



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

PROSTAT ADENOKARSİNOMUNDA PCR İLE TMPRSS2- ERG GEN FÜZYONUNUN GÖSTERİLMESİ

DR. CANSU ABAYLI

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ŞEYDA ERDOĞAN**

ADANA - 2014



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

PROSTAT ADENOKARSİNOMUNDA PCR İLE TMPRSS2- ERG GEN FÜZYONUNUN GÖSTERİLMESİ

DR. CANSU ABAYLI

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ŞEYDA ERDOĞAN**

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından
TF2013LTP13 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

ADANA - 2014

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince, sabırla ve özverili bir şekilde çalışmamla ilgilenen, bilgi ve tecrübelerini bana aktaran, sayın tez hocam Prof. Dr. Şeyda Erdoğan'a teşekkürlerimi sunarım. Saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Gülfiliz Gönlüşen, Prof. Dr. Suzan Zorludemir, Prof. Dr. Figen Doran, Prof. Dr. Melek Ergin, Prof. Dr. Derya Gümürdülü, Prof. Dr. Aysun Uğuz, Yard. Doç. Dr. Arbil Açıklan, Yard. Doç. Dr. Emine Kılıç Bağır'a uzmanlık eğitimim boyunca mesleki tecrübelerini benimle paylaştıkları için teşekkür ederim. Büyük bir titizlikle tez çalışmamın istatistiksel değerlendirmesini yapan Prof.Dr. Gülşah Seydaoğlu'na, tezimin RT- PCR aşaması için Uzm. Biyolog Demet Aras'a, kesit alma aşaması için Sinan Özbulat ve Elif Şan' a, 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. Bahri Abaylı'ya, oğlum Göktürk Çağrı Abaylı'ya, oğlum Kürşad Abaylı'ya ve tüm yaşamım boyunca varlıkları ile beni mutlu eden anneme, babama ve kardeşlerime teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
TABLO LİSTESİ.....	VI
ŞEKİL LİSTESİ.....	VII
KISALTMALAR	VIII
ÖZET	X
ABSTRACT	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Prostat Embriyolojisi	3
2.2. Prostat Anatomisi	5
2.2.1. Lobar Anatomi.....	7
2.2.2. Zonal Anatomi.....	8
2.2.3. Prostatik Üretra	10
2.2.4. Sfinkter Mekanizması	11
2.2.5. Arteriyel Kanlanma.....	12
2.2.6. Venöz Drenaj	12
2.2.7. Lenfatik Drenaj.....	12
2.2.8. İnnervasyon	13
2.2.9. Nörovasküler Demet	13
2.3. Histoloji	13
2.4. Prostat Bezinin Fonksiyonu	17
2.5. Prostat Kanseri Etiyopatogenezi.....	17
2.5.1. Tümör Biyolojisi.....	18
2.5.2. Prostat Kanseri Gelişiminde Genetik Ve Hormonal Mekanizmalar.....	20
2.5.2.1. Hücre Yenilenmesi	20
2.5.2.2. Mutasyonlar.....	20
2.5.2.3.DNA Metilasyonu.....	20

2.5.2.4. Tümör Supressor Genleri ve Onkogenler	21
2.5.2.5. Androjen Reseptör Mutasyonları	21
2.5.2.6. Büyüme Faktörleri	22
2.5.3. Prostat Kanseri Risk Faktörleri.....	22
2.5.3.1. Yaş	22
2.5.3.2. Aile Öyküsü	22
2.5.3.3. Irk	23
2.5.3.4. Diyetle Alınan Yağ Miktarı	23
2.5.3.5. Hormonlar.....	24
2.5.3.6. Vazektomi.....	24
2.5.3.7. Kadmiyum Alımı	24
2.5.3.8. Vitamin A Alımı	24
2.5.3.9. Vitamin D Alımı.....	25
2.5.3.10. BPH	25
2.5.3.11. Enfeksiyöz Ajanlar	25
2.5.3.12. Sigara	26
2.6. Klinik Özellikler	26
2.7. Patolojik Özellikler	27
2.8. Gleason Grade ve Skorlama Sistemi.....	29
2.9. Histolojik Varyantlar ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Sınıflaması	31
2.9.1. Atrofik Varyant	31
2.9.2. Psödohiperplastik Varyant	31
2.9.3. Köpüksü Gland Varyantı	31
2.9.4. Müsinöz (Kolloidal) Karsinom.....	32
2.9.5. Taşlı Yüzük Hücreli Karsinom	32
2.9.6. Onkositik Varyant.....	32
2.9.7. Lenfoepitelyoma Benzeri Varyant	32
2.9.8. Sarkomatoid Karsinom.....	32
2.9.9. Duktal Adenokarsinom	33
2.9.10. Ürotelyal Karsinom.....	33
2.9.11. Skuamöz Hücreli ve Adenoskuamöz Karsinom	33
2.9.12. Bazal Hücre Hiperplazisi ve Karsinomu	34

2.9.13. Nöroendokrin Tümörler	35
2.9.14. Mezenkimal Tümörler.....	35
2.9.15. Hematopoietik ve Lenfoid Tümörler	36
2.10. Tümör Yayılımı ve Evreleme	39
2.11. Tedavi.....	39
2.12. Prostatik İntraepitelyal Neoplazi PIN	39
2.13. Polymerase Chain Reaction Tekniğinin Temel Prensipleri.....	40
2.13.1 PCR'da temel aşamalar	40
2.13.2. Real Time PCR	42
2.13.3. Amplifikasyon Ürünlerinin Real-Time PCR'da Tespiti	43
2.13.3.1. Çift zincirli DNA'ya bağlanan boyalar.....	43
2.13.3.2. Hedefe Özgü Problemler.....	46
2.13.4. Real Time PCR'ın Temel Fazları.....	50
2.13.5. Real Time PCR'da Kantitatif Analiz.....	52
2.13.5.1. Standart Kurve Metodu.....	52
2.13.5.2. Orantılı CT Değeri Metodu	53
2.14. TMPRSS2ERG füzyon genlerinin keşfi ve etki mekanizması	54
2.15. TMPRSS2-ERG füzyonunun PKa'nin klinik prognozundaki yeri:.....	58
2.16. ERG'nin protein-protein etkileşimi ve hedef gen etkileri.....	60
3. GEREÇ ve YÖNTEM	66
3.1. Olgu seçimi.....	66
3.2. Etik Kurul	66
3.3. Yöntem	66
3.3.1. RT-PCR Yöntemi	66
3.3.2. Dokudan Parafin Uzaklaştırılması (Deparafinizasyon).....	67
3.3.3. RNA İzolasyonu: (Roche High Pure RNeasy Kit)	67
3.3.4. cDNA AŞAMASI: (Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit)..	69
3.3.5. Real Time PCR Aşaması	69
3.3.5.1. Referans Gen + Target Gen Mix Hazırlama (REAL TIME READY).....	69
3.3.5.2. Real Time PCR Heat Protokol	70
3.3.6. İstatistiksel Analiz	70

4. BULGULAR.....	71
5. TARTIŞMA.....	81
6. SONUÇLAR	92
KAYNAKLAR.....	95
ÖZGEÇMİŞ.....	120



TABLO LİSTESİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1 : Prostat Adenokarsinomlarının Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Sınıflaması.....	37
Tablo 2: Prostat Adenokarsinomlarının Evrelendirilmesi	38
Tablo 3: BPH VE PKa olgularının Yaş, PSA, GS'na göre dağılımı.....	74
Tablo 4: BPH ve GS'a göre düşük skorlu,orta skorlu ve yüksek skorlu olguların RT-PCR ile elde edilen $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerlerine göre dağılımı.....	75
Tablo 5: BPH ve GS'larına göre sınıflandırılmış PKa olgularında TMPRSS2 ve ERG ekspresyon varlığının değerlendirilmesi.....	75
Tablo 6: BPH ve PKa olgularında TMPRSS2-ERG Gen ekspresyon varlığının PSA, GS, Sağ kalım değerlerine göre incelenmesi	76
Tablo 7: PKa tanılı hastaların GS dağılımı, sağ kalım, eksitus durumu ve takip sürelerinin değerlendirilmesi	77
Tablo8: TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu pozitif ve negatif PKa tanılı hastalarda sağ kalım	77

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 1: Prostat bezinin anatomik lobları	7
Şekil 2: McNeal tarafından tanımlanan zonal anatomi.....	9
Şekil 3. Gleason derecelendirme sistemi.....	29
Şekil 4: PCR'da temel aşamalar.....	41
Şekil 5: Real Time PCR Sistemi.....	42
Şekil 6:SYBR Green'in Kimyasal Yapısı	43
Şekil 7: Çift zincirli DNA molekülüyle birleşmiş haldeki Sybr Green I floresansı.....	44
Şekil 8: SYBR Green Yönteminin Prensibi.....	45
Şekil 9: Amplifiye edilmiş çift zincirli hedef DNA'nın Sybr Green I kullanılarak elde edilmiş termal denatürasyon kurvesi.....	46
Şekil 10: TaqMan Probe Yönteminin Prensibi.....	47
Şekil 11: Moleküler Beacon Yönteminin Prensibi.....	48
Şekil 12: FRET Yönteminin Prensibi	49
Şekil 13: Scorpiyon Primerlerle Real-Time PCR'ın Temel Prensibi	49
Şekil 14: Real Time PCR'da cevap kurvesi	50
Şekil 15: Normalize reporter signal, ΔR_n	52
Şekil 16: Standart Kurvenin Çizimi Oluşumu	53
Şekil 17: Prostat kanseri füzyon genlerinde ets faktörleri	56
Şekil 18. TMPRSS2-ERG füzyon varyantları	57
Şekil 19: TMPRSS2 Reseptörüne bağlanmış androjen, ERG transkripsiyonunu upregüle etmesi	58
Şekil 20: ETS gen füzyonlarını arttırıcı lezyon olarak gösteren prostat kanseri modeli	65
Şekil 21: Real-Time PCR ile G6PDH geninin 9:1 orandaki PAGE yürütülmesi	72
Şekil 22: Real-Time PCR ile ERG gen ekspresyonu 9:1 orandaki PAGE yürütülmesi	72
Şekil 23: Real-Time PCR ile TMPRSS2 gen ekspresyonu 9:1 orandaki PAGE yürütülmesi	72
Şekil 24: Real-Time PCR ile G6PD (Referans Gen) Amplifikasyon Eğrileri	73
Şekil 25: Real-Time PCR ile TMPRSS2 Gen ekspresyonunun Amplifikasyon Eğrileri.....	73
Şekil 26:Real-Time PCR ile ERG gen ekspresyonunun Amplifikasyon Eğrileri	74
Şekil 27: GS na göre hastaların sağ kalım ve takip süreleri	78
Şekil 28: TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu pozitif ve negatif PKa tanılı hastaların sağkalım sürelerinin değerlendirilmesi.....	79
Şekil 29: GS 6 (düşük), GS 7 (orta), GS 8 ve üzeri (yüksek) olgular:	80

KISALTMALAR

ADT	: androjen deprivasyon tedavisi
AR	: Androjen Resptörleri
BPH	: Benign Prostat Hiperplazisi
ChIP	: Chromatin Immunoprecipitation (Kromatin İmmün Presipitasyon)
CMV	: Cytomegalovirus
CRPC	: Castration-resistant prostate cancer (Kastrasyona dirençli prostat adenokarsinomu)
CT	: Threshold cycle
DHT	: Dihidrotestosteron
dNTP	: Deoksiribonükleozidtrifosfat
EGF	: Epidermal growth factor
ERG	: ETS-Related gene
ETS	: Eritroblastozis virus E26 Eritroblast Transformasyonuna Spesifik gen ailesi
FISH	: Fluorescence In Situ Hybridization
GS	: Gleason skor
H-E	: Hematoksilen-Eozin
HGPIN	: Highgrade prostatik intraepitelyal neoplazi
HMWK	: High molecular weightkeratin (Yüksek Moleküler Ağırlıklı Keratin)
HSV	: Herpes Simplex Virüs
ILGF-1	: İnsulin Light Growt Faktör (İnsülin benzeri büyüme faktörü)
OPN	: Osteopondin geni
PAP	: Prostatic acid phosphatase (Prostatik Asit Fosfataz)
PKa	: Prostat karsinomu
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PI3K	: phofoinosit-3- kinaz
PIN	: Prostatik İntraepitelyal Neoplazi
PSA	: Prostat Spesifik Antijen

PTEN	: Phosphatase and tensin homolog (Fosfataz ve Tensin homologu tümör süpresör gen)
RP	: Radikal Prostatektomi
RT-PCR	: Real Time - Polymerase Chain Reaction
ShRNA	: Short hairpin RNA
SV-40	: Simian virus-40
TGF-beta	: Transforming Growth Factor beta
TMPRSS2	: Transmembran Serin Proteaz
TTF 3	: Trefoil factor 3 (Androjen düzenleyici gen)
TUR-P	: Trans Üretral Prostat Rezeksiyonu
UPA	: Ürokinaz Plazminojen Aktivatörü
WHO	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ÖZET

Prostat Adenokarsinomunda PCR İle TMPRSS2-ERG Gen Füzyonunun Gösterilmesi

TMPRSS2 (transmembran proteaz, serin 2) promotorunun, erythroblastosis virüs E26 (Ets) gen ailesiyle füzyonu, prostat kanserinde sık olarak izlenir. TMPRSS2, androjen yanıtı bir transmembran serin proteazıdır. Ets gen ailesi, iyi korunmuş DNA bağlanma bölgesi ve N-terminal düzenleyici bölge içeren, transkripsiyon faktörleridir. Bu genlerin füzyonu, prostat tümör hücrelerinde, androjen bağımlı Ets faktör transkripsiyonuna neden olur. En yaygın füzyon TMPRSS2- ETS-ilişkili gen (ERG)'dir. Ayrıca ETV1, ETV4 ve ETV5 füzyonları da tanımlanmıştır.

