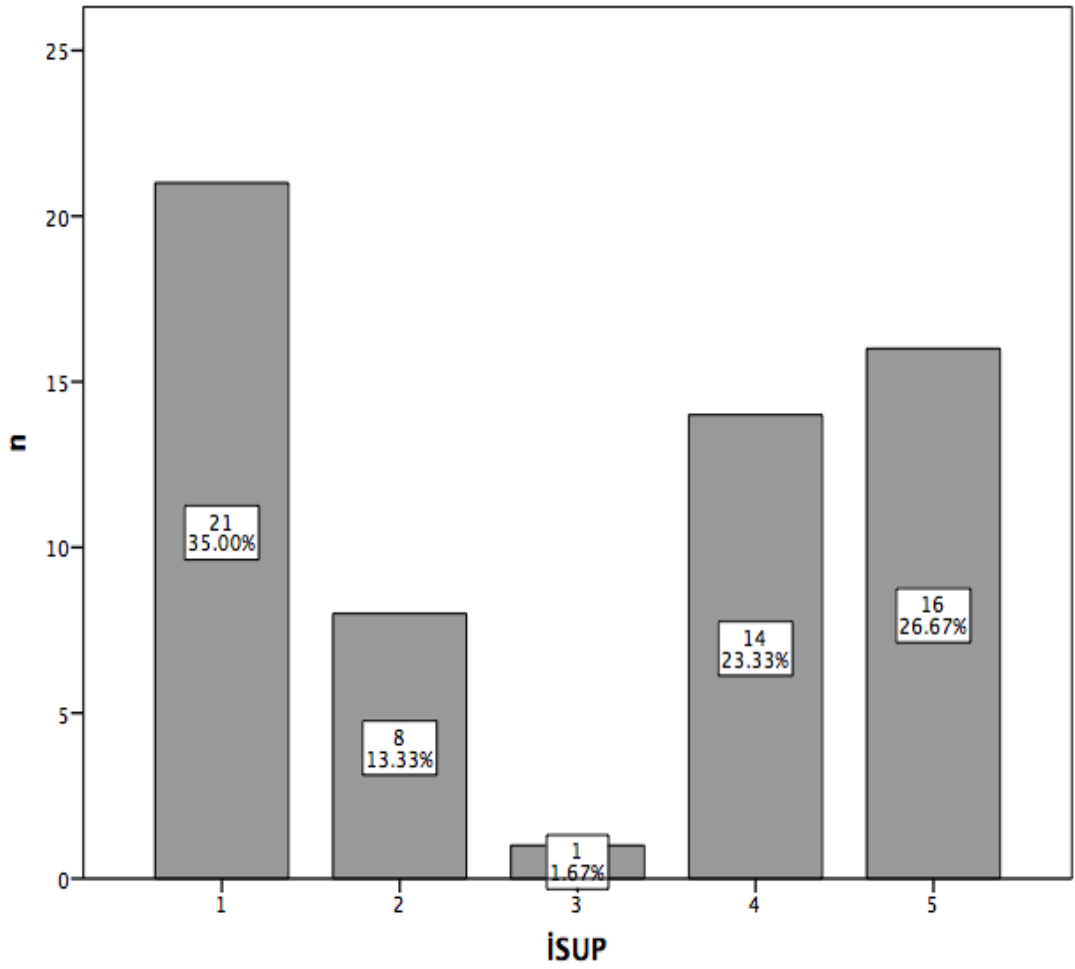
Bu çalışmaya Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2005-2017 yılları arasında tanı alan 80 olgu seçildi. Bu olgulardan 20'si benign prostat hiperplazisi ve 60'ı prostatik adenokarsinom tanılı hastadır. Prostat adenokarsinomu olan hastaların, 20 tanesi gleason skor 6, 10 tanesi gleason skor 7, 14 tanesi gleason skor 8, 8 tanesi gleason skor 9, 8 tanesi gleason skor 10'dur.

Değerlendirmeye aldığımız 80 olguda en genç hasta 46, en yaşlı hasta 81 olup ortalama yaş 65' dir. Hastaların yaş dağılımı Şekil-7'de gösterilmiştir. PSA değerleri en düşük 0,16 ng/ml, en yüksek 260 ng/ml'dir. Gleason skor verilen prostat adekarsinomu vakalarımızın en düşük skoru 6, en yüksek skoru 10'dur.



Şekil-7: Prostat karsinomu olan hastalarımızın yaş dağılımları

Hastalarımızın ISUP skor dağılımları ise 21 hasta ISUP-1, 8 hasta ISUP-2, 1 hasta ISUP-3, 14 hasta ISUP-4 ve 16 hasta ISUP-5 olarak skorklanmışır (Şekil-8). PSA değeri 0-4 ng/ml arası düşük, 4-10ng/ml arası orta, 10ng/ml ve üzeri yüksek değerler olarak kabul edildi. Prostat kansinomu olan vakalarımızın 19 tanesi 14 kadarn biyopsi, 16 tanesi radikal prostatektomi, 11 tanesi TUR materyali, 10 tanesi 10 kadran biyopsi materyali, 3 tanesi 8 kadran biyopsi materyali ve 1 tanesi ise 7 kadran biyopsi materyalidir.

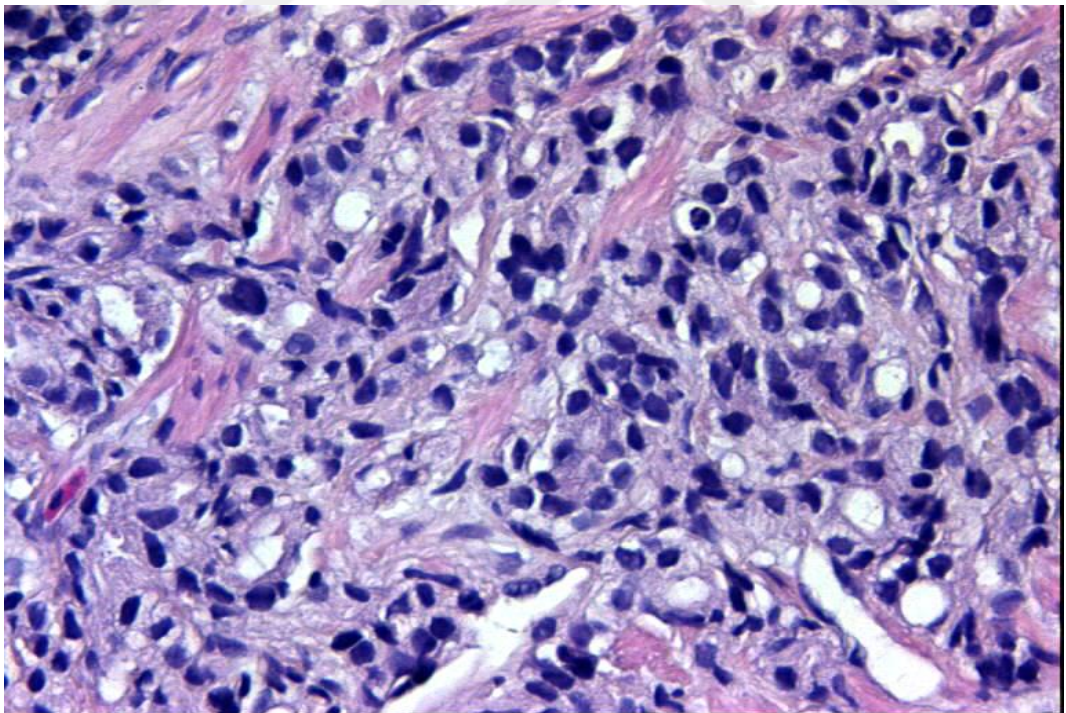
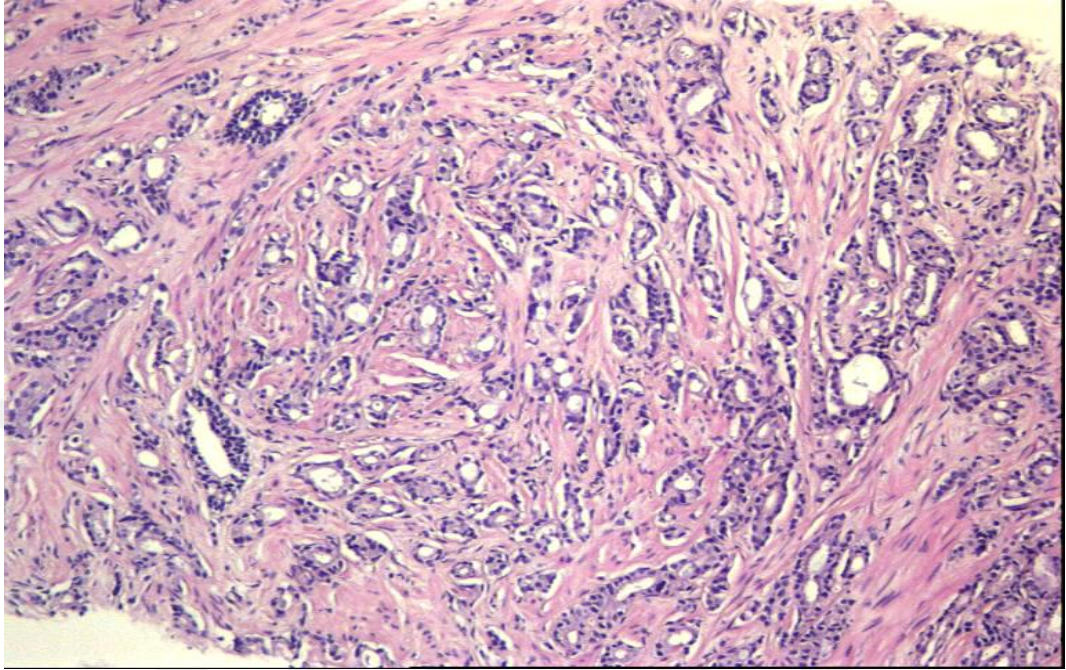


Şekil-8:Prostat adenokarsinomu hastalarımızın ISUP dağılımları

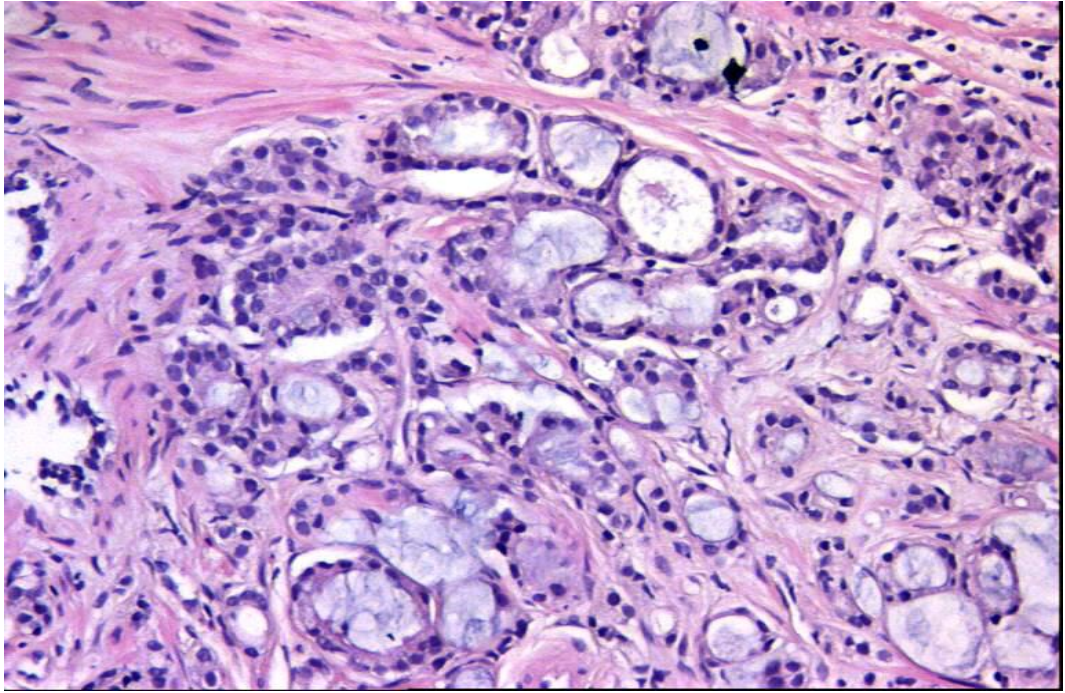
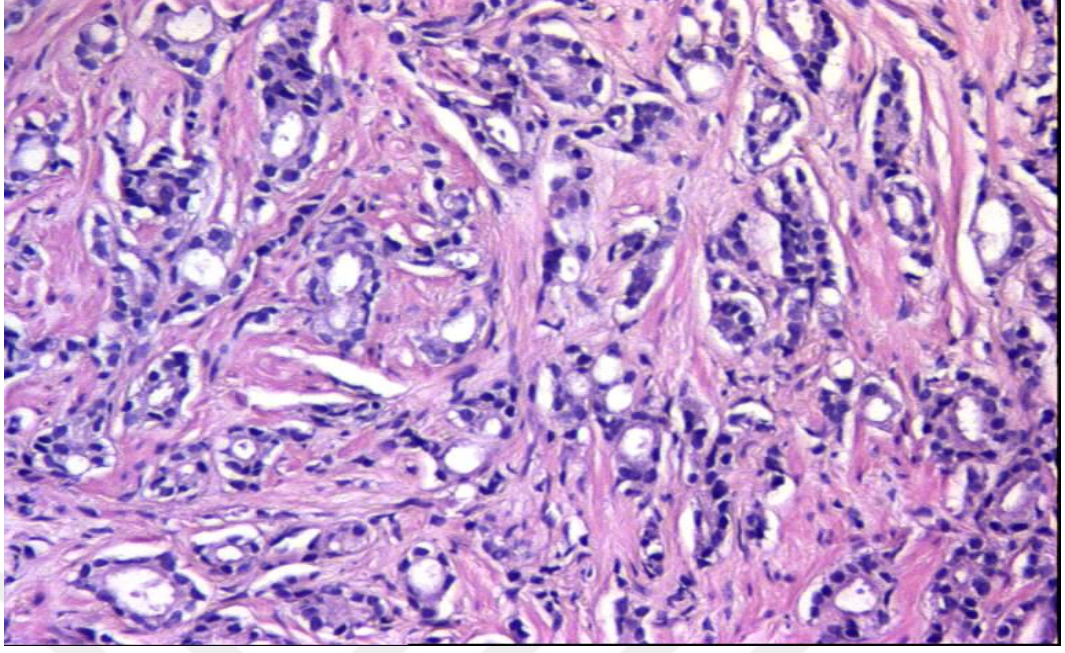
60 adet prostat karsinomu olan hastamızın 13 tanesi dosetaksel dirençli olan hastalar 47'si ise dosetaksel direnci olmayan hastalardır. RT-PCR yöntemi ile 60 hastamızın 17'sinde Notch-1 gen ekspresyonu saptanmıştır. İmmünohistokimyasal olarak, RT-PCR sonuçları ile uyumlu olarak 60 hastamızın 17'sinde soluk sitoplazmik immünreaksiyon görülmüştür (Şekil-9). 13 tane dosetaksel dirençli gelişen hastamızın 6'sında; 47 tane dosetaksel direnci olmayan hastamızın 11 tanesinde Notch-1 gen ekspresyonu saptanmıştır. Fakat bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo-4).