Çalışmamız yaş ortalaması 64 (46-88), PSA değerleri ortalama 10,4 (0,6-116,4) olan 101 hastadan oluşmaktadır. 20 olgu BPH, 31 olgu gleason skor 6, 25 olgu gleason skor 7 ve 25 olgu gleason skor 8 ve üzeridir. Çalışmaya dahil edilen olgulardan Gleason skor 8 ve üzeri olan 14 olgu TUR-P'den, geri kalan 87 olgu radikal prostatektomi den oluşmaktadır. Olgularımıza ait parafin bloklardan, RT-PCR yöntemiyle TMPRSS2- ERG gen ekspresyonu çalışılmıştır.

Toplam 20 BPH olgusunun 8'inde (%40) ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu saptanmış, 12'sinde (%60) görülmemiştir. Otuz bir Gleason skor 6 (Düşük grade'li) olgu ve 25 Gleason skor 7(orta grade'li) olgunun tamamında ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu görülmüştür. Yirmi beş Gleason skor 8 ve üzeri (yüksek grade'li) olguda ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu izlenmemiştir ($p=0,000$) . Ekspresyon, sağ kalımla, Gleason skorla ile ilişkili bulunmuştur ($p<0,05$) ancak yaş ve PSA ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çalışmamızda, TMPRSS2/ERG ekspresyonunun düşük gleason skorlu ve periferik zon tümörü olan olgularda pozitif olduğunu saptadık. Gleason skoru yüksek olan olgularımızda TMPRSS2/ERG ekspresyonunun olmaması, bu tümörlerin transizyonel zonda yerleşmesine bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Periferik zondan gelişmiş ve genellikle radikal prostatektomi ile örneklenen tümörlerde ekspresyon varlığı, periferik ve transizyonel zondan gelişen tümörlerin farklı moleküler yollar izlediği görüşünü desteklemektedir. Bununla birlikte, tümör gelişim yolağının ilk basamaklarında, ekspresyonun daha etkin olup, ileri basamaklarda ise farklı moleküler yolların devreye girmesi olası bir diğer mekanizmadır.

Anahtar Kelimeler: ERG, Gleason, Prostat karsinomu, RT-PCR, TMPRSS2,

ABSTRACT

Demonstration Of TMPRSS2:ERG Gene Fusion By Pcr In Prostate Adenocarcinomas

Promoter of TMPRSS2 (transmembrane protease, serine 2) and erythroblastosis virus E6 (Ets) gene family fusion is common in prostate cancer. TMPRSS2 is an androgen regulated serine protease. Ets gene family is a transcription factor including a highly conserved DNA binding domain and N-terminal regulating region. The fusion of these genes lead to androgen regulated Ets factor transcription in prostatic tumor cells. Most common fusion is TMPRSS2-ETS related gene (ERG). ETV1, ETV4, and ETV5 fusions are also identified.

Our study consists of 101 patients with mean age of 64 (46-88), mean PSA level of 10,4 (0,6-116,4). Twenty cases had BPH, 31 cases had Gleason score of 6, 25 cases had Gleason score of 7, and 25 cases had Gleason score of 8 or greater. Among the cases involved in the study, 14 with Gleason score of 8 or greater obtained from TUR-P, the rest 87 obtained from radical prostatectomy. TMPRSS2-ERG gene expression was studied by RT-PCR from the paraffin-embedded blocks of our patients.

Among the whole 20 cases of BPH, ERG and TMPRSS2 expression was detected in 8 (40%) cases, wasn't detected in the remaining 12 (60%). ERG and TMPRSS2 expression was seen in all the thirty-one cases with Gleason score of 6 (low grade), and 25 cases with Gleason score of 7 (intermediate grade). ERG and TMPRSS2 expression wasn't shown in twenty-five cases with Gleason score of 8 or greater (high grade) ($p=0,000$). Expression was associated with survey, Gleason score ($p<0,05$) whereas it didn't show statistically significant association with age and PSA ($p>0,05$).

In our study, we found out that TMPRSS2/ERG expression was positive in the cases who had low Gleason score and peripheral zone tumor. The lack of TMPRSS2/ERG expression in our cases with high Gleason scores makes us to think that this might be due to the fact that these tumors are localised in the transitional zone. The existence of expression in tumors that developed from the peripheral zone, which were usually exemplified with radical prostatectomy, shows that the tumors that develop from the peripheral and transitional zones follow different molecular pathways. Nevertheless, in the first steps of tumor development pathway, expression is more effective, as another possible mechanism is different molecular pathways play role in the further steps.

Keywords: ERG, Gleason, Prostate carcinoma, RT-PCR, TMPRSS2

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Prostat karsinomu (PKa) Amerikada, erkeklerde en yaygın kanser türü olup, kansere bağlı ölümden ise ikinci sıradadır. Amerikan Kanser Topluluğunun bulgularına göre 2012'de 241,740 yeni vaka ortaya çıkmıştır ve 28,170 kişi bu hastalığa bağlı hayatını kaybetmiştir.¹ Amerika'da insidansı 206 640 ve mortalitesi 28 088'dir.² Buna göre kanserin %28.5'i ve kansere bağlı ölümlerin %3.5'i PKa'ye bağlı olarak gelişmektedir. Araştırmalar sayesinde tedavi ve erken tanı olanakları geliştirilmiş ve 5 yıllık sağ kalım uzamıştır. Fakat yine de PKa başlangıcından ve progresyonundan sorumlu olan anahtar mekanizma belirsiz olarak kalmaktadır.

Kronik Myelositer Lösemi (KML) gibi hemapoetik tümörlerde , BCR-ABL gibi gen füzyonlarının yaygın olduğu bilinmektedir fakat solid epitelyal tümörlerde bu füzyon tanımlanmamıştır. İlk PKa füzyon geni, 2005 yılında Tomlines tarafından tanımlanan TMPRSS2 ile erythroblastosis virüs E26 (Ets) gen ailesi füzyonudur.³ O zamandan beri yapılan birçok çalışma *TMPRSS2/ERG* füzyonunun prostat kanserindeki en sık genetik durum olduğunu doğrulamaktadır. Radikal prostatektomi (RP)'de ve biyopsi materyallerinde⁴⁻²⁵ ~%50 prevalans, transüretral prostat rezeksiyonu (TURP) materyallerinde rastlantısal olarak görülen tümörlerde ~%20 prevalans bildirilmiştir.^{5,6,14,26-31} Prostatın yüksek gradeli intraepitelyal neoplazisi olan vakaların küçük bir kısmında da bu füzyonun var olduğu bildirilmiştir.^{4,32-34}

TMPRSS2, androjen yanıtı bir transmembran serin proteazıdır. Ets gen ailesi, iyi korunmuş DNA bağlanma bölgesi ve N-terminal düzenleyici bölgesi olan onkogenik transkripsiyon faktörleridir. Ets, DNA bağlantı tanıma bölgesi ve protein-protein etkileşimi ile diğer transkripsiyon faktörlerinin etkileşimini sağlar. Dolayısıyla bu genlerin füzyonu ile androjene hassas TMPRSS2 promotörü ile Ets transkripsiyon faktörleri üretimi olur. Böylece androjenler ile Ets aşırı şekilde eksprese edilir ve bu Ets elemanları hedef genin ekspresyonunu indükler En yaygın füzyon TMPRSS2- ETS-ilişkili gen (*ERG*)'dir fakat yanı sıra ETV1, ETV4 ve ETV5 füzyonları da tanımlanmıştır.³ TMPRSS2-ERG füzyonunun yaygın

görülməsi diagnostik, prognostik ve tedavi açıısından potansiyel bir araç olarak dikkat çekmektedir.

Bu çalışmada, Çukurova bölgesindeki PKa olgularında TMPRSS2-ERG füzyonunun : Real Time - Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) yöntemi ile gösterilmesi ve füzyon varlığının Prostat Spesifik Antijen (PSA), gleason skoru(GS), prognoz ile ilişkisinin araştırılması hedeflenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Prostat Embriyolojisi

Ürorektal septum, embriyonal gelişimin dördüncü ve yedinci haftaları arasında kloakayı, anorektal kanal ve primitif ürogenital sinüse ayırır. Primitif ürogenital sinüs üç kısma sahiptir. En büyük kısmı yukarıda mesane oluşturur. Pelvik parçasından prostatik ve membranöz üretra gelişimi ile vezikoüretal kanal meydana gelir. Üçüncü kısım ise definitif ürogenital sinüştür. Kloaka bölünürken, mezonefrik kanalların kaudal kısımları, mesane duvarı içine doğru girererek, mezonefrik kanalların tomurcukları halinde mesaneye ayrı ayrı girerler. Mezonefrik kanal orifisleri de birbirine yaklaşarak, prostatik üretraya açılır ve ejakülatör kanalları meydana getirir.^{35,36} Mesane komşuluğunda bulunan ürogenital sinus (pelvik üretra) daralması ile, prostatik ve membranöz üretranın aşağı kısmı meydana gelir. Embriyolojik olarak pelvik üretranın kranial yarısı, endodermal ürogenital sinustan çıkar. Arka kısımda, mesaneden kaynağını alan mezonefrik mezodermin bir kısmı, pelvik üretrayı içine alır. Gelişimin daha sonraki evrelerinde, mezenkim düz kaslara dönüşür, bu düz kaslar da mesane ile devam eder. Pelvik üretranın kaudal yarısı tamamen ürogenital sinustan kaynaklanır.^{37,38}

Verumontanumun her iki yanında ürogenital sinusun posterior tarafında birleşmiş bir şekilde 5 tane epitelyal tomurcuk oluşur ve bunlar daha sonra prostatı oluşturmak üzere mezenkime invaze olurlar. Tomurcukların tepede birleşmesi ile prostatın mezoderm orijinli iç zonu meydana gelir. Aşağı tomurcuklar ise endoderm orijinlidir ve prostatın dış zonunu meydana getirir. Bu durum önemlidir, çünkü kanser primer olarak dış zondan orijin alırken, Benign Prostat Hiperplazisi (BPH) iç zondan orijin alır. Prostatın iç ve dış zonu üretranın etrafında konsantrik bir daire olarak gelişim gösterir. Dış yandaki uzun dallanmış kanallar, gerçek prostat dokusunun dıştaki kalın tabakasını oluşturur. Merkez kısmı mukozal ve submukozal glandları, ejakulator kanalları ve prostatik utrikulu içerir.³⁹

20-30. haftalarda tomurcuk aşamasında, periferinde prizmatik, merkezinde spindle hücreleri ile duktusların sonunda solid hücreli tomurcuklar oluşur. 31-36. haftada tomurcuklanan tübül yapılarında hücreli tomurcuklar ve asiner yapılar içinde küçük koleksiyonlar oluşmaya başlar. Sonrasında asinotubuler kümelerin lobüler organizasyonu dikkati çeker. Fötal prostatta, üretra ve prostatik duktusların skuamöz metaplazisi yaygın olarak görülür. Bu metaplazi doğumdan sonra tedrici olarak kaybolur. Gebeliğin 31-36 haftasından sonra, prostatın temel yapısı tam olarak oluşturulmuştur. Doğumdan sonra, prostat büyüklüğü 10-12 yaşa kadar sabit kalır, ancak perferde solid tomurcuklanma oluşumu devam eder. Pubertel dönemde salgılanan androjen miktarındaki artış bezin boyutunda artışa neden olurken immatür prostatik epitelin farklılaşması da hız kazanır.⁴⁰

Prostatın büyümesi ve gelişmesi, gestasyonun aşağı yukarı 8. haftasında başlayan, fötal testislerden androjen üretime bağlıdır. Wolf kanalından köken alan organların gelişimi sadece testosterona bağlı olduğu halde, ürogenital sinusun diferansiasyonu, 5 α redüktaz ile testosterondan üretilen dihidrotestosterona (DHT) bağımlıdır. DHT, ürogenital sinusun pelvik kısmından prostatın büyümesi ve gelişmesi için gereklidir. Prostat glandı gebeliğin 4. ayında iyice farklılaşır.^{37,41} Verumontanumun içinde bulunan prostatik utrikul, Müller kanalı kalıntısıdır ve küçük bir kese şeklindeki utrikulun orifisi verumontanumun merkezinde yer alır. İki ejakulator kanalın orifisleri bu orifisin yanlarına açılırlar. Utrikulun boyu 1-5 mm arasındadır, fakat 11 mm kadar olabileceği de bildirilmiştir. Wolf kanalından orijinini alan prostatik loblar androjen stimülasyonu etkisi ile gelişirken, müller kanalından kaynaklanan prostatik utrikul ise östrojen stimülasyonu etkisi ile gelişir.⁴² Seminal veziküller, epididim, vas deferens ve ejakulator kanallar fötal testosteron tarafından uyarılan wolfian (mezonefrik) kanallarından gelişir. Prostatın santral zona Wolfian orijinelidir.⁴⁰

Puberte öncesinde ise duktal hiperplazi belirgindir. Gelişim çağlarında prostatik duktus tomurcuklarının uçları daha çok açıklık göstermektedir. Bu dönemde glanddaki stromal komponent, epitelyal komponentten daha fazladır.⁴³

Prostatın 1- 10 yaşları arasındaki ortalama ağırlığı 1.4 ± 0.4 gramdır.⁴⁴ Ergenlik döneminde bezin boyutunda androjen odaklı belirgin bir artış vardır. 20 yaş civarı, ortalama prostat büyüklüğü yaklaşık 20 gram ağırlığındadır ve en fazla 30 yıl için sabit kalmaktadır. Gland büyüklüğü 50 yaştan sonra gelişen benign prostatik hiperplaziye sekonder olarak transizyonel zonun genişlemesi ile gland boyutunda artım olur.³⁵ Pubertedeki prostat dokusunda epitel yapı, stromal yapıdan fazladır. İnsanlarda 11-20 yaşlarında prostatın ortalama ağırlığı 10.8 ± 3.8 gramdır. 21-30 yaş grubunda prostatın ortalama ağırlığı 18 ± 4 gramdır. 60 yaşına kadar sadece birkaç gram artış görülür. 60 yaşlarında prostatın ağırlığı giderek artar, 71-80 yaş grubunda 30 ± 1.3 gram ve 81-90 yaş grubu nda ise 30.8 ± 2.8 gram olmaktadır.^{43,44}

Prostat gelişme bozukluğu nadirdir; aplazi, hipoplazi, kistik değişiklik ve mezonefrik kalıntıları içerir. Aplazisi ve hipoplazisi androjen eksikliği ile ilişkilidir. Kistik değişiklikler nadirdir. Utricular ve Müller kanal kisti, ejakülasyon kanal kisti, vas deferens kist ve seminal vezikül kisti de dahil olmak üzere, konjenital veya edinsel olabilir ve nadiren klinik belirtiler verir. Kistler ejakülasyon kanal tıkanıklığı nedeniyle infertilite ile ilişkili olabilir. Stromal desmoplazi olmadan düz kas demetleri arasında infiltratif büyüme gösteren benign asinilerin proliferasyonu nedeni ile prostat mezonefrik kalıntıları adenokarsinomu taklit edebilir.⁴⁰

2.2. Prostat Anatomisi

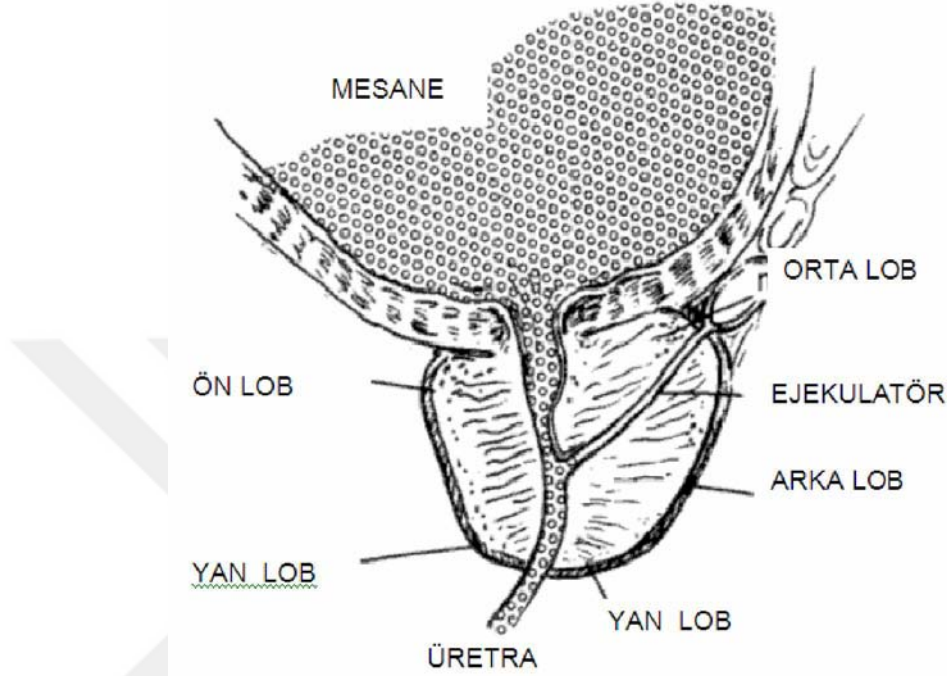
Prostat, erkek üretrasının proksimal kısmını çevreleyen ve mesanenin alt kısmında yerleşen, fibromüsküler ve glandüler bir organdır.³⁸ Normal prostat glandı 18 gram ağırlığında, 3 cm uzunluğunda, 4 cm genişliğinde, 2 cm kalınlığında olup, içerisinden üretra geçmektedir. Prostat dış yüzeyinde kollajen, elastin ve yoğun düz kasdan oluşmuş bir kapsül yer alır. Kapsülün posterior ve lateralde ortalama kalınlığı 0,5 mm olup bu alanlar normal glandlar tarafından parsiyel olarak işgal edilir. Kapsül, prostatın anterior ve anterolateral yüzeylerinde endopelvik fasya ile karışır. Puboprostatik ligamanlar apekse doğru prostatı pubik kemiğe asmak üzere anteriora doğru uzanırlar. Prostat lateralde, levator ani'nin pubokoksik kısmı ile komşu olup levator ani üzerindeki endopelvik fasya ile ilişkilidir. Paryetal ve visseral endopelvik fasyanın birleştiği

yerin altında (pelvik arkus tendinöz fasya) pelvik fasya ve prostat kapsülü birbirinden ayrılır, arada oluşan boşluğu, yağlı areolar doku ve dorsal ven kompleksinin lateral bölümü doldurur.⁴⁵ Ters koni şeklindeki prostat bezinin tabanı mesane tabanına oturur ve bu yapı ile devamlılık içindedir. Apeksi ise inferiorda, ürogenital diaframın süperior fasyası üzerine uzanır. Prostatın, 2 adet inferolateral, posterior ve anterior yüzeyi vardır. Rektum ampullası önünde posterior yüzey bulunur ve bu yapıdan kendi kapsülü ve Denonvillier fasyası ile ayrılır.⁴⁶ Bu yüz ayrıca üst kısmında seminal veziküller ve vaz deferenslerin ampullası ile komşudur. Simfizis pubisin yaklaşık 2 cm arkasında anterior yüz yer alır ve bu iki yapı arasında gevşek yağ dokusu ve çok zengin bir venöz pleksus vardır. Puboprostatik ligamanlar ile bu yüz apekse yakın kısımda pubik kemiğe bağlıdır. Levator ani kasının ön kısımları ile inferolateral yüzler ilişki içindedir ve bu kas ile aralarında yine zengin venöz pleksus yapıları bulunur.³⁸

Prostatın apeksi çizgili üretral sfinkter ile devam eder. Prostatın tabanında detrüsrün dış longitudinal lifleri birbirine karışarak, kapsülün fibromusküler dokusu ile harmanlanır. Orta sirküler ve iç longitudinal kaslar prostatik üretradan aşağı doğru preprostatik sfinkter olarak uzanırlar. Apekte olduğu gibi gerçek kapsül prostatı mesaneden ayırmaz. Cerrahi olarak rezeke edilmiş prostat kanserlerinde bu özel anatomik oluşum, bu sınırların zor yorumlanmasına neden olur. Bu nedenle prostatın gerçek bir kapsülü olmadığına inanılır.⁴⁵

Fibröz doku yapısında, içinde zengin venöz pleksuslar bulunan prostat kılıfı, prostatı sarar. Bu kılıf önde puboprostatik ligaman ile devamlılık gösterir, inferiorda transversus perinei kasının fasyası ile, posteriorda ise rektum ile prostatı birbirinden ayıran Denonvillier fasyası ile birleşir. Denonvillier fasyası embriyolojik dönemde pelvik tabana doğru ilerleyen rektovezikal peritoneal boşluğun daha sonra oblitere olması ile prostat ile rektum arasında önemli bir cerrahi ve anatomik bariyer işlevi görür.³⁸ Yaklaşık 2.5 cm uzunluğundaki posterior üretra, prostat içinden geçerken, apeks ve bazis arasındaki mesafenin hemen tam ortasında, öne doğru yaklaşık 35 derecelik bir açı yapar. Prostata posteriordan giren ejakülatör kanallar, oblik bir seyirle öne ve aşağı doğru

ilerleyerek eksternal (çizgili) üriner sfinkterin hemen proksimalinde prostatik üretranın arka duvarında verumontanum içinden prostatik üretraya açılırlar.⁴⁷



Şekil 1: Prostat bezinin anatomik lobları⁴⁸

2.2.1. Lobar Anatomi

Lowsley, 1912 yılında embriyolojik gelişim sürecine dayanarak prostat bezini 5 loba ayırmıştır (Şekil 1).⁴⁸ Buna göre, gestasyonun onbirinci ile onaltıncı haftaları arasında ürogenital sinüsü oluşturacak şekilde dallanan 5 grup epitelyal tomurcuk vardır. Dallanmalar arttıkça üretrayı çevreleyen kompleks bir duktus sistemi oluşur ve ön, arka, median ve iki yan lob olarak 5 prostat lobu ortaya çıkar.⁴⁸ Prostat bezi anterior, posterior ve iki inferolateral olmak üzere dört yüze sahiptir.

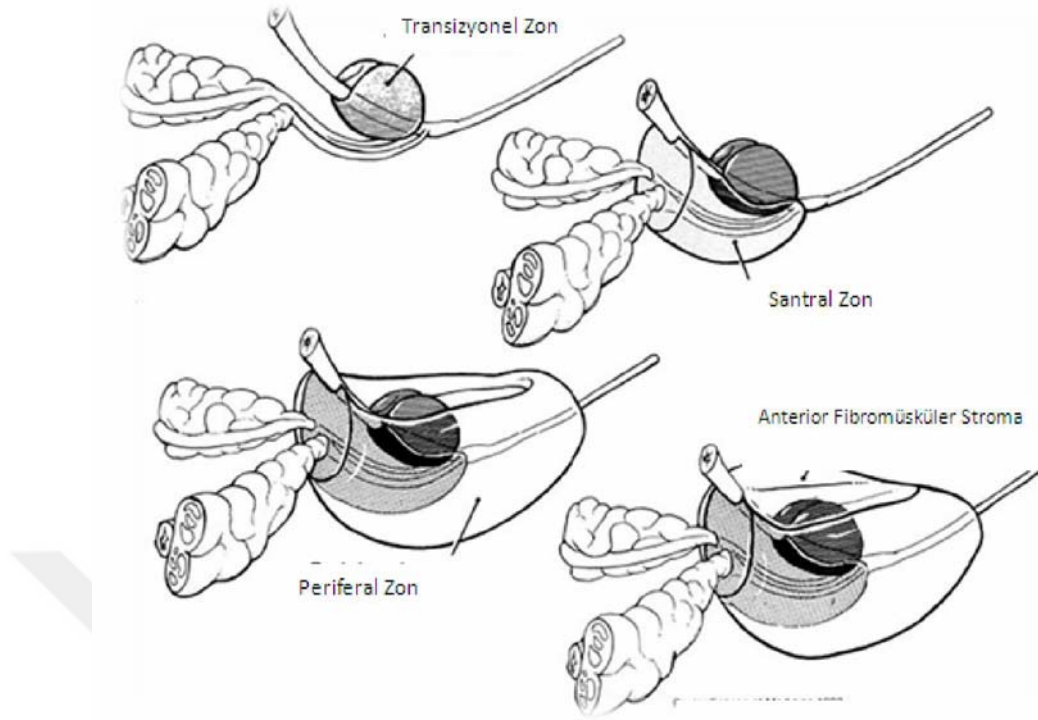
Posterior yüzü üst kısmından delerek bez içine giren ejakulatör duktuslar orta hatta doğru oblik şekilde seyrederek, verumontanum düzeyinde prostatik üretranın arka yüzüne açılırlar ve bu yüzü üst ve alt olmak üzere ikiye ayırırlar. Boyutları değişken olan üst parça median lobun dış yüzünü yapar. Median

lobun ön yüzünde üretra, arka yüzünde ejakülatuar duktuslar yer alır. Zengin bez yapısı içeren üst kısmı ise mesane trigonu ile ilişkidir. Daha büyük olan alt parça ise median sulkusla sağ ve sol lateral loblara ayrılarak üretranın arkasına uzanır. Ejakülatuar duktusların arkasında, arka lob yer alır. Ön lob ise diğer loblara göre daha az glandüler doku içerir ve fibromusküler bir bant olarak üretranın ön kesiminde yer alır ki bu yapıya anterior fibromusküler stroma denir.⁴⁹