			NOTCH		Total
			Anlamsız	Anlamlı	
DTX KULLANIMI	HAYIR	Count	36	11	47
		% within NOTCH	83,7%	64,7%	78,3%
	EVET	Count	7	6	13
		% within NOTCH	16,3%	35,3%	21,7%
Total		Count	43	17	60
		% within NOTCH	100,0%	100,0%	100,0%

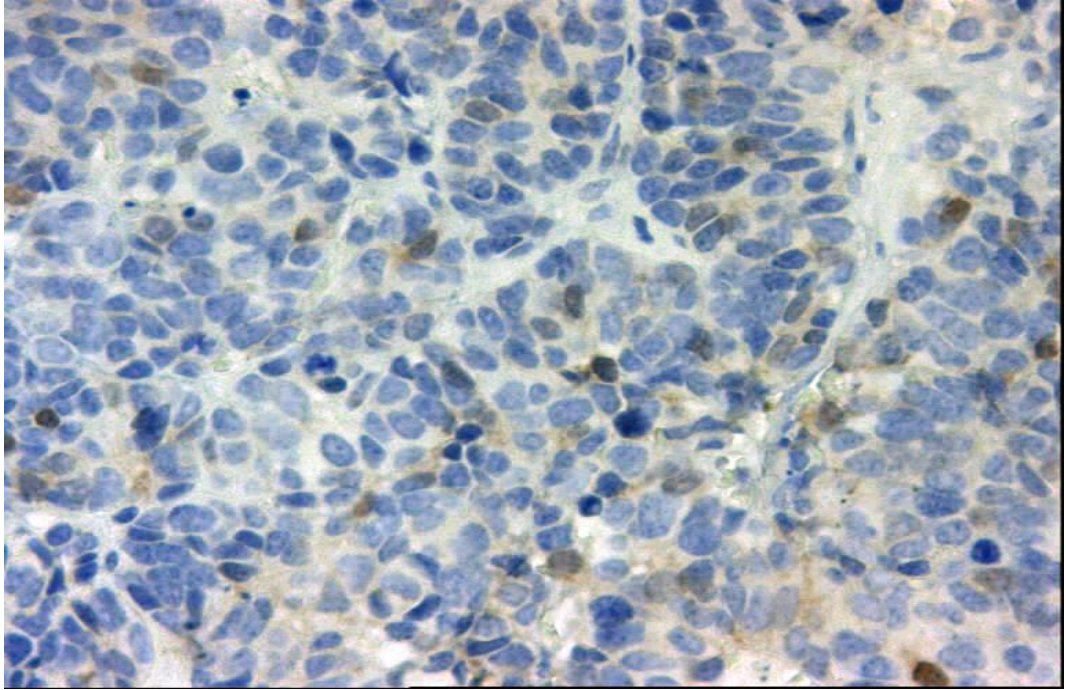
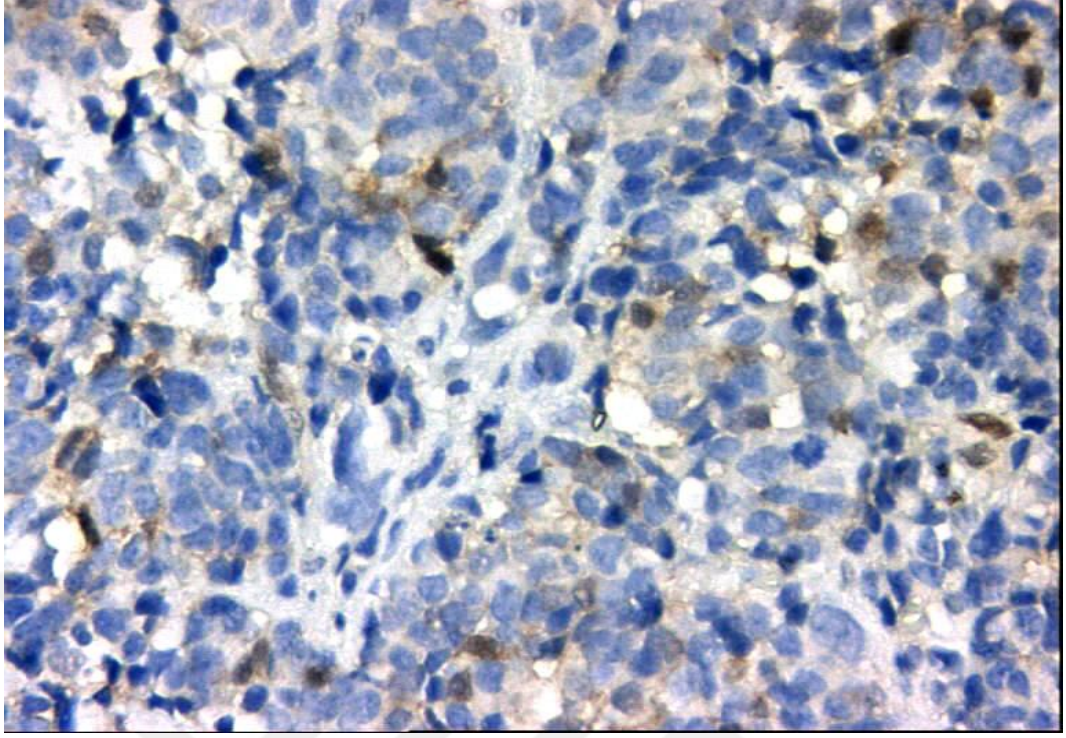
Tablo-4: Dosetaksel direnci olan ve olmayan hastalarımızın Notch-1 ekspresyonu



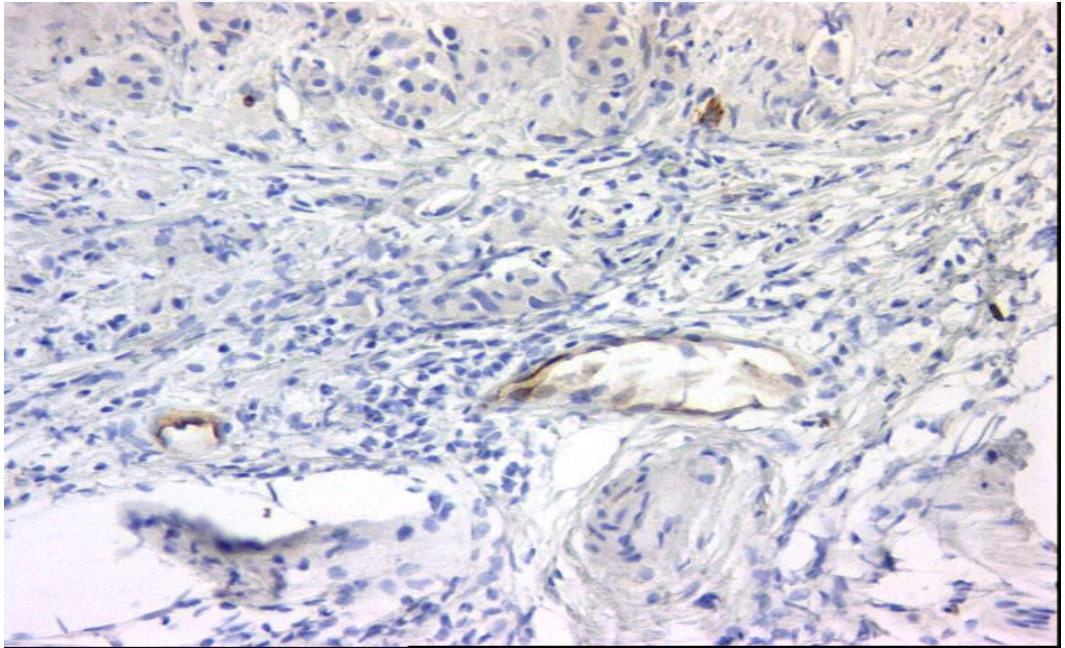
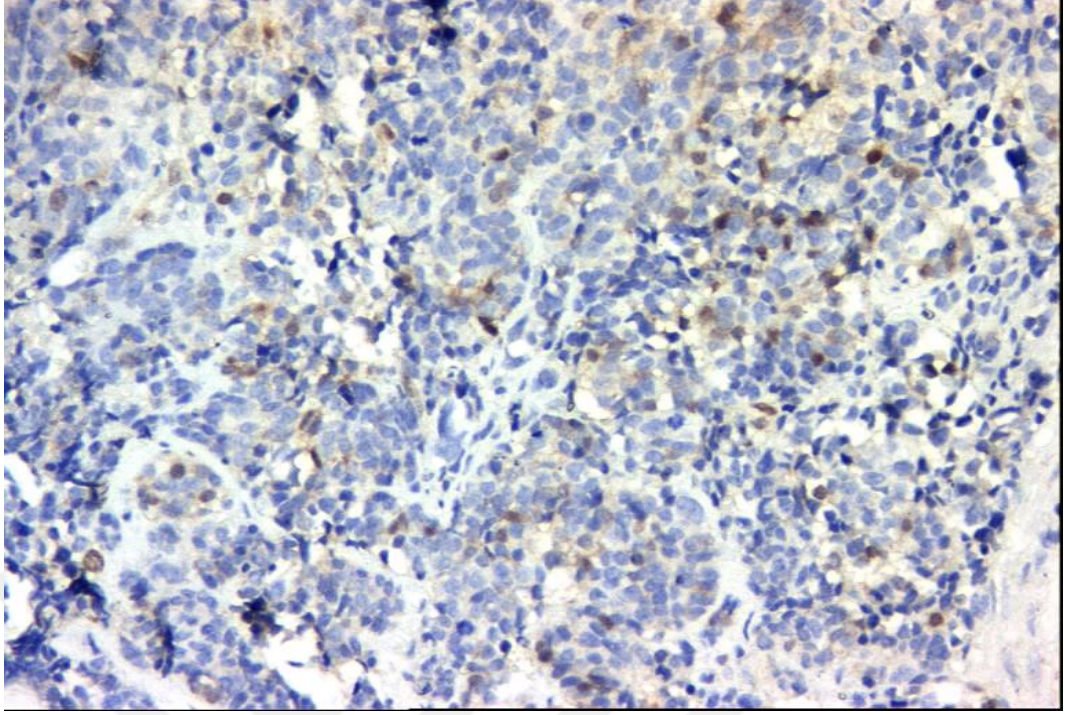
Şekil-9: Prostat adenokarsinomu (H&E 10X VE 20X)