2.2.2. Zonal Anatomi

Cerrahi uygulamalara uygunluğu nedeniyle, prostat bezinin zonal anatomisi klinik pratikte daha fazla kullanılmaktadır. Santral zon ve periferik zon olmak üzere 2 ana alan vardır. Prostat dokusunun % 95'ini bu iki alan oluşturur. Geriye kalan kısmını ise transizyonel zon, anterior fibromusküler stroma ve periüretral glandüler zon oluşturur.⁴⁸ Prostatın anatomik incelenmesinde, McNeal tarafından kazandırılan zonal anatomi kavramı ve sınıflaması kullanılmaktadır. Bu sınıflamaya göre prostat periferik zon, santral zon, transizyonel zon, anterior fibromusküler stroma ve preprostatik sfinkterik zondan oluşmaktadır.^{50,51}

Periferik zon, prostat dokusunun yaklaşık % 70'ini oluşturan, ağırlıklı olarak glandüler elemanlar içeren en geniş parçasıdır. Apikal, posterior ve lateral prostatik dokunun büyük kısmını oluşturur. Verumontanumun distalinde apekse yaklaşıldıkça üretrayı doğrudan periferik zon sarar (Şekil 2).^{50,51}



Şekil 2: McNeal tarafından tanımlanan zonal anatomi^{50,51}

Prostat kanserlerinin en az % 70'i periferik zondan gelişir. Bezin periferinde yerleşimi ve rektal ampulla komşuluğunda geniş arka yüzünün olması nedeniyle bu durum, parmakla rektal muayene sırasında patolojinin tespit edilme şansını artırır. Bu şekilde sert nodüllerin yanı sıra, bezdeki ısı artışı ve hassasiyet gibi başka bulgular da saptanabilir.⁴⁸

Santral zon; ejakülatuar duktusları çevreler ve mesane boynuna doğru uzanır. Glandüler dokulardan oluşur. Verumontanumun arkasında üretrayı saracak biçimde yerleşmiştir. Düz yüzü prostat tabanında, uç kısmı verumontanuma doğru uzanan koni şeklindedir. Hiperplastik yapıdaki bir prostat bezinde toplam glandüler dokunun yaklaşık % 25'ini santral zon oluşturur. Santral ve transizyonel zonlar birbirine bitişik yerleşimli olduklarından birbirinden ayırt edilmeleri zordur.⁴⁸

Periferik zon; prostat kanserinin en sık köken aldığı zon olup, prostat glandüler dokusunun yaklaşık %70-75'ini oluşturur ve baziste prostatın posterior bölümünü yapar, apekse doğru ise anteriora uzanarak apeks hizasında üretrayı

tamamen çevreler. Prostat kanseri yaklaşık %10 oranında santral zondan kaynaklanır.

Transizyonel zon, küçük periüretral bezlerin hemen periferinde yer alan daha kompleks yapıli glandlardan oluşur. Benign prostat hiperplazisinin esas kaynaklandığı yer tansizyonel zondur. Prostat kanserinin ise yaklaşık %10'u transizyonel zondan kaynaklanır.

Anterior fibromüsküler stroma kalın bir bağ dokusu kılıfı yapısındadır ve glandüler yapılardan yoksundur. Prostat kapsülünün anterior kısmını oluşturarak prostatın ön yüzünü tamamen kaplar. Bu yapı mesane boynundan başlayarak prostatik üretranın tüm ön yarısını sarar, apeks yakınında ise dış sfinktere lifler verir. Bu şekilde prostatik üretranın ön yüzünde tam olmayan bir sfinkterik yapı oluşur. Verumontanumun süperiorunda üretral düz kas elemanlarının yoğunlaşması ile preprostatik sfinkter oluşur ve sfinkter mekanizmasına yardımcı olur. Ayrıca retrograd ejakülasyonu önlemede de görev alır.^{36,38,46,51}

Transizyonel zon, distal ve proksimal üretranın birleşim yerinde üretranın hemen çevresinde yeralan küçük bir grup glandüler elemandan oluşmuştur.⁵² Prostatın % 5-10'unu oluşturur. Buna rağmen fonksiyonel önemi fazladır. Benign prostat hiperplazisinin köken aldığı zondur ve Benign Prostat Hiperplazi'li (BPH) hastalarda bezin en hacimli kısmıdır.⁴⁹

2.2.3. Prostatik Üretra

Prostat tabanının santral kesiminden bez içine giren prostatik üretra, koninin daralan kısmında apeksin ön yüzünün altından ürogenital diyafram düzeyinde bezden ayrılır.⁵³ 3-4 cm uzunluğundaki prostatik üretra, verumontanum (seminal kollikulus) ile iki segmente ayrılır. Proksimal (supramontanal) segment, mesane boynundan ejakülatuar duktusların verumontanuma girişine kadar olan kısımdır. Üretra bu düzeyde öne doğru 35-45 derecelik bir dönüş yapar. Distal (inframontanal) segment ise verumontanumdan membranöz üretraya kadar olan kısımdır. Supramontanal üretra transizyonel epitelle döşelidir. Musküler stroması detrüsör kası ile

devamlılık gösterir. İnframontanal üretra ise distal üretraya benzer şekilde pseudostratifiye ya da stratifiye kolumnar epitelle döşelidir.⁴⁸

2.2.4. Sfinkter Mekanizması

Prostat bezinin tabanı ve mesane boynundaki kaslar her iki organı kesintisiz olarak sarar. M.detrüsöre ait iki kat kas tabakası şeklindeki lifler mesane boynunun ilerisine uzanarak prostatik üretranın kapanmasına yol açar. Orta sirküler lifler prostat içine uzanmaz, mesane boynu düzeyinde aniden sonlanır, iç longitüdinall lifler ise tüm prostatik üretra boyunca uzanırlar. Dış longitüdinall lifler ise proksimal üretrayı 1-1.5 cm'lik bir segmentte çepeçevre sararak distalde prostatik doku ile devamlılık gösterirler. Yüzeyel trigon kökenli kas lifleri krista üretralis olarak devam ederek verumontanum düzeyinde ejakülatör duktus kas yapısına katılırlar, sempatik etki ile ejakülasyon sırasında duktusun açılmasını sağlarlar. Derin trigondan köken alan kas lifleri ise supramontanal prostatik üretra içine ve çevresine uzanırlar. Esas olarak sempatik kontrol altındadırlar. Ejakülasyonda kasılarak seminal sıvının retrograd kaçışına engel olarak, üriner sfinkter mekanizmasında, yapısal ve fonksiyonel olarak ayrı bir genital sfinkter olarak görevi yaparlar. Ayrıca bu kaslar seksüel uyarı ile kasılarak üretral krestini arkaya, prostatik sinüsleri öne çekerek üretrayı dilate eder, ejakülasyon öncesi seminal sıvı miktarını artırır.⁴⁹ Verumontanum distalindeki sfinkter mekanizmasının iki ayrı komponenti mevcuttur: İntrensek komponent, inframontanal prostatın dens musküler stroması ve periüretral kas yapısıdır. Hem düz hem de çizgili kas liflerinden oluşan periüretral kaslar inframontanal prostattan bulbar üretraya kadar uzanan bir tüp yapısı oluşturacak şekilde organize olmuştur. Bu periüretral tüp yapısının pelvik tabandan geçtiği kısma eksternal (prostatomembranöz) sfinkter denir. Sonuçta intrensek periüretral kaslar ve pelvik taban düzeyindeki çizgili kas demetleri birlikte üretral sfinkter mekanizmasını oluştururlar.⁴⁸

2.2.5. Arteriyel Kanlanma

Prostatovezikal arter, prostat kanlanmasının büyük bir bölümünü yapar. Bu arter genellikle internal iliak arterin gluteopudental dalından kaynaklanmakla birlikte süperior vezikal arter, tek bir vezikülodeferansiyal arter ve hatta internal pudental veya obturator arterden de kaynaklanabileceği bilinmektedir. Prostatovezikal arter levator ani üzerinden mesane tabanına doğru yaklaşarak inferior vezikal ve prostatik arter olarak iki dala ayrılır. Prostatik arter ise prostat bazisinde iki dala ayrılır. Bunlardan posterolateral dal majör olan daldır ve prostatın büyük bir kısmının kanlanmasını sağlar. Anterior dal ise sadece anterolateral kısımların kanlanmasından sorumludur.^{38,46}

Prostat bezinin süperolateral kesimi bazen orta ve üst rektal arterlerden de beslenebilir. Prostatik arterin üretral dalları mesane boynu düzeyinde kapsül içine girer ve transizyonel zonu beslerler. Üretraya dik olarak prostatı kateder ve lateral loblar boyunca uzanırlar. Kapsüler dalları ise daha distalde kapsül içine girer, santral ve periferik zonları beslerler.⁴⁸

2.2.6. Venöz Drenaj

Parankim içindeki venüller birleşerek prostatik venöz pleksusa (dorsal ven kompleksi) dökülürler. Bu pleksusun yapısında kapakçıklar yoktur ve puboprostatik ligamanlar arasında yerleşmiştir. Penisin derin dorsal veni simfizis pubis arka ve alt bölümünde bu pleksusla birleşir. Prostatik venöz pleksusun bir kısmı vezikal venöz pleksusa ve bu yolla internal pudental vene dökülür, büyük bir kısmı ise inferior vezikal venlere ve bu yolla internal iliak venlere dökülür.^{38,46}

2.2.7. Lenfatik Drenaj

Major lenf damarları prostattan prostatik artere eşlik ederek ayrılırlar. Ayrıca vezikülo deferensiyal arter ve ejakülatör kanallara eşlik eden lenf damarları ve kapsüler lenfatik sistemden kaynaklanarak diğer arterleri takip eden lenf damarları da vardır. Prostattan ayrılan lenf damarları obturator, eksternal iliak ve internal iliak lenf ganglionlarına drene olurlar. Bu bölgelerin drenajı ise ana iliak lenf nodları ve daha sonra preaortik lenf nodlarına olur.