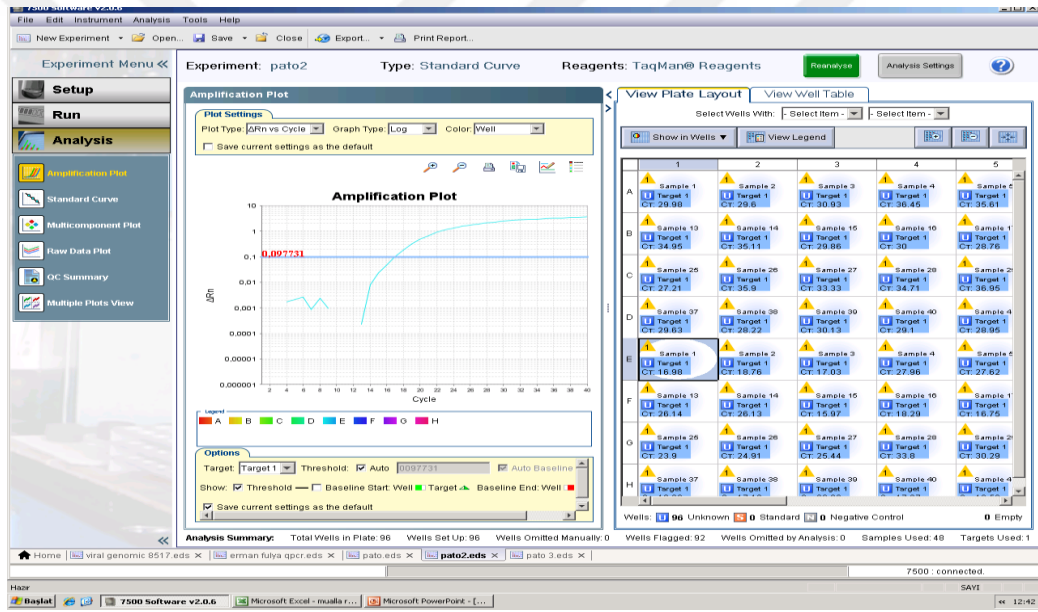
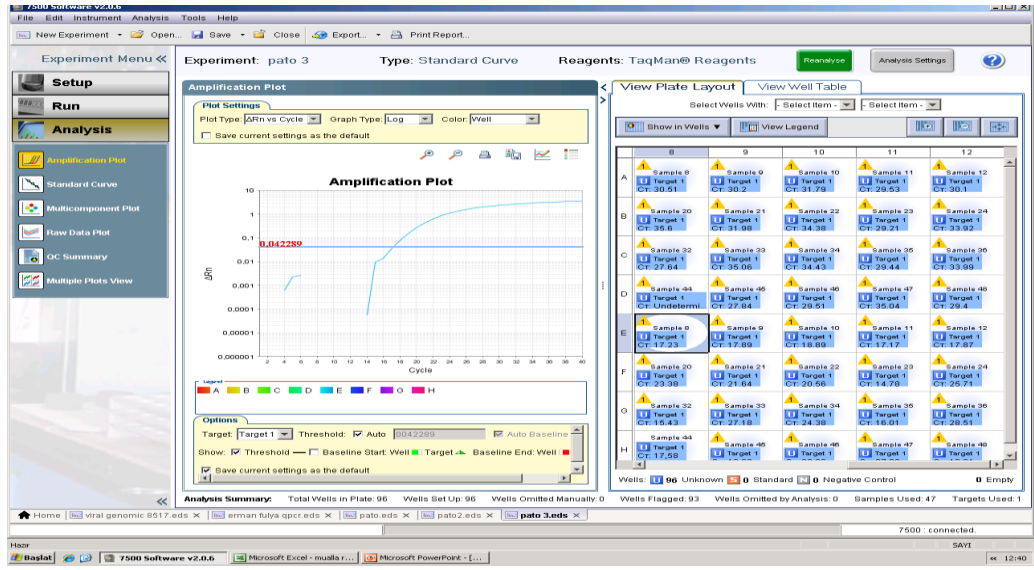
Şekil-10: Prostat adenokarsinomu (H&E 20X)



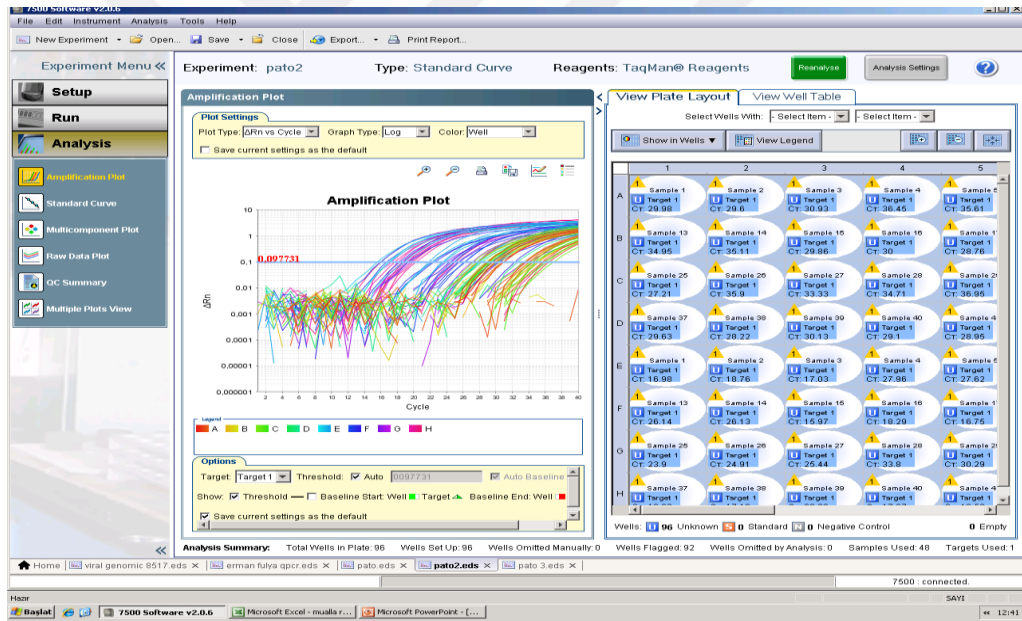
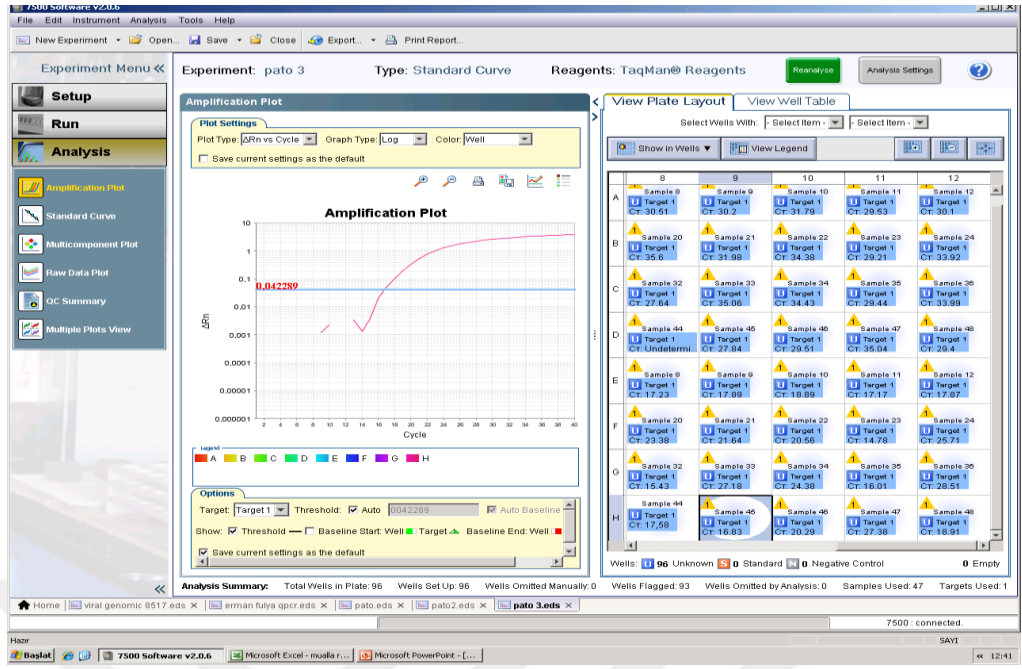
Şekil-11: Prostat adenokarsinomu Notch-1 ile sitoplazmik boyanma (20X)



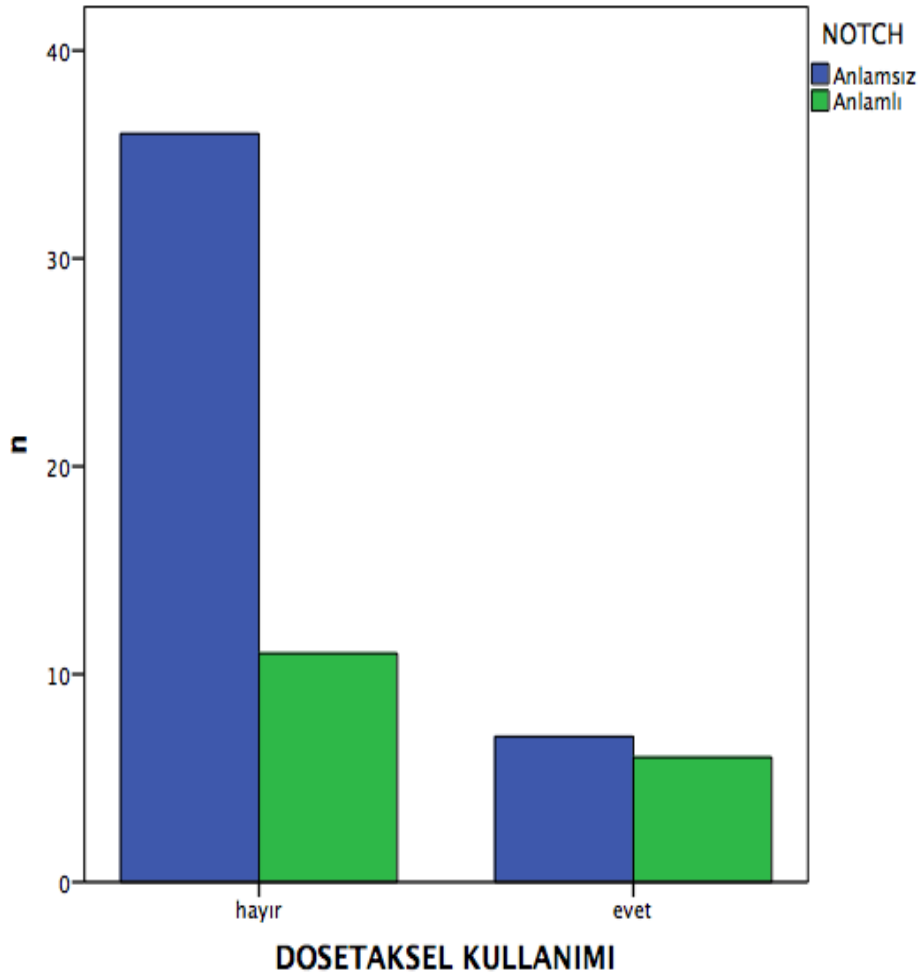
Şekil-12: A.Prostat adenokarsinomu Notch-1 ile sitoplazmik boyanma (20X) ve **B.**Notch-1 ile negatif boyanma(10X).



Şekil-13: Prostat adenokarsinomu hastalarımızın cevap eğrileri.

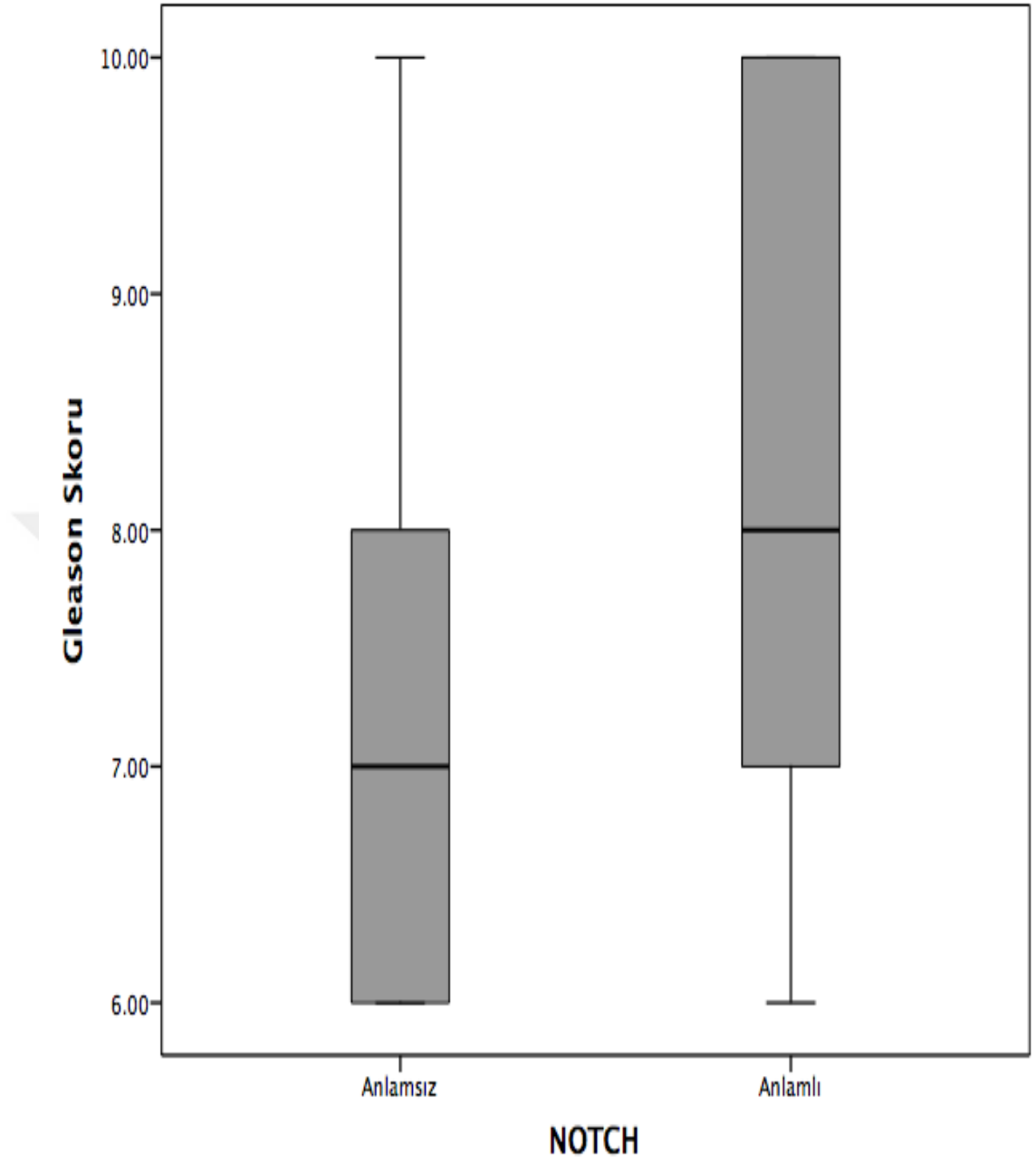


Şekil-14: Prostat adenokarsinomu hastalarımızın cevap eğrileri.