Prostatından çıkan bazı az sayıda lenfatikler ise sakral ve presiyatik lenf nodlarına dökülürler.^{38,46}

2.2.8. İnnervasyon

Prostat hem sempatik hem de parasempatik sistem ile inerve olur. Prostat sempatik sinirleri hem sekretuar glandları hem de preprostatik sfinkteri inerve eder. Parasempatik sinirler ise prostat kas stromasını inerve eder ve bu müsküler stroma mesane kas yapısı ile birleşerek prostatik üretradaki sfinkterik yapıyı oluşturur. Prostatın sempatik lifleri L1 ve L2 seviyesinden kaynaklanan ve süperior hipogastrik pleksustan geçen preganglionik sinirlerden gelir. Prostatik kas yapısı inferior hipogastrik (pelvik) pleksus kaynaklı postganglionik liflerdir. Parasempatik lifler ise S2, S3 ve S4 seviyelerinden kaynaklanır ve pelvik (splanknik) sinirler ve inferior hipogastrik (pelvik) pleksus vasıtasıyla prostata ulaşırlar. Bu preganglionik lifler prostat içinde dağılmadan önce prostatik pleksus oluşturur ve postganglionik lifler olarak prostat dokusunu inerve ederler. Prostatın somatik sinirleri S2, S3 ve S4'den kaynaklanarak pudental sinir vasıtasıyla eksternal sfinkteri inerve ederler.^{38,46}

2.2.9. Nörovasküler Demet

Kavernöz sinirlerin prostat ile ilişkisi cerrahi olarak önem taşır. Prostatik pleksustan geçtikten sonra kavernöz sinirler prostat damarları ile birlikte nörovasküler demet içinde ilerler. Bu demet prostatın posterolateralinde ve endopelvik fasyanın medialinde retroperitoneal bağ dokusu içinde yer alır.⁴⁶

2.3. Histoloji

Prostat glandı, fibromusküler stroma içerisinde, iç içe geçmiş prostatik glandlardan ve duktuslardan oluşur. Prostatik glandlar, büyük duktuslarla üretraya açılan ana prostatik glandlar, kısa duktuslarla üretra içine açılan submukozal glandlar ve üretra içine direkt açılan mukozal glandlardan oluşur. Glandüler komponenti duktus ve asinuslar oluşturur. Duktuslar, büyük (primer, major, ekstretuar) ve periferik (sekonder, minör) olarak iki tiptir. Duktuslar, dallanma yapan uzun tübüler yapılar şeklinde iken, asinuslar lobuler üniteler

halinde gruplanma yapan daha kompleks bez yapılarından oluşur.^{54,55,56} Periferik zonun duktus ve asinileri düzensiz boyut ve şekilde iken, asiniler dallanmalar gösterir. Periferik zon içerisinde gevşek, ince fibriller kollajen doku ile çevrelenmiş kas liflerinden oluşan bol stroma görülür.⁵⁷ Transizyonel zon glandları periferik zon glandlarına benzerlik gösterir. Periferik ve transizyonel zonun duktus ve asinileri genellikle 0,15-0,3 mm çapında olup, epitelyal kenarları belirgin ondülasyon gösterip, basit yuvarlak konturlara sahiptir. Transizyonel zon stroması, daha kompakttır ve birbiriyle çaprazlaşan düz kas lifleri içerir. Bu zonun stroması, preprostatik sfinkter stroması ve anterior fibromusküler stroma ile benzerlik gösterir. Periferik ve transizyonel zon arasındaki sınır çoğunlukla belirsizdir, cerrahi sırasında iki zon ayıramaz.⁵⁷ Santral zon duktus ve asinileri, diğer zonlara göre daha büyüktür. Santral zon duktus ve asinileri prostat bazalinde kapsüle doğru daha geniş olmaya başlarlar, yoğunlukları da artar. Glandlar belirgin intraluminal projeksiyonlar gösterir. Üretra yakınında ise, duktusları daha az dallanma gösterir. Santral zon stroması kompakttır ve düz kas liflerinden oluşur. Bu zon iğne biyopsilerinde, prostat bazisiyle sıkıca sınırlandırıldığı için sıklıkla örneklenemez.^{56,57,58} Glandüler prostatın epitelyal komponenti; Bazal hücreler, sekretuar hücreler, nöroendokrin hücreler ve transizyonel hücre epiteli (ürotelyum) olmak üzere 4 hücre tipini içerir

Bazal hücreler: Prostat epitelinin proliferatif alanını temsil eder. Sekretuar hücreler bazal hücrelerden 3 kat fazla olmasına rağmen, proliferatif bazal hücreler proliferatif benign epitelin % 70-80'ini oluşturur.⁵⁷ Bazal hücreler, yuvarlak veya oblik hücreler olarak gözlemlendiği gibi basıklaşmış, spindle, kuboidal şekilde de olabilirler. Hiperkromatik nükleus ve dar, yoğun sitoplazmaları vardır. Immunohistokimyasal olarak sitokeratinlerin büyük bir kısmı, P63, CD40, CD44H ve bcl-2 ile reaktivite gösterirler. Prostat Spesifik Antijen (PSA), Prostatik Asit Fosfataz (PAP), Vimentin, S-100, kas markırları ve nöroendokrin markırlarla boyanma göstermezler. Bu immunfenotip ve ultrastruktürel bulgular, prostatik bazal hücrelerin miyoepitelyal hücreler olmadığını göstermektedir. Yüksek Moleküler Ağırlıklı Keratin (HMWK) ile bazal hücrelerin boyanma paterni sürekli ancak fokal kesintiler gösterebilir.^{57,58}

Bazal hücrelerde hemidesmozomlar, hemidesmozom ilişkili proteinler ve bir adezyon molekülü olan c-CAM gösterilmiştir ancak prostatik karsinomlarda izlenmemiştir.

Nöroendokrin (parakrin) hücreler: PSA, PAP sekresyonu ve androjen reseptör ekspresyonu gösterirler. Histokimyasal olarak Fontana-Masson argentaaffin ve Churikian-Schenk argyrophil boyalarıyla; immunohistokimyasal olarak ise kromogranin ve Nöro Spesifik Enolaz ile boyanırlar.⁵⁸ Prostatik duktuslar, periüretral kısımda daha yüksek konsantrasyonda bulunmaları yanı sıra prostat glandının her alanında bulunurlar. Sferik veya triangüler şekilde olabilen bu hücreler, bazalde yerleşim gösterip, lümene doğru uzanım göstermezler. Normal prostatta bu hücrelerin parakrin fonksiyona sahip olduğu düşünülmektedir.^{57,58,59}

Transizyonel hücre epiteli: Bu epitel, üriner sistemin diğer yerlerinde görülen epitelden farklı olarak, umbrella tabakası içermezler. Prostatik üretrayı ve major prostatik duktusları döşerler. Luminal yüzeyde PSA ve PAP ile pozitif boyanan tek katlı kolumnar hücreler bulunur. Bu hücreler nükleer çentiklenmeler içeren, yuvarlak elonge nükleusludur ve çok katlı tabakalar oluşturabilir. Östrojen tedavisinden sonra sık olarak skuamöz metaplaziye uğrar. Transizyonel epitel, prostat glandının periferik kısmındaki asinileri etkilediği zaman “transizyonel hücre metaplazisi” adını alır.^{57,58,59}

Sekretuar hücreler: Glandın luminal yüzeyine yerleşen, seminal sıvı üretiminin büyük çoğunluğunu oluşturan bu hücreler, prostatın epitelyal kısmının yaklaşık % 73’ünü oluşturur. Bazal yerleşimli uniform nükleusa sahip, soluk veya berrak sitoplazmalı, kolumnar veya kuboidal hücrelerdir. İnce, oldukça yoğun kromatin içeren nükleus ve belirgin olmayan nükleoller vardır. Santral zon nükleusları, periferik zonda görülenlere göre daha büyüktür ve kalabalık görülür.⁵⁸

Normal sekretuar hücre sitoplazmaları bütün zonlarda benzer görünür ve küçük şeffaf vakuoller içerirler. Periferik zon ve transizyonel zon sitoplazmalarında vakuoller paketlenmiş görünürken, santral zonda sitoplazma daha koyu ve granülerdir, daha az vakuol içerir.⁵⁷ Periferik zon glandlarının sekretuar epiteli, nükleusları bazalde lokalize tek katlı kolumnar hücrelerden

oluşur, morfolojik olarak bol sitoplazmik vakuoller içerir. Bu görünüşüyle iyi diferansiye prostat karsinomlarına (Gleason grade 1-2) benzerler. Fakat karsinom, gland lümenlerinin keskin sınırlı olması ve hücrelerinin daha büyük, daha uniform olması nedeniyle bu zon histolojisinden ayrılır. Displazi ve çoğu grade 3 karsinomlarda sekretuar vakuoller yoktur veya daha azdır.⁵⁷ Santral zon epitelinin nükleusu hücre bazalinden uzakta yer alır ve bazı alanlarda stratifikasyon görüntüsü verir. Gland lümenine doğru apokrin sekresyon alanları içerebilir. Santral zon, koyu sitoplazma, kalınlaşmış epitel tabakası ve kompleks arşitektürü nedeniyle iğne biyopsilerinde displazi veya atipik hiperplazi şeklinde yanlış tanı alabilir.^{57,58} Prostatın üç zonunun epitelinde de bulunan, lipofuksin pigmenti santral zonda daha sık görülür. Hematoksilen eosin boyalı kesitlerde sarımsı kahverengi veya gri-kahverengi gözlenen bu pigment, genellikle sekretuar hücre tabakasının bazal kısmında lokalizedir ve nadiren bazal hücrelerde görülür.⁶⁰ Bu pigment normal prostatik epitel hücrelerinde daha sıklıkla görülmesine rağmen, yüksek dereceli Prostatik İntraepitelyal Neoplazi (PIN) ve invaziv karsinomlarda da tanımlanmıştır. Lipofuksin pigmenti, vezikula seminalis ve ejakulatuvar duktus epiteli ile prostat epiteli ayrımında kullanılmamalıdır. Vezikula seminalis ve ejakulatuvar duktus pigmenti daha kabadır ve hücreleri intranükleer sitoplazmik protruzyonlar ile atipik hiperkromatik nükleus içerir.⁵⁸ Prostatik epitelde PSA pozitif boyanırken, vezikula seminalis ve ejakulatuvar duktusta boyanma gözlenmez.^{55,58} Bütün zonların duktus ve asinilerinin sekretuar hücreleri PSA ve PAP üretirler. Santral zon duktus ve asinileri ayrıca doku plazminojen aktivatörü ve pepsinojen II üretirler. PSA boyanmasının sekretuar hücreler için tanısal önemi vardır. Normal sekretuar hücrelerde PSA ve PAP, diffüz ve güçlü immün boyanma gösterir. Sekretuar hücreler ayrıca androjen reseptörleri, CK8, CK18, Vimentin, CD10 ve CD57 ile immünoreaktivite verirler. HMWK eksprese etmezler.^{57,58,59} Korpora amilasea yaşla birlikte miktarı artan, normal prostatik glandlarda bulunan, yuvarlak konsantrik tabakalanma gösteren, hiyalen eozinofilik bir materyaldir. Hücresel içerikler, lipid, mukopolisakkarit ve protein içeren bu yapı genellikle kalsifiye olur.^{55,61} Tipik olarak santral büyük prostatik duktuslarda bulunan prostatik taşlar başlıca kalsiyum fosfat içerirler.⁵⁸ Normal prostat

sekresyonu olan nötral müsinler benign bezlere özgü değildir, adenokarsinomlarda da görülebilir. Neoplastik glandlarda ise sıklıkla asidik müsinler tanımlanır ve alcian blue ph 2,5 ile pozitif boyanırlar.⁵⁸ Neoplastik süreçlerde intraluminal materyal olarak ayrıca pembe amorf aselüler sekresyon ve kristalloidler bulunur. Kristalloidler, hematoksilen eozin kesitlerde görülebilirler. Trikrom boyası ile kırmızı, toluidin mavisi ile mavi ve Mallory ile violet renginde boyanırlar. Pembe amorf aselüler sekresyon ise, korpora amilaseaya benzeyen hücresel maddelerdir. Benign bezlerde nadir görülür iken, karsinomlarda % 53-72 oranında görülürler.^{55,57,58} Prostatın stromal hücrelerini ise, çizgili ve düz kas hücreleri, sinir hücreleri, fibroblastlar, endotelial hücreler, kan ve lenf damarları oluşturur. Çizgili kas demetleri apekte prostat içine uzanırlar. Prostat dışında yer alan ganglia ve paraganglia kapsülde ve prostat içinde görülebilir. Paraganglia prostat içinde görüldüğünde prostatik adenokarsinomla karıştırılmamalıdır.^{55,58}

2.4. Prostat Bezinin Fonksiyonu

Prostat bezi sitrat iyonları, kalsiyum, fosfat iyonları, bir pıhtılaşma enzimi ve fibrinolizin içeren ince, süte benzer bir sıvı salgılar. Emisyon sırasında, prostat bezinin kapsülü, vasa deferensle eşzamanlı olarak kasılır. Böylece ince, sütümsü prostat sıvısı, semen sıvısına eklenir. Prostat sıvısının hafif alkalik özelliği, ovumun başarılı bir şekilde döllenmesi için çok önemlidir. Çünkü vasa deferens sıvısı spermin metabolik ürünleri ve sitrik asit varlığında, göreceli olarak asidik özelliktedir. Bu nedenle, spermin fertilite özelliği baskılanabilir. Ayrıca, kadının vajinal salgıları da asidiktir (pH=3.5-4.0). Sperm, ortam pH'sı 6.0 ile 6.5' a ulaşana kadar optimal hareketliliğini göstermez. Böylelikle prostat sıvısı, diğer ejakülat sıvılarının asiditesini nötralize etmesi ve bu yolla spermin hareket ve fertilizasyon yeteneğini sağlaması nedeni ile önemlidir.⁶²

2.5. Prostat Kanseri Etiyopatogenezi

Kesin olarak prostat kanserine (PKa) yol açtığı kanıtlanmasa da hava kirliliği, kadmiyum gibi çeşitli çevresel faktörler, kronik prostatit gibi enfeksiyonlar ve bazı virüsler prostat kanserine yol açması yönünde suçlanmıştır. PKa'ların,

etyolojisinin tek bir faktörden çok, multifaktöriyel kaynaklı olduğu görülmektedir.^{63,64} PKa olgularının ortalama tanı konulma yaşı 72'dir. Erkeklerde PKa epidemiyolojisi, kadınlardaki meme kanserine benzerlik gösterir. Her iki kanser de kendi cinslerinde en çok teşhis edilen kanser türleridir ve akciğer kanserinden sonra en çok ölüme yol açan kanserlerdir. Bu tümörler erken dönemlerde hormon bağımlı olup insidansları yaşla birlikte dramatik olarak artmaktadır. Kadınlar ve erkekler pozitif aile öyküsüne sahip iseler, bu hastalıklara normal popülasyona göre daha sık ve daha erken yaşlarda yakalanmaktadırlar.^{64, 65}

2.5.1. Tümör Biyolojisi

Kanser hücrelerinin şekli, büyüklüğü ve çekirdeğinde önemli değişikliklere yol açan yapısal bir düzensizlik ve belirgin farklılaşma pleomorfizm olarak adlandırılır. Hücrelerin lipid yapıları ve eriyebilir özellikteki kısımları uzaklaştırıldıktan sonra geride kalan doku, matriks sistemi adını alır ve birbirine bir ağ şeklinde geçmiş olarak bulunan bu hücresel iskelet sisteminde ortaya çıkan değişiklikler, pleomorfizmden sorumludur. Hücresel matriks sistemi oldukça dinamik bir yapıdır ve hücrenin motilitesinden de sorumludur. Kanser hücreleri canlı iken izlendiklerinde bunların oldukça dinamik oldukları ve hareket yeteneğine sahip oldukları görülür. Bu ise kanser hücrelerinin çevre dokuya invazyon veya uzak metastaz yapmalarına olanak sağlar. Bu nedenle hücre motilitesi, kanser hücrelerinin önemli bir fenotipik özelliği olup bu hücreleri normal hücrelerden ayırd eden ve ölümle sonuçlanan metastatik yeteneğin ortaya çıkmasına yol açar.⁶⁶ Kanser hücrelerinin diğer önemli fenotipik özelliği gen ekspresyonunda ortaya çıkan büyük değişikliklerdir. Tanı konulduğunda çoğu kez aynı tümör içerisindeki hücrelerde çok değişik tiplerde genetik bozukluklar ve hücresel heterojenite görülebilir.^{66, 67}

Son yıllarda yapılan çalışmalar hedefin iki ana gen grubu olduğunu göstermektedir. Bunlar; Protoonkogen / onkogen ve Tümör süpressör genlerdir. Normalde hücreler içinde bulunan bu genlerin karsinojenik süreç içinde aktive (onkogen) yada inaktive edilmeleri (tümör baskılayıcı gen) gerekmektedir.^{68,69} Onkogenler, hücrelerden eksprese edildiklerinde malign fenotipin ortaya

çıkmasına yol açan genlerdir. Yani onkogenler, hücrelerin çoğalması yönünde uyarıcı etkiye sahiptirler. Tümör baskılayıcı genler ise çoğalmayı inhibe edici etkiye sahiptirler.^{70,71} Büyüme faktörü reseptörlerinin devamlı olarak dışarıdan (ekstrasellüler ortamda bulunan büyüme faktörleri ile) ya da mutasyon sonucu ortaya çıkan değişiklikler ile otonomik olarak uyarılması sonucunda hücre içi ikincil haberci sistemleri çekirdeğe sürekli uyarılar taşıyarak hücreyi devamlı olarak çoğalma yönünde aktive ederler. Bu türden bir otokrin uyarı sistemi (autocrin stimulatory loop) ürogenital sistem tümörlerinde kontrol dışı çoğalmadan sorumlu mekanizma olarak sıkça karşımıza çıkmaktadır.⁷²⁻⁷⁴ Bu otokrin mekanizma ile PKa hücreleri, androjenlerin yokluğunda bile çoğalmaya devam edebilirler. Onkogenlerin reseptör dışı hücresel mekanizmalar ile malign transformasyon göstermesinin en iyi örneklerinden bir tanesi Ras onkogenidir. Ras ailesine üye hücresel onkogenler (H-ras, K-ras, N-ras) aşırı eksprese edildiklerinde ya da mutasyona uğradıklarında hücresel transformasyona yol açarlar.⁷⁵ İleri evre prostat kanserinde Ras, p21 onkoproteininin aşırı derecede eksprese edildiği bildirilmiştir. Bu protein intrasellüler uyarı iletim sisteminin bir parçasıdır. Malign dokunun aksine normal prostat dokusunda ya da benign prostat hiperplazisinde bu onkoproteine rastlanılmamıştır.^{75,76} Prostat kanserinde genetik instabiliteyi ve metastatik potansiyeli H-ras onkogen varlığının önemli ölçüde artırması nedeni ile bu onkogen ve protein ürünü tümör davranışı açısından önemlidir. Kısa ömürlü transkripsiyon faktörünün yapımından, c-myc protoonkogeni sorumlu olup, hücre bölünmesini uyarırken diğer genetik bölgeleri de kontrol ederek hücrenin büyümesinin durdurulmasına engel olur. Bu proteinin aşırı yapımı ya da yapısal değişiklikler nedeniyle aktif hale gelmesi ile hücreler aşırı derecede çoğalma gösterir. İnsan prostat kanserinin yaklaşık %67 sinde, c-myc protoonkogenin aşırı ekspresyonu saptanmıştır.⁷⁷ Ayrıca prostat kanserinin de içinde bulunduğu çok sayıda kanser türünde uyarıcı özellikte bir peptid büyüme faktörü olan TGF'nin (Transforming Growth Factor) aşırı derecede eksprese edildiği gösterilmiştir. Normal hücrelerde büyümeyi ters yönde etkileyen bu proteine karşı kanser hücreleri dirençli hale gelmişlerdir. Ayrıca bu faktör anjiogenezi uyarır ve kuvvetli bir

immün baskılayıcı olarak tümör hücrelerinin vücudun immün mekanizmalarından daha az etkilenmesini sağlar.^{78, 79}

2.5.2. Prostat Kanseri Gelişiminde Genetik Ve Hormonal Mekanizmalar

2.5.2.1. Hücre Yenilenmesi

Dengeli bir hücre proliferasyonu ve ölümü hızına sahip prostatik glandüler hücrelerin yenileriyle değiştirilmesi için gerekli süre yaklaşık 500 gün civarındadır. Bu hücrelerin yüksek dereceli PIN hücrelerine dönüşmesi muhtemelen prekürsör bir lezyondur. PKa ya doğru ileri bir dönüşüm, hücre ölüm hızındaki azalma; kanseröz lezyonlarda iki katına çıkış zamanı 33 gün ile 126 gün arasında değişmektedir.⁶⁴

2.5.2.2. Mutasyonlar

55 yaş altındaki PKa olgularının yaklaşık %45'inde mendelian geçiş özelliğinin olması, PKa'nın başlangıç dönemlerinde bu mutasyonunun önemli olabileceğini düşündürmektedir.⁸⁰ Androjen reseptörlerinin androjenlere cevap gücü, bu genin 5' promotor bölgesinde yerleşmiş olan CAG mikrosatellitlerinin uzunluğu ile ters orantılıdır. Germ hattındaki mikrosatellitlerin boyu kısa olduğunda, hücre androjene daha çok cevap verir; böylece büyüme hızlanır. Siyah erkeklerde kısa CAG allelleri beyazlara göre yüksek prevalanstadır ve PKa olan beyaz erkeklerde kısa alleller kontrol vakalarıyla karşılaştırıldığında daha sıklıdır.⁸¹

2.5.2.3.DNA Metilasyonu

CAG nükleotid genomik alanların hipermetilasyonu gende inaktivasyonuna yol açar. 17. kromozomun uzun koluna yerleşmiş bir tümör supressor geninin hipermetilasyonu bu gende inaktivasyona neden olur. PKa dokusunda bu bölge metillenir ve inaktive edilir.^{64,82}

2.5.2.4. Tümör Supressor Genleri ve Onkogenler

Yapılan çalışmalar, 8p, 10q, 13q, 16q, 17p ve 18q kromozomlarında yerleşmiş bulunan tümör supressor genlerde delesyon olduğunu göstermiştir. PKa olan hastaların %70' inden fazlasında kromozom 8p22' de delesyonlar gösterilmiştir.⁸³

Bir hücre yüzey molekülü olan E-cadherin; epitelyal hücreler arası ilişkiyi ve adhezyonu sağlamaktadır ve bu bölge, E-cadherin'e ait bölge olarak kabul edilmektedir. E-cadherin ekspresyonunun kaybı artmış invaziv potansiyele neden olur.^{64,84} Japon erkeklerinde ras onkogeninin mutasyonlarının, tümörlerin yaklaşık %25'inde bulunduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir.⁸⁵ Retinoblastoma geni 13q' da yerleşmiştir ve kaybı PKa ların yaklaşık %25 inde rol oynamaktadır.⁶⁴ p53 geni Kromozom 17p' bölgesinde yerleşmiştir. p53 geninin kodladığı protein hücre siklusunu G1 safhasında durdurur, böylece bu ara DNA' nın tamirine izin verir. Bu gen inaktive olursa DNA hasarlarının tamiri için gerekli zaman ortadan kalkmış olur. %50'yi aşan oranda yüksek dereceli, metastatik tümörlerde mutant p53 görülmektedir.⁶⁴ PKa'larda, gleason skor (GS), invazivlik ve anoploidi arttıkça, salınımı artar.⁸⁶ Her-2-neu gen amplifikasyonu PKa'ların 1/3 ünde görülür ve tümör grade, stage ve nondiploid DNA içeriği ile koreledir.⁸⁶ bcl-2 gen ailesinden (bcl-2, bcl-x ve mcl-2) PKa'larda artar.⁸⁶ Telomeraz aktivitesi PKa'larda benign dokulara göre belirgindir. Tümör stage, grade ve ploididen bağımsızdır.^{86, 87}

2.5.2.5. Androjen Reseptör Mutasyonları

Testosteron prostatik büyüme için uyarıcı etkiye sahiptir. Testosteron hücre içine diffüze olduktan sonra 5- α redüktaz ile (Dihidro Testosteron) DHT'ye indirgenir. Konjenital androjenik rezistans sendromlarında, prostatik büyümenin yetersizliğinin ya da yokluğunun görülmesi, androjenlerin normal prostat gelişimi üzerinde rol oynadığını gösterir.⁸⁸ Androjen reseptörlerindeki mutasyon, PKa hücrelerinde androjen ablasyonunu takiben selektif büyüme avantajı sağlamaktadır. Bu mutasyonlar androjen reseptörünün insulin benzeri büyüme faktörü-I (ILGF-I) ve keratinosit büyüme. faktörü gibi büyüme faktörlerine cevap

vermesini sağlayarak, mutant androjen reseptörüne bağlanıyor olabilir ve sonuçta hücreyi androjene dirençli hale getirebilir.⁶⁴

2.5.2.6. Büyüme Faktörleri

Transforming growth factor beta (TGF- β), Epidermal growth factor (EGF), Fibroblast büyüme faktörü, trombosit kaynaklı büyüme faktörü ve nöroendokrin peptidlerin hepsi prostat epitelyal hücre proliferasyonu, diferansiasyonu ve invazivliğini düzenlemektedir. Düzenlenimde bu büyüme faktörlerinin etkileri epitelyal hücreler ile onların etrafındaki stromal hücreler arasındaki etkileşimler ile olur.^{89,90} Prostatın stromal veya mezenkimal hücreleri birçok büyüme faktörü üretmekte ve bunlar parakrin olarak epitelyal hücrelere etki etmektedirler. Yapılan çalışmalarda, kemik hücreleri prostat hücrelerinin proliferasyonunu stimüle eden büyüme faktörleri ürettikleri ve prostat hücrelerinin de kemik formasyonunu stimüle edici faktörleri salıverdikleri gösterilmiştir. PKa'nın metastaz yapmak için neden kemik dokuyu tercih ettiği bu şekilde açıklanabilir.^{63, 91}

2.5.3. Prostat Kanseri Risk Faktörleri

2.5.3.1. Yaş

50 yaşından sonra PKa'nın görülme sıklığı yaşla birlikte artmaktadır. Bu nedenle PKa gelişimindeki en önemli risk faktörü yaştır.⁶⁴ PKa nın %95' i 45-89 yaşlar arasında görülür. Tanı sırasında medyan yaş 72 olarak belirlenmiştir. PKa genç yaşlarda görüldüğünde daha hızlı progresyon göstermektedir.⁹²