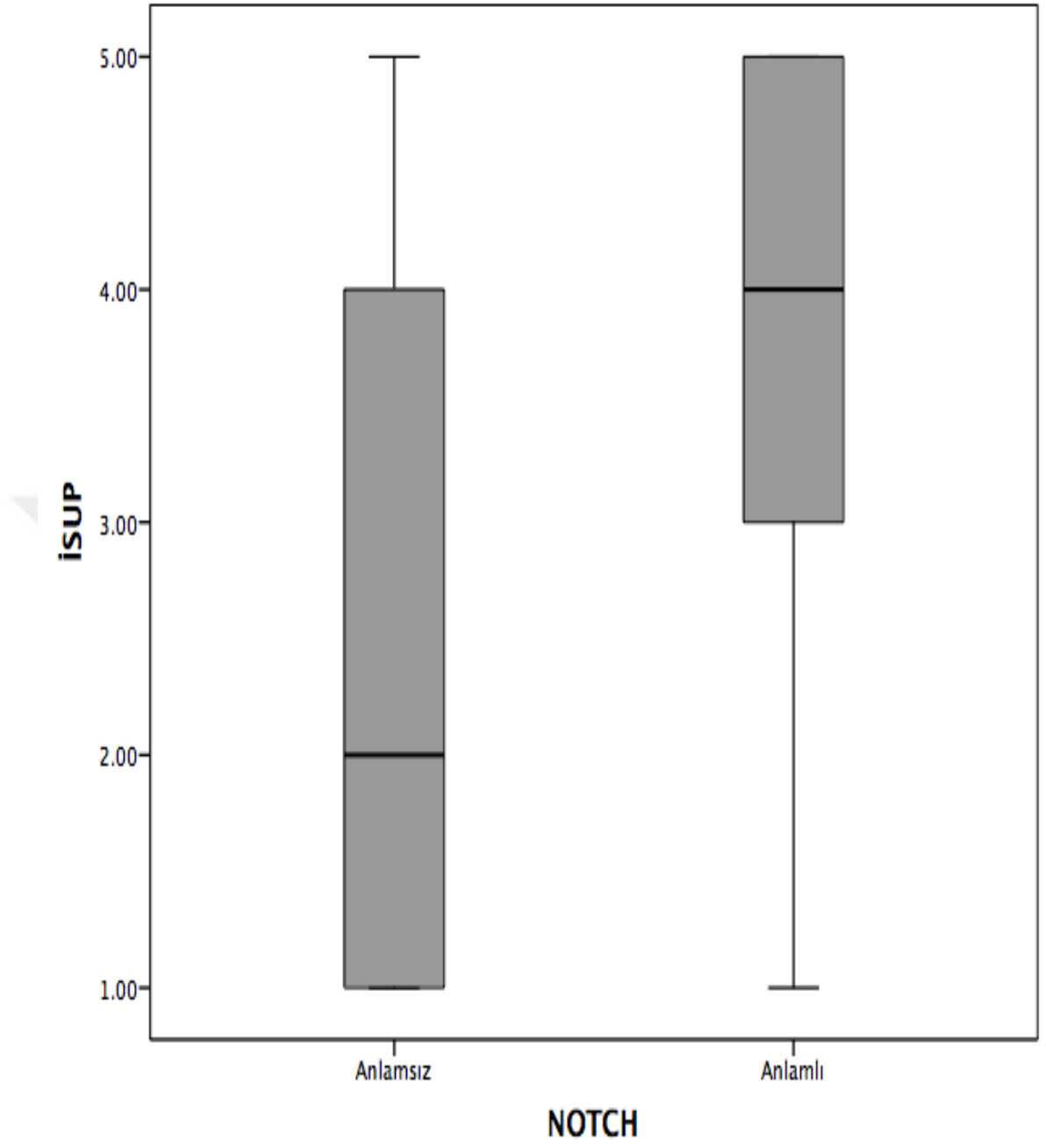


Şekil-15: Dosetaksel direnci olan ve olmayan hastaların Notch-1 ekspresyonu diagramı

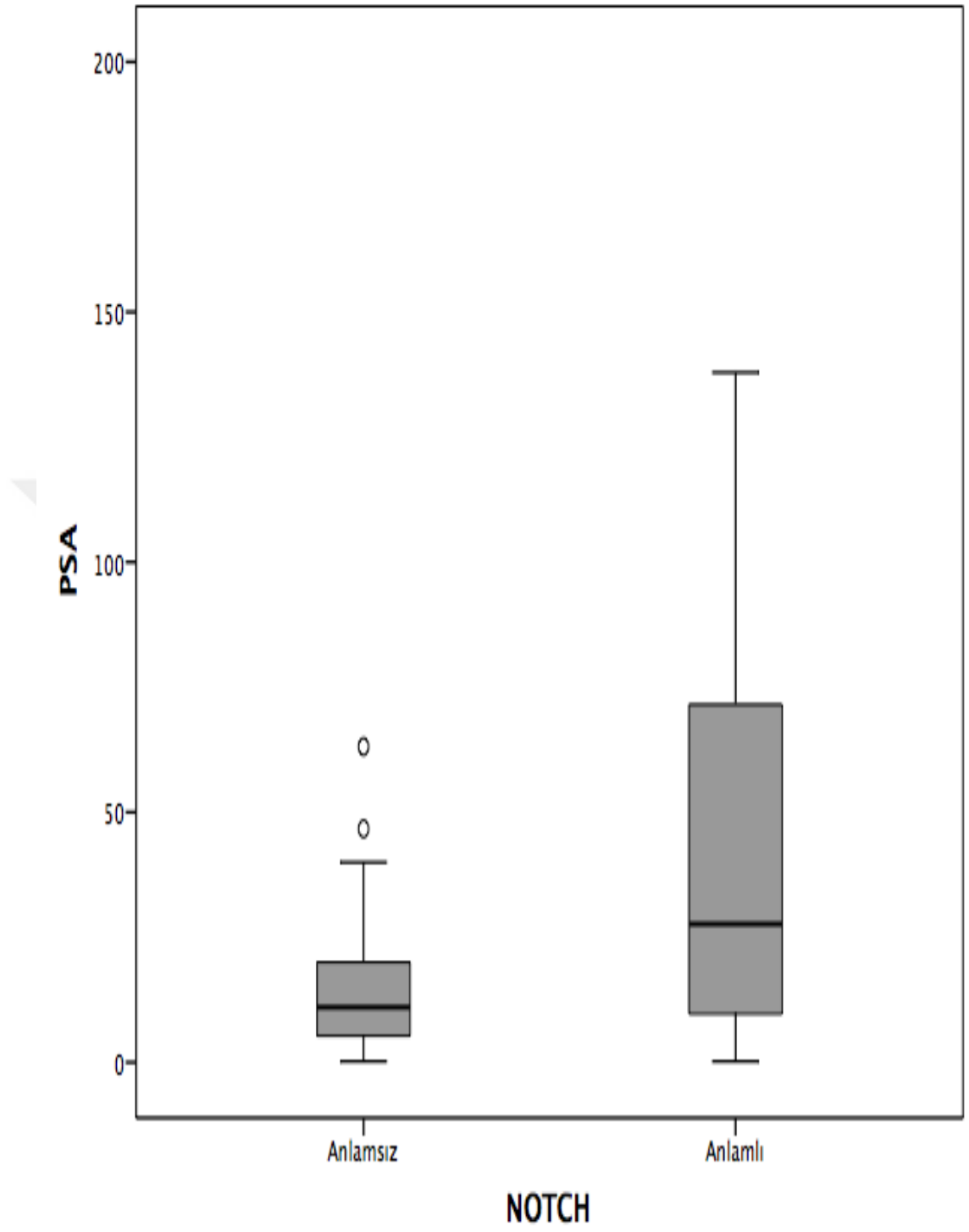
Notch-1 gen ekspresyonunun gleason skoru artışı, ISUP skoru artışı ve PSA yükseliği ile ilişkisinin anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu bulgular Tablo-5'de gösterilmiştir.



Şekil-16: Notch-1 ekspresyonunun olan hastalarda anlamlı bir şekilde Gleason skoru daha fazla saptanmıştır.



Şekil-17: Notch-1 ekspresyonunun olan hastalarda anlamlı bir şekilde İSUP skoru daha fazla saptanmıştır.



Şekil-18: Notch-1 ekspresyonunun olan hastalarda anlamlı bir şekilde PSA'nın daha yüksek olduğu saptanmıştır.

		DOSETAKSEL KULLANIMI								
		EVET				HAYIR				
		Mean	SS	n	%	Mean	SS	n	%	p değeri
YAŞ		64	10			66	8			0,523
İSUP		4,38	,87			2,53	1,65			0,001
GleasonFinal		8,69	,95			7,23	1,39			0,001
PERİNÖRAL İNVAZYON	VAR			9	69,2%			40	85,1%	0,231
	YOK			4	30,8%			7	14,9%	
MATERYAL	10 K. BX			6	46,2%			4	8,5%	p YOK
	14 K. BX			0	0,0%			19	40,4%	
	7 K. BX			1	7,7%			0	0,0%	
	8 K. BX			0	0,0%			3	6,4%	
	RP			1	7,7%			15	31,9%	
	TUR			5	38,5%			6	12,8%	
PSA		260,32	480,22			16,98	22,02			0,001

Tablo-5:Tüm hastalarımızın Notch-1 ekspresyonu, yaş, İSUP skoru ve Gleason skoru.

Prostat adenokarsinomu olan hastalarımız değerlendirilirken ilk önce benign prostat hiperplazisi olan hastalarımıza göre Notch-1 gen ekspresyonu karşılaştırılmıştır. Bunun sonucuna göre benign prostat hiperplazili hastalara göre, 60 prostat adenokarsinomu olan hastamızın 17'sinde hastalarına göre anlamlı derecede artmış Notch-1 gen ekspresyonu bulunmuştur. Bu veriler Tablo- 6'de listelenmiştir.

VAKA SIRA NO	NOTCH1 CT	18SrRNA CT	Δ CT	$\Delta\Delta$ CT (8.595)	FOLD DIFFERENCE ($2^{\Delta\Delta$ CT)
1	31.98	21.64	10.34	1.745	0.298
2	27.64	15.43	12.21	3.615	0.082
3	33.95	26.14	7.81	-0.785	1.72
4	36.146	29.16	6.99	-1.605	3.042
5	29.22	14.78	14.44	5.845	0.017
6	34.37	27.69	6.68	-1.915	3.771
7	34.85	27.88	6.97	-1.625	3.08
8	30.93	25.50	5.43	-3.165	8.96
9	33.89	26.42	7.47	-1.125	2.181
10	35.11	24.58	10.53	1.935	0.262
11	29.44	16.01	13.43	4.835	0.035
12	35.69	26.76	8.93	0.335	0.79
13	33.97	21.83	12.14	3.545	0.09
14	29.98	16.18	13.8	5.205	0.027
15	33.214	25.079	8.135	-0.46	1.376
16	31.89	18.37	13.52	4.925	0.033
17	31.86	18.04	13.82	5.255	0.026
18	30.197	17.895	12.30	3.705	0.0389
19	34.38	25.15	9.23	0.635	0.64
20	36.45	27.96	8.49	-0.105	1.08
21	33.81	23.85	9.96	1.365	0.388
22	29.89	22.14	7.75	-0.845	1.80

23	34.18	28.63	5.55	-3.045	8.25
24	30.73	17.14	13.59	4.995	0.031
25	34.11	26.13	7.98	-0.615	1.53
26	35.241	27.249	7.99	-0.605	1.52
27	29.531	17.173	12.36	3.765	0.074
28	30.285	16.336	13.95	5.355	0.024
29	28.76	16.75	12.01	3.415	0.09
30	30.999	17.42	13.58	4.985	0.0316
31	29.536	16.135	13.40	4.805	0.058
32	34.501	24.496	10	1.405	0.378
33	31.473	17.895	13.58	4.985	0.032
34	29.86	15.97	13.89	5.295	0.03
35	31.861	20.559	11.30	2.705	0.153
36	31.793	18.893	12.9	4.305	0.051
37	30.1	17.87	12.23	3.635	0.081
38	33.63	23.63	10	1.405	0.38
39	34.43	24.38	10.05	1.455	0.36
40	33.918	25.714	8.20	-0.395	1.315
41	33.626	22.241	11.39	2.795	0.144
42	35.059	27.177	7.88	-0.715	1.64
43	31.431	19.075	12.36	3.765	0.074
44	35.19	27.78	7.41	-1.185	2.27
45	34.39	24.88	9.51	0.915	0.53
46	28.99	15.56	13.43	4.835	0.04