2.5.3.2. Aile Öyküsü

Bir erkeğin PKa'ya yakalanma riski, bu hastalıktan etkilenen yakınlarının sayısına ve kanser başlangıç yaşına bağlıdır. Erken başlangıç gösteren PKa'nın, otozomal dominant geçiş gösteren nadir bir yüksek risk alleleline bağlı olabileceği, bu hastaların tüm PKa'lı hastalar içinde yaklaşık %9'luk bir oranı, ortalama yaş altındaki hastalar içinde de yaklaşık %45'lik bir grubu oluşturduğu

bildirilmiştir.⁸⁰ Birinci dereceden akrabasında PKa olan bir erkekte bu hastalığın gelişme riski 3-4 kez artmaktadır. Eğer birinci dereceden iki akrabasında PKa mevcut ise risk 5-6 kat artmaktadır.⁹³ Ailede meme ve kolon kanseri bulunmasının PKa açısından bir risk faktörü olabileceğine dair çalışmalar mevcuttur.⁹⁴ PKa lı hastaların ailelerinde sık olarak p53 ve Rb tümör supressor genlerinde kayıp izlenmektedir. PKa'lılarda yapılan sitogenetik incelemelerde 1, 7, 8, 10, 16 ve Y kromozomlarında yapısal ve sayısal anormalliklerin olduğu saptanmıştır. Trisomi 7 ve Y kromozom kaybının en sık rastlanılan anomali olduğu belirtilmiştir.⁹⁵

2.5.3.3. Irk

PKa nın insidansı ve mortalitesi doğu ırklarında düşük iken, İskandinav kökenlilerde daha yüksektir. ABD'de yaşayan siyah erkeklerde hastalığın insidansı, beyaz ırka göre daha yüksektir. Siyah erkeklerde hastalık daha geç evrede teşhis edilmekte ve sağ kalım oranları daha düşük görülmektedir.⁶⁴ Uzakdoğuda yerleşik bulunan fertleri için, sarı ırka ait değerler, siyah ve beyaz ırk arasındadır. Batı ülkelerine yerleşen Uzakdoğulularda, hastalık insidansı anavatanlarında yaşayan toplumlarına göre biraz daha yüksektir.^{64,96}

2.5.3.4. Diyetle Alınan Yağ Miktarı

Diyetle alınan yağın, A, D, E vitaminleri ve çinko gibi eser elementlerin seksüel hormonların üretimini değiştirerek PKa oluşma riskini arttırabileceği ile ilgili teoriler vardır.^{64,65} Örneğin; Japonların geleneksel yiyeceklerinde yağ oranı düşüktür, PKa görülme sıklığı da oldukça düşüktür. Amerika Birleşik Devletleri'nde yerleşen Japon'larda PKa insidansı, Japonya'da yaşayanlara göre daha yüksektir.⁶⁴ Yine bazı çalışmalarda yüksek yağ tüketimiyle PKa arasında ilişki olduğu iddia edilirken⁹⁷, bazılarında ise bu ilişkiyi destekleyecek bulgu saptanamamıştır.⁹⁸

2.5.3.5. Hormonlar

PKa gelişimiyle steroid hormonlar arasındaki ilişki tam olarak anlaşılamamıştır. PKa'lı hastalarda testosteronun dolaşımdaki yüksek seviyeleri devamlı olarak gözlenmemektedir. Ancak diğer hormonların özellikle de prolaktin ve östrojenin prostat bezi metabolizmasında, henüz tanımlanmamış rolleri bulunmaktadır.⁶⁴ Genç siyah ırk erkeklerde dolaşımdaki testosteron düzeyi, beyaz ırk yaşlılarına göre %15 daha yüksektir ve bu fark da siyah ırkta, PKa'ya yakalanma riskinin daha yüksek olmasını açıklamaktadır. PKa'lı vakaların yaklaşık %15'i östrojene dirençlidir. Bu durumda PKa gelişimindeki hormonal teoriyi zayıflatmaktadır.⁶⁴ Huggins ve Hodges'in 1941 de metastatik PKa'lı hastalarda kastrasyonun veya östrojen uygulamasının kanserde regresyona yolaştığını ortaya koymaları ile yapılan bir çok gözlem androjenlerin PKa gelişimine etkisi olduğunu düşündürmüştür.⁹⁹

2.5.3.6. Vazektomi

Yapılan geniş çaplı araştırmalar, vazektominin PKa'ya yakalanma riskini yaklaşık 2 kat arttırdığını, özellikle de 35 yaşın altında uygulandığında riskin daha da yüksek olacağını bildirmişlerdir. Farklı gruplar tarafından yapılan çalışmalarda ise PKa ile vazektomi arasında ilişki bulunamamıştır.^{64,100}

2.5.3.7. Kadmiyum Alımı

Kaynak ve elektro kaplama işlerinde çalışanlar, kadmiyuma yüksek seviyelerde maruziyete kalırlar. Kadmiyum sigara dumanında ve alkalin pillerde bulunan bir eser elementtir. Kadmiyumun çinko ile etkileşerek PKa riskini arttırabileceği düşünülmektedir. Çinko multiple intrasellüler metabolik yollarda görevli bir eser elementtir ve prostat bezi dokusunda yüksek miktarlarda bulunur.^{64,100}

2.5.3.8. Vitamin A Alımı

Vitamin A eksikliğinin çok çeşitli tümörlerin oluşumuyla ilişkili olduğu gösterilmiştir ve hayvan çalışmalarında retinoid suplementasyonunun deneysel

olarak indüklenmiş PKa'da azalmaya sebep olduğu belirtilmiştir. Bu bulgulara karşıt olarak bazı çalışmalarda artmış vitamin A alımının, PKa'ya yakalanma riskini arttırdığını gösterilmiştir. Artmış vitamin A alımıyla birlikte olan PKa'nın belki de daha ön planda artmış hayvansal yağ alımına bağlı olabileceği de düşünülmektedir.⁶⁴ Vitamin A ve PKa ilişkisi ile ilgili literatürde oldukça farklı sonuçlar bildirilmiştir. Graham¹⁰¹, vitamin A tüketimi ile 70 yaş üzerindeki erkeklerde PKa gelişimi arasında ilişki olduğunu ortaya koymuş, ancak bu durum daha genç erkekler için gösterilememiştir. Diğer bazı çalışmalarda ise vitamin A ile PKa riski arasında negatif ilişki belirlenmiştir. Reichmann¹⁰², prospektif bir çalışma ile düşük serum vitamin A düzeyinin yaştan bağımsız olarak PKa riskini arttırdığını ortaya koymuştur. Mettlin⁹⁷ ise yüksek beta-karoten düzeyinin 68 yaş ve altı erkeklerde koruyucu etkisi olduğunu öne sürmüştür.

2.5.3.9. Vitamin D Alımı

Kuzey ülkelerinde, ekvatora yakın olan bölgelerle karşılaştırıldığında PKa çok daha sık görülmektedir. Vitamin D'nin laboratuvar koşullarında kültürdeki PKa hücrelerinin büyümesini yavaşlatıcı etkisi vardır.^{64,65}

2.5.3.10. BPH

Son yıllarda yapılan geniş serili çalışmalar, takip edilen BPH'lı hastaların, PKa oranının, yaşıtlı hastalara göre daha sık olduğunu bildirmişlerdir. Ancak bu çalışmalara ters düşen çalışmalar da bildirilmiştir.⁹⁶ Ayrıca atipik adenomatöz hiperplazi ve prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) gibi preneoplastik olduğu düşünülen lezyonların, BPH ile PKa arasında bir bağ olabileceğine dair görüşler de mevcuttur.¹⁰³

2.5.3.11. Enfeksiyöz Ajanlar

Herpes Simplex Virüs (HSV) Tip II, Simian virus-40 (SV-40), Cytomegalovirus (CMV) gibi virüslerin etken olabileceği öne sürülmüştür. Yapılan bir çalışmada da HSV Tip II antikoru, PKa hastalarında %71, BPH lı

hastalarda ise %66 pozitif bulunmuştur. RNA viral partikülleri de invitro koşullarda prostat doku kültürlerinde tespit edilmiştir. RNA virüslerinin PKa da onkogen p21 H-ras ürettikleri gözlenmiştir.¹⁰⁰

2.5.3.12. Sigara

Sigaranın bir çok kanser ile ilişkisi olmasına rağmen PKa ile ilişkisi kesin olarak ortaya konulamamıştır.¹⁰⁰

2.6. Klinik Özellikler

Nodüler hiperplazi nedeniyle çıkarılmış prostat dokusunun, histolojik incelemesi ile olguların yaklaşık %8'inde karsinom saptanması, prostat karsinomlarının çoğu kez, özellikle erken evrelerinde, klinik olarak sessiz olduğunu göstermektedir.¹⁰⁴ Çoğu zaman rutin rektal muayene sırasında saptanabilmektedir.¹⁰⁵ BPH'dekine benzer obstrüksiyona bağlı bulgu ve belirtiler oluşabilir.¹⁰⁶ Kemik metastazları özellikle aksiyal kemiklerde görülür ve osteoblastik tiptedir.¹⁰⁷ Erken prostat karsinomlarının tanısında PSA serum düzeylerinin ölçümü oldukça yararlıdır. PSA, hem normal hem de tümöral prostatik epitel tarafından salgılanır ve düzeyi karsinomlarda olduğu gibi nodüler hiperplazi, prostatit gibi durumlarda artabilir.¹⁰⁸ Rektal muayene, transrektal ultrasonografi ve iğne biyopsisi gibi diğer yöntemlerle birlikte kullanıldığında PSA'nın tanı değeri artmaktadır.^{105,109} Seminal sıvıda PSA yüksek, ancak serumda düşük oranlarda bulunur. Serumda PSA, bağlı ve serbest formda bulunur. Alfa-2 makroglobulin ve alfa-1 antikomtripsin gibi proteaz inhibitörlerine bağlanır. Total-PSA; proteolitik olarak aktif olan serbest PSA ve alfa-1 antikomtripsine bağlı PSA'nın toplamıdır.¹¹⁰⁻¹¹² TNM evrelemesi, Gleason skoru, serum PSA düzeyleri ve radyoloji PKa'larını değerlendirme de önem taşımaktadır.^{105,113} Tedavide cerrahi, radyoterapi, kemoterapi ve hormonal tedavi kullanılmaktadır.^{105,114} Hastalığın erken evrede yakalanma şansı PSA ile yapılan tarama çalışmalarıyla artmaktadır.¹¹⁵ Radikal prostatektomi sonrası prognoz; patolojik evre, cerrahi sınırların durumu ve Gleason skoru ile ilişkilidir.^{105,114,116} Metastatik prostat karsinomlarında uygulanan başlıca tedavi yöntemi cerrahi ya da medikal kastrasyon olarak da adlandırılan, androjen

çekilme tedavisi ile olmaktadır.¹¹⁷ Orşiektominin hasta üzerindeki olumsuz psikolojik etkileri ve alternatif medikal tedavi seçeneklerinin bulunması son yıllarda orşiektomiye olan ilgiyi azaltmıştır.^{117,118} Dietilstilbesterol, 5-alfa redüktaz inhibitörleri, Luteinising hormon-releasing hormone (LHRH) agonistleri, LHRH antagonistleri ve anti androjenik ilaçlar bu amaçla tek tek ya da kombinasyonlar halinde denenmektedir.^{119,120,121} Hormona dirençli prostat kanserli hastalarda dosetaksel tabanlı kemoterapi rejimlerinin sağkalıma katkısı gösterilmiştir.^{114,122}

2.7. Patolojik Özellikler

Radikal prostatektomi materyallerinde tümör alanları gri- sarımsı renkli, belirsiz sınırlı, sert odaklar şeklinde görülebilir. Ancak makroskopik olarak çevre parankimden net bir şekilde ayrımı genellikle zordur. Prostat karsinomlarının %70'inden fazlası periferik zonda ve genelde posterior bölümde yerleşim gösterir.^{123,124}

Adenokarsinom: Dört farklı mikroskopik patern tariflenmiştir:

Orta çaplı glandlar; Küçük büyütmeye dar bir stroma içinde sırt sırta duran düzensiz şekilli glandlar şeklinde görülür.

Küçük glandlar; Küçük büyütmeye, düzgün, yuvarlak ya da küçük boyutlu glandların oluşturduğu ekspansif nodüller şeklinde görülür.

Diffüz hücre infiltrasyonu; Memenin lobuler karsinomuna benzer şekilde stromayı tek hücre şeklinde infiltre eden tümör hücreleri şeklinde görülür.