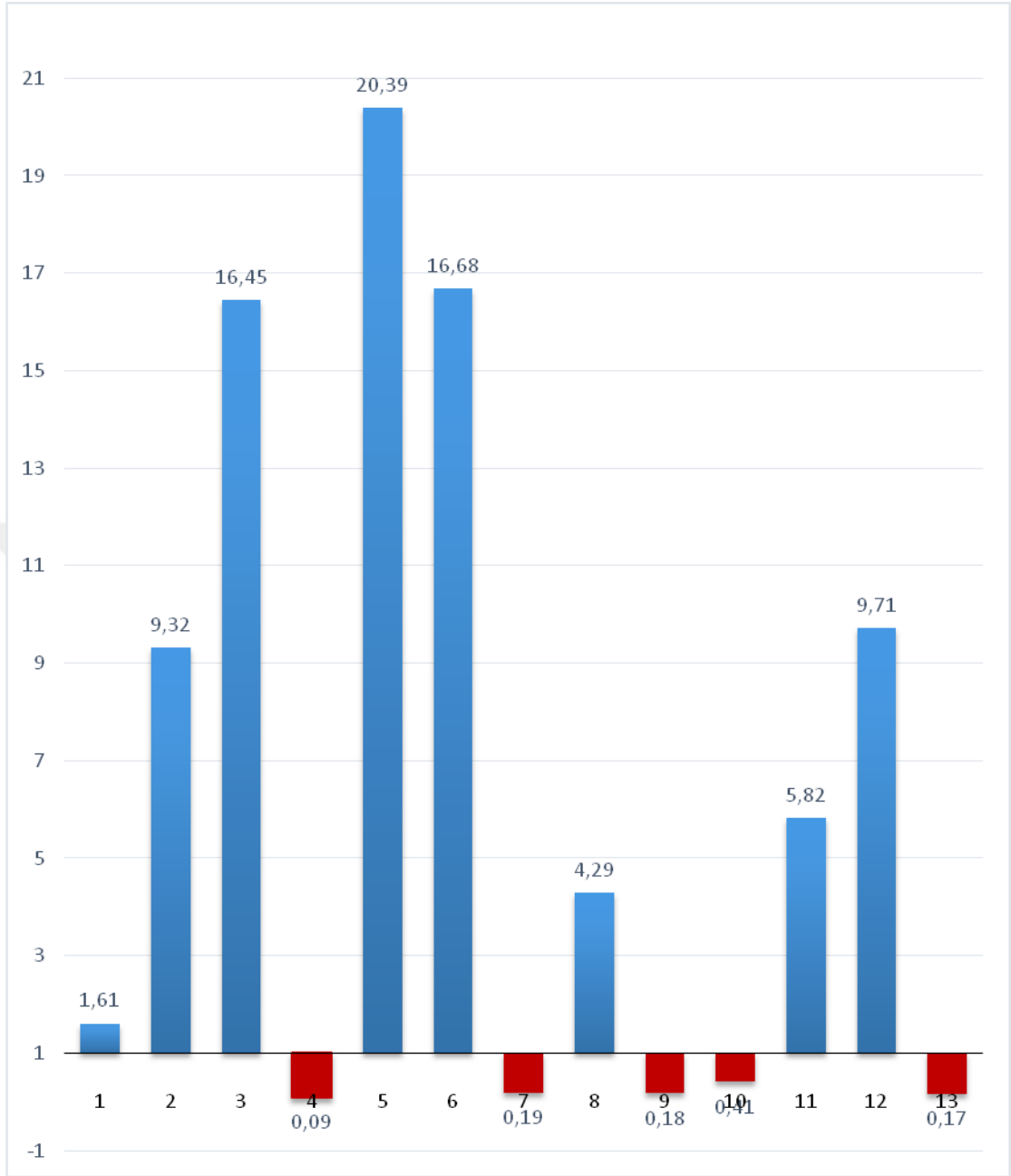
47	30.93	17.03	13.09	4.495	0.044
48	33.84	22.63	11.21	2.615	0.163
49	35.61	27.62	7.99	-0.605	1.52
50	31.08	15.99	15.09	6.495	0.011
51	30.0	18.29	11.71	3.115	0.12
52	29.099	19.392	9.71	1.115	0.461
53	30.338	15.53	14.81	6.215	0.013
54	30.508	17.225	13.28	4.685	0.0389
55	29.98	16.98	13	4.405	0.047
56	30.167	18.165	12	3.405	0.094
57	33.51	23.50	10.01	1.415	0.38
58	29.392	15.245	14.15	5.555	0.0213
59	29.60	18.76	10.84	2.245	0.22
60	29.299	21.406	7.89	-0.705	1.63

Tablo-6: Prostatik adenokarsinom tanılı 60 hastamızın, benign prostat hiperplazi tanılı hastalarımıza göre Notch-1 gen ekspresyonu.

Daha sonra Dosetaksel direnci olmayan hastalarımıza göre Dosetaksel direnci olan hastalarımızın Notch-1 ekspresyonunu karşılaştırdık. Dosetaksel direnci olan 13 hastamızın 8 tanesinde dosetaksel direnci olmayan hastalara göre Notch-1 ekspresyonunda anlamlı artış saptanmıştır (Tablo-7). Ayrıca bu bulgular Şekil-14’de gösterilmiştir.

VAKA SIRA NO	NOTCH1 CT	18SrRNA CT	Δ CT	$\Delta\Delta$ CT (11.03)	FOLD DIFFERENCE ($2^{\Delta\Delta$ CT)
1	31.98	21.64	10.34	-0.69	1.61
3	33.95	26.14	7.81	-3.22	9.32
4	36.146	29.16	6.99	-4.04	16.45
5	29.22	14.78	14.44	3.41	0.09
6	34.37	27.69	6.68	-4.35	20.39
7	34.85	27.88	6.97	-4.06	16.68
11	29.44	16.01	13.43	2.4	0.19
12	35.69	26.76	8.93	-2.1	4.29
16	31.89	18.37	13.52	2.49	0.18
18	30.197	17.895	12.30	1.27	0.41
20	36.45	27.96	8.49	-2.54	5.82
22	29.89	22.14	7.75	-3.28	9.71
24	30.73	17.14	13.59	2.56	0.17

Tablo-7: Dosetaksel direnci olan hastalarımızın, Dosetaksel direnci olmayan hastalarımıza göre Notch-1 gen ekspresyonu.



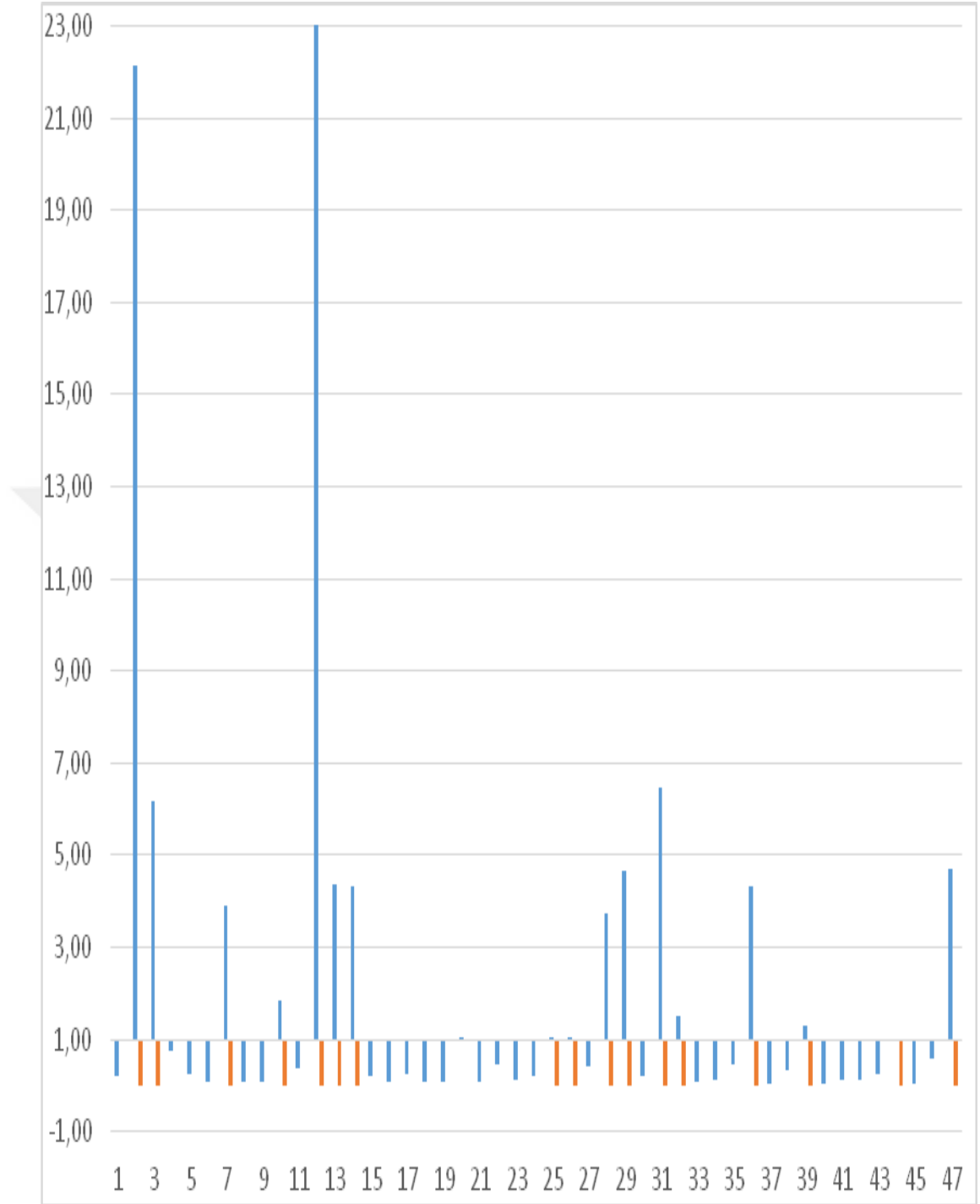
Şekil-19: Dosetaksel direnci olan hastalarımızın, Dosetaksel direnci olmayan hastalarımıza göre Notch-1 gen ekspresyonu.

En son olarak Dosetaksel direnci olan hastalar göre, Dosetaksel direnci olmaya hastaların Notch-1 ekspresyonuna bakılmış ve 47 hastanın 16'sında Notch-1 ekspresyonu artışı saptanmıştır. Sonuçlarımızı da Tablo-8 ve Şekil-15'de gösterdik. Ayrıca bizim çalışmamızda Notch-1 gen ekspresyonu olan 17 hastanın 10 tanesinin metastaz açısından verilerine ulaşılmış olup 9 tanesinde uzak organ metastazı saptanmıştır. Metastaz konusunda verilerimiz tam olmadığı için istatistiksel olarak değerlendirme yapamadık.

VAKA SIRA NO	NOTCH1 CT	18SrRNA CT	Δ CT	$\Delta\Delta$ CT (10.1)	FOLD DIFFERENCE ($2^{\Delta\Delta$ CT)
2	27.64	15.43	12.21	2.11	0.23
8	30.93	25.50	5.43	-4.67	22.12
9	33.89	26.42	7.47	-2.63	6.19
10	35.11	24.58	10.53	0.43	0.74
13	33.97	21.83	12.14	2.04	0.24
14	29.98	16.18	13.8	3.7	0.08
15	33.214	25.079	8.135	-1.97	3.92
17	31.86	18.04	13.82	3.72	0.08
17	29.86	15.97	13.89	3.79	0.07
19	34.38	25.15	9.23	-0.87	1.83
21	33.81	23.85	9.96	-0.14	0.388
23	34.18	28.63	5.55	-4.55	23.42
25	34.11	26.13	7.98	-2.12	4.35
26	35.241	27.249	7.99	-2.11	4.32
27	29.531	17.173	12.36	2.26	0.21
28	30.285	16.336	13.95	3.85	0.07
29	28.76	16.75	12.01	1.91	0.27
30	30.999	17.42	13.58	3.48	0.09
31	29.536	16.135	13.40	3.3	0.10
32	34.501	24.496	10	-0.1	1.07
33	31.473	17.895	13.58	3.48	0.09
35	31.861	20.559	11.30	1.2	0.46
36	31.793	18.893	12.9	2.8	0.14
37	30.1	17.87	12.23	2.13	0.23
38	33.63	23.63	10	-0.1	1.07

39	34.43	24.38	10.05	-0.05	1.04
40	33.626	22.241	11.39	1.29	0.41
41	33.918	25.714	8.20	-1.9	3.73
42	35.059	27.177	7.88	-2.22	4.66
43	31.431	19.075	12.36	2.26	0.21
44	35.19	27.78	7.41	-2.69	6.45
45	34.39	24.88	9.51	-0.59	1.51
46	28.99	15.56	13.43	3.33	0.10
47	30.93	17.03	13.09	2.99	0.13
48	33.84	22.63	11.21	1.11	0.46
49	35.61	27.62	7.99	-2.11	4.32
50	31.08	15.99	15.09	4.99	0.03
51	30.0	18.29	11.71	1.61	0.33
52	29.099	19.392	9.71	-0.39	1.31
53	30.338	15.53	14.81	4.71	0.04
54	30.508	17.225	13.28	3.18	0.11
55	29.98	16.98	13	2.9	0.13
56	30.167	18.165	12	1.9	0.27
57	33.51	23.50	10.01	0	1
58	29.392	15.245	14.15	4.05	0.06
59	29.60	18.76	10.84	0.74	0.60
60	29.299	21.406	7.89	-2.24	4.72

Tablo-8: Dosetaksel direnci olmayan hastalarımızın, Dosetaksel direnci olan hastalarımıza göre Notch-1 gen ekspresyonu.



Şekil-20: Dosetaksel direnci olmayan hastalarımızın, Dosetaksel direnci olan hastalarımıza göre Notch-1 gen ekspresyonu.

		NOTCH_Anlamli								
		0 n = 43				1 n = 17				
		n	%	Mean	SS	n	%	Mean	SS	p değeri
DOSETAKSEL KULLANIMI	EVET	7	16,3%			6	35,3%			0,163
	HAYIR	36	83,7%			11	64,7%			
YAŞ				65	8			67	9	0,407
İSUP				2,58	1,67			3,82	1,47	0,008
GleasonFinal				7,23	1,32			8,35	1,41	0,007
PERİNÖRAL	VAR	35	81,4%			14	82,4%			0,999
İNVAZYON	YOK	8	18,6%			3	17,6%			
MATERYAL	10 K. BX	7	16,3%			3	17,6%			p değeri verilemez
	14 K. BX	16	37,2%			3	17,6%			
	7 K. BX	0	0,0%			1	5,9%			
	8 K. BX	2	4,7%			1	5,9%			
	RP	13	30,2%			3	17,6%			
	TUR	5	11,6%			6	35,3%			
PSA				24,67	45,10			184,51	432,84	0,018

Tablo-9: Tüm hastalarımızın Notch-1 ekspresyonu, Dosetaksel direnci olup olmadığı, PSA, ISUP, Gleason skorları, perinöral invazyon durumu.

Bütün verilerimizi Tablo-9’ da özetledik. 60 adet prostat kansinomu olan hastamızın 13 tanesi dosetaksel dirençli olan hastalar 47’si ise dosetaksel direnci olmayan hastalar olup, RT-PCR yöntemi ve İHK’sal olarak 60 hastamızın 17’sinde Notch-1 gen ekspresyonu saptanmıştır. Notch-1 gen ekspresyonu Gleason skor ve ISUP skor artışı ve PSA yüksekliği ile anlamlı olduğunu ve Notch-1’in Dosetaksel direnci ile anlamlı olmadığını bulduk.

12.TARTIŞMA

Kansere neden olan çok sayıda gen tanımlanmıştır ve çeşitli mekanizmaların bu genler aracılığıyla insan kanserlerinin oluşumuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bu konu hakkında yapılan çalışmalar tamamlanmamıştır. Onkogenlerin büyük çoğunluğunun bu yolaklarda kanseri indükleyici etkisi olduğu belirlenmiştir. Bu yolaklar aynı zamanda normal hücrelerinde çoğalmasını, farklılaşmasını, yaşamını ve fonksiyonunu düzenleyen sistemlerdir (91). Kanser hücreleri kontrolsüz çoğalma, farklılaşmanın bloke edilmesi, azalmış apoptoz, değişmiş doku yapısı gibi karakteristik özelliklere sahiptir ve kanser hücrelerinde bu yolakların aktivitesi artmış veya azalmıştır.

Notch sinyal yolağı bir çok organın ve dokunun gelişimi için gerekli çok yüksek koruma altında olan bir sinyal yolağıdır. Notch yolağı prostatı da içeren birçok organda hücre kaderini belirlemede ve hücre gelişiminde rol oynar. Notch sinyal yolağı hücrenin kaderini; diferansiasyonu, proliferasyonu ve apoptozu etkileyerek belirler. Bu çok korunmuş yolakta disregülasyon olduğu zaman hem benign hem de malign birçok hastalık oluşabileceği gösterilmiştir (92). Notch aktivasyonu hücreye spesifik olarak hücrenin çoğalmasını uyarabilir ya da inhibe edebileceği de gösterilmiştir.

Notch reseptörleri bazı dokularda onkogen bazı dokularda ise tümör süpresör gibi davrandıkları için, mutasyonlarında tümöregenezisde fonksiyon kaybı ya da fonksiyon kazanımı olabilir. Bunlara örnek olarak; meme kanserlerini %5 ila %10'nunda Notch1 ve Notch-2 fonksiyonel mutasyon kazanma, T hücreli akut lenfoblastik lösemililerin %50'sinden fazlasındaki Notch-1 mutasyon aktivasyonu, kronik miyelomonositik lösemilerinin % 10'dan fazlasında Notch-1 mutasyonunda fonksiyon kaybı, kolanjiyokarsinomlarda ve hepatoselüler karsinomlarda Jag-1 ve Notch-2 fonksiyon mutasyon kaybı görülmektedir (88).

Prostat tümörlerinin çoğunluğu epitelyal hücrelerin aşırı çoğalmasıyla oluşan adenokarsinomlardır. Fakat prostat epitel hücrelerinin proliferasyonu, diferansiasyonu ve tümeregenezisi hala tam olarak bilinmemektedir. Bu süreçte hücre-hücre reaksiyonu ve spesifik genler rol alıyor olabilir. Prostatik tümeregenezisin bazal veya luminal epitelyal hücrelerin proliferasyonunda ya da diferansiasyonundaki disregülasyonuna bağlanılabilir.

Son çalışmalar Notch sinyal yolağının normal prostat gelişiminde kritik bir yol oynadığını göstermiştir. Notch sinyal yolağı embriyonik ve postnatal prostatik gelişim ve büyüme için gerekli olduğu ve hormon replasmanı ve kastrasyon sonrası onarım ve regresyon ile de ilişkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca bu yolağın prostat kanser gelişiminde progresyonunda ve metastazında da yer aldığına dair kanıtlar mevcuttur. Notch yolağının prostat karsinomunda etkisi olduğu açık olsa da henüz prostat karsinomuna katkısı tam olarak bilinmemektedir (106).

Prostat karsinomuna spesifik mortalitenin primer sebebi kastrasyona rezistans metastatik prostat karsinomlarıdır. Bu anlamda kastrasyona rezistans prostat karsinomlarında rekürensi ve letal gidişi öngörebilen yeni mekanizmaları tanımlayabilmek ve belirleyebilmek prostat karsinomu hastalarında kritik rol oynamaktadır. İlerlemiş prostat kanseri olan hastalarda ilk tedavi androjen deprivasyon tedavisidir. Ancak hastalık genellikle "Kastrasyon dirençli prostat kanseri" olarak adlandırılan relapslar ile giden letal metastatik hastalık olarak seyreder. Şu an Kastrasyon dirençli prostat kanserİ için kullanılan tedaviler, ikinci jenerasyon androjen inhibitörleri (enzalutamid ve abirateron asetat), kemoterapötik ajanlar (dosetaksel) ve immünoterapi (Sipuleucel-T)'dir. Ne yazık ki, bu ajanlar medyan genel sağkalımı sadece 4 ay daha iyileştirir. Kastrasyona dirençli prostat karsinomlarında ilk tedavi seçeneği dosetakseldir. Fakat tedavinin ortalama 6. ayında hastalarda dosetaksel direnci gelişmektedir.

Ayrıca son verilerde kastrasyon duyarlı metastatik hastalarda dosetaksel tedavisi ve androjen-deprivasyon tedavisinin birlikte kullanılması daha dramatik iyileşmeler görülmüştür. Son çalışmalarda Notch sinyalinin dosetaksel direncinde ve prostat kanserinde özellikle epitelyal plastitenin düzenlenmesinde, dediferansiasyonda ve kök hücrede etkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalar özellikle Hedegog/GLİ ve Notch yollarının kök hücreler tarafından yapılması prostat kansinomu geciktirdiğini göstermiştir. Bu amaç ile yapılan çalışmalarda Notch sinyal yolağı prostat kanseri progresyonu ve dosetaksel direnci ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda da lenf noduna metastaz yapmış prostat kansinomlarında da yüksek seviyelerde Notch-1 ekspresyonu görülmüştür.

Shou ve arkadaşlarının 2001 yılında ratlarda yaptıkları çalışmalarda Notch-1'in prostatta doğumdan sonra 1-10 günler arası yüksek seviyelerde olduğu fakat adultlarda Notch-1'in azaldığını göstermişlerdir. Ayrıca Notch-1'in prostatta bazal epitelyal hücreler ile ilişkili olduğundan bahsetmişlerdir. Prostat kansinomlarının Notch-1 eksprese edip etmediğini incelemek için TaqMan kantitatif RT-PCR yöntemi ile prostat kansinom hücrelerini incelemişler ve çeşitli seviyelerde Notch-1 ekspresyonu ettiklerini bulmuşlardır. Notch-1'in LNCaP hücrelerinde çok yüksek, PC3 hücrelerinde orta, DU145 hücrelerinde çok düşük düzeyde ekspresyon bulmuşlardır (107).

Aynı çalışmada TRAMP farelerinden hazırlanan dokuların hibridizasyonu ile bakıtlarında normal olgun prostatta Notch-1 seviyeleri yok/çok düşük, orta derecede diferansiye ve az diferansiye adenokarsinomlarda ise yüksek seviyelerde Notch-1 saptanmıştır. Sonuç olarak Shou ve arkadaşları Notch sinyalinin prostat gelişimi ve kanser hücre büyümesi ile ilişkili olduğunu göstermişler ve Notch sinyalinin gen ekspresyonunun yüksek dereceli lokalize prostat kansinomu ile ilişkilendirilmişlerdir. Ayrıca Shou ve arkadaşları prostat gelişimi sırasında Notch-1'in bazal hücre popülasyonu ile ilişkili olduğu ve TRAMP prostatlarındaki malign hücrelerde saptanan Notch-1 seviyelerinin yüksekliği düşünüldüğünde prostat kansinomu ve bazal epitelyal hücre ilişkisi mutlaka

araştırılıp tartışılması gerektiğini savunmuşlardır. Bizim çalışmamızda da Notch-1 gen ekspresyonu gleason skor ve ISUP skor artışı ile korale olarak yüksek dereceli prostat kansinimleri ile ilişkili olduğu görölmüştür (107).

Wang ve arkadaşları 2006 yılında prostat kansinimlerinde Notch-1 mRNA ekspresyonunun azalmış olduğunu saptamışlar ve bunun Notch'in prostatta tümör süpresör etkisi olmasına bağlamışlardır. Aynı çalışmada Wang ve arkadaşları Notch-2-3-4'ün mRNA ekspresyonlarının prostat kansinomu ve normal prostat dokusu ile arasında fark olmadığını göstermişlerdir (108). Bunun tam tersi olarak 2007 yılında Brown ve arkadaşları prostat kansinimlerinde Notch-1 proteinin, benign kontrollere göre yüksek ekspresyonunu göstermişlerdir ve Notch-1'in prostata kansinomu tümörogenezisinde onkogen rol aldığını savunmuşlardır (109). Bizim çalışmamızda ise Notch-1 gen ekspresyonu prostat kansinimlerinde artmış olarak saptanmıştır.

Stoyanova ve arkadaşları hormon negatif yüksek riskli prostat kanserlerinde ve nerdeyse tamamı metastatik kastrasyon dirençli prostat kanserlerinde belirgin şekilde yüksek nükleer NCID-1 bulmuşlardır. Wang ve arkadaşları 2011 yılında TRAMP modellerinde Notch-1 mRNA ekspresyonunun malign ve metastatik prostat epitelyal hücrelerinde up-regölasyon olduğunu göstermişlerdir (110). Bizim çalışmamızda Notch-1 gen ekspresyonu olan 17 hastanın 10 tanesinin metastaz açısından verilerine ulaşılmış olup 9 tanesinde uzak organ metastazı saptanmıştır.

Soylu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada normal prostat dokusunda Notch-1'in immünohistokimyasal olarak luminal sekretuar hücrelerde, bazal hücrelerde ve stromadaki düz kas hücrelerinde boyadığını, Prostatik intraepitelyal neoplazilerde kuvvetli boyanma gösterdiğini adenokarsinimlarda ise luminal sekretuar hücrelerde zayıf boyanma gösterdiğini bulmuşlardır.

Bununla birlikte Prostatik intraepitelyal neoplazilerdeki boyanma artışını istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Adenokarsinom dokularının Notch-1 boyanma yoğunluğu, normal ve PIN dokularına kıyasla önemli ölçüde azalması ve istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bulmuşlardır (111). Bizim çalışmamızda ise bu çalışma ile uyumlu olarak prostat adenokarsinom olan hastalarımızda normal dokulara göre immünohistokimyasal olarak Notch-1 daha zayıf olarak boyanmıştır.

Ye ve arkadaşları Notch yolağının prostat kansinomlarında kemorezistansa katkısını araştırmışlar ve Notch-1 ekspresyonun down-regule olması PC-3 hücrelerinin çoğalmasını azaltmış ve dosetaksele olan duyarlılığını arttırdığını bulmuşlardır. Buna bağlı olarak Notch-1 ekspresyonunun down regülasyonunun apoptozu indükleyerek PC-3 hücrelerinin kemoterapi duyarlılığını arttırdığını düşünmüşlerdir. Üstelik Ye ve arkadaşları, Notch-1'in down-regülasyonunun, hücre proliferasyonu azaltarak ve prostat kanseri hücrelerinin apoptozunu indükleyerek dosetakselin anti-tümör etkilerini artırabileceğini bulmuşlardır. Notch-1'in prostat kanserinde bir onkogen olduğu ve prostat kanseri tedavisi için etkili bir hedef olabileceği düşüncesini destekleyen Notch-1'in siRNA aracılığıyla susturulmasından sonra PC-3 hücrelerinde docetaxel'e karşı kemosenitivitenin arttığını göstermişlerdir (112). Bizim çalışmamızda ise dosetaksel direnci ile Notch-1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Her ne kadar istatistiksel anlam saptanmasa da 13 Dosetaksel direnci olan hastamızın 6'sında Notch-1 gen ekspresyonu artışı tespit ettik. Hasta sayımızın daha fazla olsaydı anlamı sonuçlar elde edilebileceğimizi düşünüyoruz.

Zayzafoon ve arkadaşları prostat kansinomunun kemik metastazındaki osteoblastik prostat kansinomu hücrelerinde nükleer ve sitoplazmik Notch-1 proteini ekspresyonunu bulmuşlardır.

Sethi ve arkadaşları 2011 yılında Notch-1'in metastatik prostat kanserlerinde primer prostat kanserlerine göre daha fazlaover-ekspresyon olduğunu bulmuşlardır (113). Bizim çalışmamızda Notch-1 gen ekspresyonu olan 17 hastanın 10 tanesinin metastaz açısından verilerine ulaşılmış olup 9 tanesinde uzak organ metastazı saptanmıştır.

Domingo- Domenech ve ark. Notch ve Hedgehog sinyal yollarının, Docetaxel maruziyetinde hayatta kalan ve güçlü tümör başlatma kapasitesi sergileyen PCa hücrelerinin subpopülasyonunda aşırı eksprese edildiğini bildirmişler ve Dosetaksel direnci olan prostat adenokarsinomlarında Notch ve Hedegog inhibitörlerinin Dosetaksel ile birlikte kullanılmasının yararlı olduğunu göstermişlerdir (114). Zhu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, Notch-1 reseptörünün sitoplazmik boyandığını görmüşler ve Notch yolağının up-regülasyonun prostat karsinomu metastazları ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (115).

Zhu ve arkadaşları kendi çalışmalarının sonuçları ile Domingo- Domenech ve arkadaşları ile sonuçlarının beraber değerlendirdiklerinde Notch sinyal yolağının PCa'nın ilerlemesi, metastazı ve kemoterapi direncine katkıda bulunabileceğine dair artan bir kanıt oluşturduğunu düşünmektedirler. Ayrıca Zhu ve arkadaşları Jagged-1 ve Notch-1'in yavaş ve agresif Prostat adenokarsinomlarında ayırt etmede yararlı belirteçler olarak kullanılabileceğini ve Jagged 1-Notch1 sinyalinin PCa'nın tedavisi için potansiyel bir tedavi hedefi olabileceğini düşünmektedirler (115). Bizim çalışmamızda ise prostat adenokarsinomlarında Notch-1 sitoplazmik boyanma göstermiştir.

Özet olarak; toplam 20 adet benign prostat hiperplazisi ve 60 adet prostat adenokarsinomu hastasında immünohistokimyasal ve RT-PCR yöntemiyle Notch-1 çalıştık. Altmış hastamızın 17'sinde anlamlı derecede Notch-1 gen ekspresyonu saptadık. Hastalarımızın 13 tanesinde Dosetaksel ilaç direnci ve bu hastaların 6'sında anlamlı derecede Notch-1 gen ekspresyonu saptadık. Hastalarımızın 47'sinde ise Dosetaksel direnci olmayıp bu hastaların 11'inde anlamlı derecede Notch-1 gen ekspresyonu bulduk. Gleason skor yüksekliği, İSUP skor yüksekliği ve PSA yüksekliği ile Notch-1 gen ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptadık ($p < 0,05$) ancak Dosetaksel direnci ile anlamlı ilişki tespit etmedik ($p > 0,05$). Literatüre bakıldığında Notch sinyal yolağının PCa'nın ilerlemesi, metastazı ve kemoterapi direncine katkıda bulunabileceğine dair artan kanıtlar olduğunu görmekteyiz. Bizim de çalışmamızda elde ettiğimiz verilere bakıldığında Notch sinyal yolağının Gleason skor yüksekliği, ISUP skor yüksekliği ve PSA yüksekliği ile ilişkili olması dikkat çekicidir. Dosetaksel direnci ile Notch-1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunmaması hasta sayısının kısıtlı oluşu ile ilişkilendirilebilir. Günümüze kadar bu konuyla ilgili çalışmaların çok az oluşu ve elde edilen verilerin yetersizliği nedeniyle daha geniş serilerle çok sayıda çalışma yapılması PCa hastalarının prognozunu belirlemede ve tedavisine yön vermede önem arz etmektedir.

13.KAYNAKLAR

- 1.Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. CA Cancer J Clin. 2016;66(1):7-30.
- 2.GültekiN M, Boztaş G. Türkiye kanser istatistikleri. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. 2014;43.
- 3.DeSantis CE, Lin CC, Mariotto AB, Siegel RL, Stein KD, Kramer JL, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2014. CA: a cancer journal for clinicians. 2014;64(4):252-71.
- 4.Liu F, Sun YL, Xu Y, Liu F ve ark., Expression and phosphorylation of stathmin correlate with cell migration in esophageal squamous cell carcinoma. Oncol Rep, 2013. 29(2): p. 419-24.
- 5.Nemunaitis J, Stathmin 1: a protein with many tasks. New biomarker and potential target in cancer. Expert Opin Ther Targets, 2012. 16(7): p. 631-4.
- 6.Aumüller G, Groos S, Renneberg H, Konrad L, Aumüller M. Embryology and postnatal development of the prostate. MAJOR PROBLEMS IN PATHOLOGY. 1998;34:1-18.
- 7.Yoshie M, Kashima H, Bessho T, Takeichi M ve ark., Expression of stathmin, a microtubule regulatory protein, is associated with the migration and differentiation of cultured early trophoblasts. Hum Reprod, 2008. 23(12): p. 2766-74.
- 8.Balachandran R, Welsh MJ ve Day BW, Altered levels and regulation of stathmin in paclitaxel-resistant ovarian cancer cells. Oncogene, 2003. 22(55): p. 8924-30.
- 9.Rosai J ve Ackerman LV, and Ackerman's surgical pathology. 10th ed. 2011, Edinburgh: Elsevier/Mosby.
- 10.Curmi PA, Gavet O, Charbaut E, Ozon S ve ark., Stathmin and its phosphoprotein family: general properties, biochemical and functional interaction with tubulin. Cell Struct Funct, 1999. 24(5): p. 345-57.
- 11.Humphrey PA, Moch H, Ulbright TM, Reuter VE. WHO classification of tumours of the urinary system and male genital organs: tumours of the prostate2016. 135-83 p

12.Guyton AC, Hall JE, Textbook of Medical Physiology, 11th ed. Elsevier Inc. 2006; 999.).

13.Lilja H. A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. Journal of Clinical Investigation. 1985;76(5):1899.

14.Alan W. Partin RR . Alt üriner sistem ve erkek genital sistemin anatomisi. Campbell Üroloji Onuncu baskı Saunders /Güneş Kitabevi 2014;33-73 29 MacLennan GT. Pelvis. Hinman's Atlas of UroSurgical Anatomy. Elsevier Health Sciences; 2012. p. 121-136

15.Karram M. Surgical Anatomy of the Pelvis and the Anatomy of Pelvic Support. Surgical Management of Pelvic Organ Prolapse: Elsevier;2013.11-

16.Kazancıgil A, Şarman K. Anatomi atlası sinir sistemi ve duyu organları, cilt 3 (çeviri. Dayan A.D, Dayan H.L, Kahle W. Color Atlas and Textbook of Human Anatomy. 4. ed), Arkadaş Tıp Kitapları, İstanbul, 1993. 39.

17.Tanagho E, McAninch J. Ürogenital Sistem Anatomisi. In: Kazancı G. editor. Smith Genel Üroloji. On Yedinci Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri. 2009:1-17.

18.MacLennan GT. Perineum. Hinman's Atlas of UroSurgical Anatomy. Elsevier Health Sciences; 2012. p. 137-50.

19.Anafarta K. Ürogenital organların anatomik ve histolojik yapısı. Temel Üroloji Anafarta K, Göğüş O, Bedük Y, Arıkan N(Eds) Güneş Kitabevi, Ankara. 2007:14-15.

20.De Angelis R, Sant M, Coleman MP, Francisci S, Baili P, Pierannunzio D, et al. Cancer survival

21.Hemminki K. Familial risk and familial survival in prostate cancer. World journal of urology. 2012;30(2):143-8.

22.Al Olama AA, Kote-Jarai Z, Berndt SI, Conti DV, Schumacher F, Han Y, et al. A meta-analysis of 87,040 individuals identifies 23 new susceptibility loci for prostate cancer. Nature genetics. 2014;46(10):1103-9.

23.Bhindi B, Margel D, Hamilton RJ, Fernandes KA, Trottier G, Hersey KM, et al. The impact of the use of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the risk of prostate cancer detection on biopsy.

Urology. 2014;84(5):1073-80.

24.Kramer BS, Hagerty KL, Justman S, Somerfield MR, Albertsen PC, Blot WJ, et al. Use of 5 α - reductase inhibitors for prostate cancer chemoprevention: American society of clinical oncology/American urological association 2008 clinical practice guideline. The Journal of urology. 2009;181(4):1642-57.

25.Rodríguez C, Calle EE, Miracle-McMahill HL, Tatham LM, Wingo PA, Thun MJ, et al. Family history and risk of fatal prostate cancer. Epidemiology. 1997;8(6):653-7.

26.Bostwick DG, Burke HB, Djakiew D, Euling S, Ho Sm, Landolph J, et al. Human prostate cancer risk factors. Cancer. 2004;101(S10):2371-490.

27.Parent M-É, Siemiatycki J. Occupation and prostate cancer. Epidemiologic reviews. 2015;23(1):138-43.

28.Charles LE, Loomis D, Shy CM, Newman B, Millikan R, Nylander-French LA, et al. Electromagnetic fields, polychlorinated biphenyls, and prostate cancer mortality in electric utility workers. American journal of epidemiology. 2003;157(8):683-91

29.Patel DA, Bock CH, Schwartz K, Wenzlaff AS, Demers RY, Severson RK. Sexually transmitted diseases and other urogenital conditions as risk factors for prostate cancer: a case–control study in Wayne County, Michigan. Cancer Causes & Control. 2005;16(3):263-73.

30.Lightfoot N, Conlon M, Kreiger N, Sass-Kortsak A, Purdham J, Darlington G. Medical history, sexual, and maturational factors and prostate cancer risk. Annals of epidemiology. 2004;14(9):655- 62.

31.Shaneyfelt T, Husein R, Bubley G, Mantzoros CS. Hormonal predictors of prostate cancer: a meta-analysis. Journal of Clinical Oncology. 2000;18(4):847.

32.Roddam AW, Allen NE, Appleby P, Key TJ. Endogenous sex hormones and prostate cancer: a collaborative analysis of 18 prospective studies. Journal of the National Cancer Institute. 2008;100(3):170-83.

33.Chan JM, Stampfer MJ, Giovannucci E, Gann PH, Ma J, Wilkinson P, et al. Plasma insulin-like growth factor-I and prostate cancer risk: a prospective study. Science. 1998;279(5350):563-6.

34. Bostwick DG, Qian J, Schlesinger C. Contemporary pathology of prostate cancer. *Urologic Clinics of North America*. 2003;30(2):181-207.
35. Aronson WJ, Tymchuk CN, Elashoff RM, McBride WH, McLean C, Wang H, et al. Decreased growth of human prostate LNCaP tumors in SCID mice fed a low-fat, soy protein diet with isoflavones. *Nutrition and cancer*. 1999;35(2):130-6.
36. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of US adults. *New England Journal of Medicine*. 2003;348(17):1625-38.
37. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *British Journal of Nutrition*. 2004;92(03):347-55.
38. Haider A, Zitzmann M, Doros G, Isbarn H, Hammerer P, Yassin A. Incidence of prostate cancer in hypogonadal men receiving testosterone therapy: observations from 5-year median followup of 3 registries. *The Journal of urology*. 2015;193(1):80-6.
39. Huang T-b, Yan Y, Guo Z-f, Zhang X-l, Liu H, Geng J, et al. Aspirin use and the risk of prostate cancer: a meta-analysis of 24 epidemiologic studies. *International urology and nephrology*. 2014;46(9):1715-28.
40. Esposito K, Chiodini P, Capuano A, Bellastella G, Maiorino M, Parretta E, et al. Effect of metabolic syndrome and its components on prostate cancer risk: meta-analysis. *Journal of endocrinological investigation*. 2013;36(2):132-9.
41. Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ, Lucia MS, Thompson IM, Ford LG, et al. Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *Jama*. 2009;301(1):39-51.
42. Bushman W. Etiology, epidemiology, and natural history of benign prostatic hyperplasia. *The Urologic clinics of North America*. 2009;36(4):403-15, v.
43. Catalona W, Richie J, Ahmann FR, Hudson M, Scardino P, Flanigan R, et al. Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 men. *The Journal of urology*. 1994;151(5):1283- 90.

44.Semjonow A, Brandt B, Oberpenning F, Roth S, Hertle L. Discordance of assay methods creates pitfalls for the interpretation of prostate-specific antigen values. *The Prostate*. 1996;29(S7):3- 16.

45.Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ, Tangen CM, Lucia MS, Parnes HL, et al. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level $<$ or $=4.0$ ng per milliliter. *The New England journal of medicine*. 2004;350(22):2239-46.

46.Epstein JI, Walsh PC, Carmichael M, Brendler CB. Pathologic and clinical findings to predict tumor extent of nonpalpable (stage t1 c) prostate cancer. *Jama*. 1994;271(5):368-74.

47.Stephan C, Lein M, Jung K, Schnorr D, Loening SA. The influence of prostate volume on the ratio of free to total prostate specific antigen in serum of patients with prostate carcinoma and benign prostate hyperplasia. *Cancer*. 1997;79(1):104-9.

48.Nicholson A, Mahon J, Boland A, Beale S, Dwan K, Fleeman N, et al. The clinical effectiveness and cost-effectiveness of the PROGENSA® prostate cancer antigen 3 assay and the Prostate Health Index in the diagnosis of prostate cancer: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess*. 2015;19(1).

49.Auprich M, Bjartell A, Chun FK-H, de la Taille A, Freedland SJ, Haese A, et al. Contemporary role of prostate cancer antigen 3 in the management of prostate cancer. *European urology*. 2011;60(5):1045-54.

50.Carlsson S, Assel M, Sjöberg D, Ulmert D, Hugosson J, Lilja H, et al. Influence of blood prostate specific antigen levels at age 60 on benefits and harms of prostate cancer screening: population based cohort study. 2014.

51.Richie JP, Catalona WJ, Ahmann FR, M'Liss AH, Scardino PT, Flanigan RC, et al. Effect of patient age on early detection of prostate cancer with serum prostate-specific antigen and digital rectal examination. *Urology*. 1993;42(4):365-74.

52.Carvalho Gf, Smith Ds, Mager De, Ramos C, Catalona Wj. Digital rectal examination for detecting prostate cancer at prostate specific antigen levels of 4 ng./ml. or less. *The Journal of urology*. 1999;161(3):835-9.

53.Gosselaar C, Roobol MJ, Roemeling S, Schröder FH. The role of the digital rectal examination in subsequent screening visits in the European

randomized study of screening for prostate cancer (ERSPC), Rotterdam. *European urology*. 2008;54(3):581-8.

54. Stephan C, Klaas M, Müller C, Schnorr D, Loening SA, Jung K. Interchangeability of measurements of total and free prostate-specific antigen in serum with 5 frequently used assay combinations: an update. *Clinical chemistry*. 2006;52(1):59-64.

55. Hara R, Jo Y, Fujii T, Kondo N, Yokoyama T, Miyaji Y, et al. Optimal approach for prostate cancer detection as initial biopsy: prospective randomized study comparing transperineal versus transrectal systematic 12-core biopsy. *Urology*. 2008;71(2):191-5.

56. Takenaka A, Hara R, Ishimura T, Fujii T, Jo Y, Nagai A, et al. A prospective randomized comparison of diagnostic efficacy between transperineal and transrectal 12-core prostate biopsy. *Prostate cancer and prostatic diseases*. 2008;11(2):134-8.

57. Roobol MJ, Steyerberg EW, Kranse R, Wolters T, van den Bergh RC, Bangma CH, et al. A risk-based strategy improves prostate-specific antigen-driven detection of prostate cancer. *European urology*. 2010;57(1):79-85.

58. W. Partin A. Ultrasonografi ve prostat biyopsisi. In: Yaman Ö. , editor. *Campbell-Walsh Üroloji 10 ed*: Saunders/Güneş Tıp Kitabevleri 2014. p. 2735-2747.

59. N. mottet, J. Bellmunt, E. Briers, et al. Diagnostic evaluation. EAU guidelines on prostate cancer. *European urology*. 2016;14-27.

60. N. mottet, J. Bellmunt, E. Briers, et al. Diagnostic evaluation. EAU guidelines on prostate cancer. *European urology*. 2016;14-27.

61. Iczkowski KA, Casella G, Seppala RJ, Jones GL, Mishler BA, Qian J, et al. Needle core length in sextant biopsy influences prostate cancer detection rate. *Urology*. 2002;59(5):698-703.

62. N. mottet, J. Bellmunt, E. Briers, et al. Diagnostic evaluation. EAU guidelines on prostate cancer. *European urology*. 2016;14-27.

63. Bianco FJ, Scardino PT, Eastham JA. Radical prostatectomy: long-term cancer control and recovery of sexual and urinary function (“trifecta”). *Urology*. 2005;66(5):83-94.

64. Droz J-P, Balducci L, Bolla M, Emberton M, Fitzpatrick JM, Joniau S, et al. Background for the proposal of SIOG guidelines for the management of

prostate cancer in senior adults. Critical reviews in oncology/hematology. 2010;73(1):68-91.

65. Bill-Axelson A, Holmberg L, Garmo H, Rider JR, Taari K, Busch C, et al. Radical prostatectomy or watchful waiting in early prostate cancer. New England Journal of Medicine. 2014;370(10):932-42.

66. Bostwick D.G., Surgical pathology of the prostate, Chapter 32, in Modern Surgical Pathology, Ed: Widner N., Cote R.J., Suster S., Weiss L.M., Elsevier Science, Philadelphia, 1st ed, 2003: 1149-1196

67. Epstein JI. The prostate and seminal vesicles. Carter D, Reuter VE, Greenson JK, Stoler MH, Oberman HA (eds). Stenberg's diagnostic surgical pathology, Volume 2. Fourth ed. Philadelphia, Baltimore. Lippincott Williams & Wilkins 2083-2132, 2004.

68. Young R.H., Srigley J.R., Amin M.B., Ulbright T.M., Cubilla A.L.: Tumors of the prostate gland, seminal vesicles, male urethra and penis. Armed Forces Institute of Pathology. Washington, D.C, 2000; 1-344

69. Damjanov I., Linder J., Male Reproductive System, Chapter 67, in Anderson's Pathology, Ed: Damjanov I, 10th ed, Vol: II, Mosby- Year Book Inc, Missouri, 1996: 2197-2219

70. Epstein JI, Egevad L, Amin MB, Delahunt B, Srigley JR, Humphrey PA, et al. 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. The American journal of surgical pathology. 2016;40(2):244-52

71. Danneman D, Wiklund F, Wiklund NP, Egevad L. Prognostic significance of histopathological features of extraprostatic extension of prostate cancer. Histopathology. 2013;63(4):580-9.

72. John R. Srigley M, FCAP*, Peter A. Humphrey M, PhD, FCAP*, Mahul B. Amin, MD, FCAP*, Sam S. Chang, MD, Lars Egevad, MD, Jonathan I. Epstein, MD, David J. Grignon, MD, James M. McKiernan, MD, Rodolfo Montironi, MD, Andrew A. Renshaw, MD, Victor E. Reuter M, Thomas M. Wheeler, MD, FCAP, Ming Zhou, MD, PhD, FCAP†. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma of the Prostate Gland Collage of American Pathologists. 2012.

73. Paluru S, Epstein JI. Does the distance between tumor and margin in radical prostatectomy specimens correlate with prognosis: relation to tumor location. Human pathology. 2016;56:11-5

74. Stephenson AJ, Eggener SE, Hernandez AV, Klein EA, Kattan MW, Wood DP, et al. Do margins matter? The influence of positive surgical margins on prostate cancer-specific mortality. *European urology*. 2014;65(4):675-80.
75. Cao D, Humphrey PA, Gao F, Tao Y, Kibel AS. Ability of linear length of positive margin in radical prostatectomy specimens to predict biochemical recurrence. *Urology*. 2011;77(6):1409-14.
76. Emerson RE, Koch MO, Daggy JK, Cheng L. Closest distance between tumor and resection margin in radical prostatectomy specimens: lack of prognostic significance. *The American journal of surgical pathology*. 2005;29(2):225-9.
77. Van Der Kwast TH, Amin MB, Billis A, Epstein JI, Griffiths D, Humphrey PA, et al. International Society of Urological Pathology (ISUP) consensus conference on handling and staging of radical prostatectomy specimens. Working group 2: T2 substaging and prostate cancer volume. *Modern Pathology*. 2011;24(1):16-25.
78. Meng Y, Li H, Xu P, Wang J. Do tumor volume, percent tumor volume predict biochemical recurrence after radical prostatectomy? A meta-analysis. *International journal of clinical and experimental medicine*. 2015;8(12):22319
79. Gravis G, Fizazi K, Joly F, et al. Androgen-deprivation therapy alone or with docetaxel in non-castrate metastatic prostate cancer (GETUG- AFU 15): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013;14:149-158.
80. Bernard B, Sweeney CJ. Management of metastatic hormone- sensitive prostate cancer. *Curr Urol Rep* 2015;16:14.
81. Hussain M, Tangen CM, Higano C, et al. Absolute prostate-specific antigen value after androgen deprivation is a strong independent predictor of survival in new metastatic prostate cancer: data from Southwest Oncology Group Trial 9346 (INT-0162). *J Clin Oncol* 2006;24:3984-3990.
82. Tannock IF, de Wit R, Berry WR, et al. Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *N Engl J Med* 2004;351:1502-1512.
83. Wang J, Halford S, Rigg A, et al. Adjuvant mitoxantrone chemotherapy in advanced prostate cancer. *BJU Int* 2000;86:675-680.
84. Mackler NJ, Pienta KJ, Dunn RL, et al. Phase II evaluation of oral estramustine, oral etoposide, and intravenous paclitaxel in patients with

hormone-sensitive prostate adenocarcinoma. Clin Genitourin Cancer 2007;5:318-322.

85.Millikan RE, Wen S, Pagliaro LC, et al. Phase III trial of androgen ablation with or without three cycles of systemic chemotherapy for advanced prostate cancer. J Clin Oncol 2008;26:5936-5942.

86.Saad, F. Zoledronic acid significantly reduces pathologic fractures in patients with advanced-stage prostate cancer metastatic to bone. Clin Prostate Cancer 2002; 1, 45 152

87.Schulz, W. A. (2005). Molecular biology of human cancers (Vol. 464): Springer.

88.Pazarbaşı, A., Kasap, H., & KASAP, M. (2011). Kanser Yolakları. Arşiv, 20, 187- 229.

89.Artavanis-Tsakonas, Spyros, Matthew D. Rand, and Robert J. Lake. "Notch signaling: cell fate control and signal integration in development." *Science* 284.5415 (1999): 770-776.

90.Acar, M., Jafar-Nejad, H., Takeuchi, H., Rajan, A., Ibrani, D., Rana, N. A., Bellen, H. J. (2008

91.Kidd, S., Kelley, M. R., & Young, M. W. (1986). Sequence of the notch locus of *Drosophila melanogaster*: relationship of the encoded protein to mammalian clotting and growth factors. *Molecular and cellular biology*, 6(9), 3094-3108.

92.Ohishi, K., Varnum-Finney, B., Flowers, D., Anasetti, C., Myerson, D., & Bernstein, I. D. (2000). Monocytes express high amounts of Notch and undergo cytokine specific apoptosis following interaction with the Notch ligand, Delta-1. *Blood*, 95(9), 2847-2854.

93.Yağcı, Emine and Hasan Vrysi Güneş."Notch Sinyal Yolağı ve Karsinogenez"(2017)

94. Kramer, Helmut "RIPping notch apart: anew role for endocytosis in signal transduction?." *Science Signaling* 2000.29(2000):pel-pel.

95.Kopan, Raphael. "Notch: a membrane-bound transcription factor." *Journal of cell science* 115.6(2002):1095-1097.

- 96.Kerr, J. F., Wyllie, A. H., & Currie, A. R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *British journal of cancer*, 26(4), 239.).
- 97.Dang, T. P. (2012). Notch, apoptosis and cancer Notch Signaling in Embryology and Cancer (pp. 199-209): Springer.
- 98.Beverly, L. J., Felsher, D. W., & Capobianco, A. J. (2005). Suppression of p53 by Notch in lymphomagenesis: implications for initiation and regression. *Cancer research*, 65(16), 7159-7168.
- 99.Boggs, K., Henderson, B., & Reisman, D. (2009). RBP-J κ binds to and represses transcription of the p53 tumor suppressor gene. *Cell biology international*, 33(3), 318-324.
- 100.Beg, William, Bronson, Ghosh, & Baltimore, 1995; White, Roy, & Gilmore, 1995
- 101.Cheng, P., Zlobin, A., Volgina, V., Gottipati, S., Osborne, B., Simel, E. J., Gabrilovich, D. I. (2001). Notch-1 regulates NF- κ B activity in hemopoietic progenitor cells. *The Journal of Immunology*, 167(8), 4458-4467.
- 102.Oakley, F., Mann, J., Ruddell, R. G., Pickford, J., Weinmaster, G., & Mann, D. A. (2003). Basal expression of I κ B α is controlled by the mammalian transcriptional repressor RBP-J (CBF1
- 103.Kubista, M., Andrade M., Forootan, A., Jonák, J., Lind, K., et al. The real- timepolymerase chain reaction *Mol Aspects Med* 2006;27:95-125., J.M., Bengtsson.67
- 104.Ma, H., Shieh, K.J., Chen, G., Qiao, XT., Chuang M.Y. Application of Real-time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) . *The Journal of American Science*, 2(3),2006.
- 105.Ünlü, A. PCR&Real Time PCR.ppt..
- 106.Wakeham, A., et al. "Conservation of the Notch signalling pathway in mammalian neurogenesis." *Development* 124.6 (1997): 1139-1148.
- 107.Shou, Jianyong, et al. "Dynamics of notch expression during murine prostate development and tumorigenesis." *Cancer research* 61.19 (2001): 7291-7297.

108.Wang, Songli, et al. "Notch receptor activation inhibits oligodendrocyte differentiation." *Neuron* 21.1 (1998): 63-75.

109.Brown, Mick D., et al. "Characterization of benign and malignant prostate epithelial Hoechst 33342 side populations." *The Prostate* 67.13 (2007): 1384-1396.

110.Stoyanova, Tanya, et al. "Activation of Notch1 synergizes with multiple pathways in promoting castration-resistant prostate cancer." *Proceedings of the National Academy of Sciences*(2016): 201614529.

111.Soylu, Hakan, et al. "Characterization of Notch Signalling Pathway Members in Normal Prostate, Prostatic Intraepithelial Neoplasia (PIN) and Prostatic Adenocarcinoma." *Pathology & Oncology Research* 22.1 (2016): 87-94.

112.Ye, Qi-Fa, et al. "siRNA-mediated Silencing of Notch-1 Enhances Docetaxel Induced Mitotic Arrest and Apoptosis in PCa Cells." *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 13.6 (2012): 2485-2489

113.Zayzafoon, Majd, Sarki A. Abdulkadir, and Jay M. McDonald. "Notch signaling and ERK activation are important for the osteomimetic properties of prostate cancer bone metastatic cell lines." *Journal of Biological Chemistry* 279.5 (2004): 3662-3670.

114.Domingo-Domenech, Josep, et al. "Suppression of acquired docetaxel resistance in prostate cancer through depletion of notch-and hedgehog-dependent tumor-initiating cells." *Cancer cell* 22.3 (2012): 373-388

115.Zhu, He, et al. "Elevated Jagged-1 and Notch-1 expression in high grade and metastatic prostate cancers." (2013): 410-410.)