Kribriiform patern; Geniş bez yapıları içinde kribriiform yapılar oluşturan tümör hücre proliferasyonu şeklinde görülür.¹²⁵ Tümörün farklı evrelerinde ya da eş zamanlı olarak bu paternler bir arada bulunurlar. Adenokarsinomlar çevre parankimden iyi sınırla ayrılan, gland paterni oluşturan histolojik görünüme sahiptir. Tümöral glandlarda bazal hücre tabakası izlenmez. Tümöral glandlar, soluk ya da şeffaf sitoplazmalı, benign glandlara göre, daha amfofilik sitoplazmalıdır. Tümöral glandlar, benign glandlardan daha küçük olup, tek sıralı kübik ya da alçak kolumnar hücrelerle döşelidir. Nükleus büyüktür, bir ve ya birkaç belirgin nükleolus içerir.^{125,126} Nükleuslar, benign prostatik epitelden ayırt edilemeyenlerden, açıkça malign olanlara kadar değişkenlik gösterir.

Nükleer atipinin derecesi yapısal diferansiasyon derecesi ile uyumludur. Nükleer büyüme, düzensiz nükleer sınırlar ve belirgin nükleolus en sık izlenen bulgu olmakla birlikte, her kanserde bu özellikler görülmez.¹²⁷⁻¹²⁹ Neoplastik nükleusların bazen belirgin nükleolusları yoktur, oysa büyümüş ve hiperkromatik izlenir.¹²⁵ Bu nükleoluslar ekzantrik ve multipl olmaya eğilimlidir.^{125,128,129} Mitotik figürler yüksek grade'li tümörlerde nispeten yaygındır; düşük grade'li tümörlerde ise nadirdir.¹²⁷ Adenokarsinom glandlarında, luminal kenar düz ve rijiddir. Düşük grade'li adenokarsinomun sitoplazmik özellikleri, benzer şekilde soluk-berrak görünen benign glandlardan farklı değildir. Neoplastik glandlar amfofilik sitoplazma içerir ve bu özellik malignite için yardımcı bir kriterdir.¹²⁷

İyi ve orta derecede diferansiye kanserlerde, kristaloid denen parlak, eozinofilik, keskin kenarlı oluşumlar, glandların lümenlerinde izlenir.¹²⁸⁻¹³⁰ Ancak karsinom için spesifik değildir.^{127,129} Fakat benign glandlardan çok karsinomlarda görülür. Hematosilen Eozin (H&E) boyalı kesitlerde özellikle düşük grade'li adenokarsinomlarda intraluminal pembe asellüler yoğun sekresyon veya hafif mavi müsinöz sekresyonlar bulunur.¹²⁷ Aksine iyi sınırlı, yuvarlak veya oval şekilli, konsentrik lameller halkalardan oluşan korpora amilasea, benign glandlarda yaygın iken, prostat kanserinde nadirdir.^{127,131} Klasik adenokarsinomda desmoplazi görülmemesi nedeni ile prostat kanserinde stromanın değerlendirilmesinin pek yararı yoktur.¹²⁷

Malign Spesifik Özellikler: Perinöral invazyon, kollajenöz mikronodüller ve glomerülasyonlar, benign prostat glandlarında izlenmeyen üç özellik olup, maligniteyi gösterir.^{127,126,132}

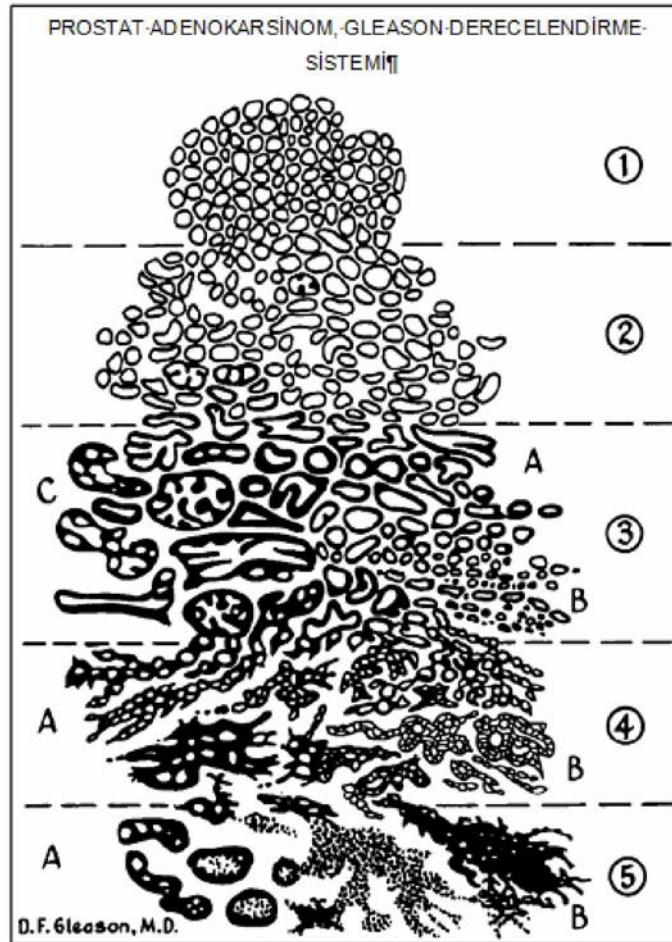
Perinöral invazyon; Adenokarsinomda yaygındır ve sinirin çevresini tamamen kuşatır.^{127,129,126,132}

Kollajenöz mikronodüller; İnce, gevşek fibröz dokuda, fibroblastların içeri doğru büyümesi ile oluşur. Bazen intraluminal müsinöz sekresyon o kadar yoğun olur ki, fokal olarak organize olmaya başlar ve kollajenöz mikronodülleri oluşturur.

Glomerülasyonlar; Kribriform görünümde glandlardan oluşmaktadır. Glandlar yüzeysel olarak glomerül yapısına benzer.^{127,126,132}

2.8. Gleason Grade ve Skorlama Sistemi

Gleason grade sistemi, Gleason ve beraberinde Veterans Administration Cooperative Urological Research Group (VACURG) üyeleri tarafından geliştirilen ve en yaygın olarak kullanılan grad'leme sistemidir. Glanduler diferansiasyonun derecesi, tümörün büyüme paterni ve stroma ile ilişkisi ile küçük büyütmede, 1 ile 5 arasında değerlendirilir. 1 en iyi diferansiye, 5 en az diferansiye formudur. Biyopside tanımlanan Gleason grade ile takip edilen radikal prostatektomi örneklerinde izlenen grade, oldukça tutarlıdır. Gleason skoru 5-6 olan biyopsi örneklerinden sonra, radikal prostatektomilerinde %64 oranında aynı grade izlenmiştir. Gleason skoru 7 veya daha fazla olan biyopsilerde ise bu oran %87,5 olarak bulunmuştur. Gleason grade sistemi, prostat kanserinin kuvvetli prognostik faktörlerinden biridir.^{133,134}



Sekil 3. Gleason derecelendirme sistemi¹³⁵

Gleason grading sistemi 5 histolojik paternden oluşmaktadır Şekil 3¹³⁵. Gleason patern 1 oldukça nadirdir, izlendiğinde, genellikle Gleason skoruna dahil edilmez. Bu patern sıklıkla transizyonel zon tümörlerinde görülür. Gleason paterni 1 olan tümörler; uniform, tek, ayrı, sıkıca paketlenmiş glandlardan oluşmaktadır. Komşu benign prostat dokusunu infiltre etmezler. Glandlar orta boyutta ve yaklaşık birbirlerine şekil ve boyut olarak eşittirler. Hem Gleason pattern 1 ve hem Gleason pattern 2 tümörler; orta derece lezyonlardan daha büyük olma eğilimlidirler. Tipik olarak bu iki Gleason patterninde hücreler geniş, soluk sitoplazmalıdır. Gleason patern 1 tümörlerin çoğu vakasında küçük, benign nükleus görülmesine rağmen, büyük belirgin nükleoller bazı vakalarda görülebilir.

Gleason paterni 2 de glandlar patern 1'deki kadar uniform değildirler, orta boyuttadırlar, çevreden net, iyi sınırlı olarak ayrılmamaktadır, glandlar daha gevşek dizilimlidirler, çevre nonneoplastik glandlara, lobüler sınırların arkasına infiltredirler. Gleason paterni 1 ve 2 prostat tümörleri, santral bölgede yerleşirler ve de çoğunlukla Trans Uretral Prostat Rezeksiyonu (TURP) spesimenlerinde görülürler.

Gleason paterni 3 en sık görülen paterndir, tümör hücreleri neoplastik olmayan lobüllerin içine ve arasına infiltre olurlar. Her glandın açık bir lümeni vardır ve stroma ile çevrelenmiştir. Kribriform paternli küçük glandlar Gleason 3 lezyonları arasına dahil edilmiştir. Bunlar birleşme eğiliminde değildirler ve dairesel kontürleri vardır.Yeni sunulan gradeleme sisteminde kribriform paternlerin hepsi patern 4'e taşınması önerilmektedir. Gleason patern 4'deki neoplastik glandlar birleşme eğilimindedirler. Kribriform yerleşimli glandların hücreleri eğer büyük ve düzensiz kontürlü ise bu paterne dahil edilir. Kötü sınırlı glandlarda etrafı epitelyum ile çevrili bir lümen yoktur. Çoğu kribriform invaziv kanserler patern 3 yerine patern 4 olarak değerlendirilirler.

Gleason patern 5'de glandların lümenleri az veya hiç yoktur, solid tabakalar, kordonlar, tek hücreler veya yuvalardan oluşmaktadır. Komedonekrozlu solid yuvalar da bu kategori içerisine girmektedir. İğne

biyopsilerinde Gleason patern 4 veya 5 'den oluşan tümör düşünüldüğünde dikkatli olunmalıdır, çünkü bu düşük grade'li bir tümörün tanjensiyel kesiti olabilir.

PKa'da bir histolojik paternden daha fazla patern izlenir. Bu durum primer ve sekonder patern olarak tanımlanır; örneğin; en sık ve 2. en sık paternler toplanır ve bir Gleason skoru veya toplamı elde edilir. Örneğin Gleason skor 3+4=7. Eğer tümörün sadece bir paterni var ise paternin iki katı hesaplanır. Örneğin; 3+3=6. Gleason skor 2 ve 3 çok nadir görülür çünkü Gleason patern 1 çok nadirdir. Gleason skor 4'de sık değildir. İnce iğne biyopsi materyalinde tavsiye edilen; Gleason 2-4'ün değerlendirilmemesidir. Gleason skor 6 ve 7 en sık olan skorlardır.¹²⁷

2.9. Histolojik Varyantlar ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Sınıflaması

2.9.1. Atrofik Varyant

Dar sitoplazma nedeniyle atrofik glandları andırır.^{127,129} Nadir görülen bu varyantta klasik prostat kanseri tedavisi sonrasında da sitoplazmada daralma gibi atrofik değişiklikler görülebildiği bilinmelidir.¹²⁷ Atrofik glandlara komşu, tipik asiner adenokarsinom varlığı, atrofik odakta bazı tümöral hücrelerde büyük, belirgin nükleolusun saptanması ayırıcı tanıda yardımcıdır.¹²⁹

2.9.2. Psödohiperplastik Varyant

Benign prostat glandlarına benzer, dallanan papiller yapılanmalar gösterir. Nükleer atipinin mevcut olması tanıda önemlidir ve agresif seyir gösterebileceği bilinmelidir.¹²⁷

2.9.3. Köpüksü Gland Varyantı

Nükleus büyümesi ve nükleolus belirginleşmesi gibi adenokarsinom için tipik özellikler bulunmaz. Köpüksü görünümüne rağmen sitoplazmadaki vakuoller lipid içermez. Nükleus/sitoplazma oranı düşük, geniş köpüksü

sitoplazmalı asiner glandlardan oluşur.¹²⁷ Nükleusun küçük ve hiperkromatik oluşu nedeniyle benign olarak yanlış tanı verilebilmektedir.^{127,129}

2.9.4. Müsinöz (Kolloidal) Karsinom

Tümörün en az %25'i ekstrasellüler müsin gölü içermelidir. Özellikle müsinöz alanlarda kribriform patern baskın olabilir. İleri evre hastalarda kemik metastazı yapma eğilimindedir. Memenin müsinöz karsinomuna benzer bir mikroskopik görünüme sahiptir. Mikroglandüler, kribriform, komedo, solid paternleri görülebilir.^{125-129,131}

2.9.5. Taşlı Yüzük Hücreli Karsinom

Nadir görülen ve oldukça agresif davranış gösteren prostatın taşlı yüzük hücreli karsinomu, asiner, solid ya da indian file paterni gösterebilir. Taşlı yüzük görünümüne sebep olan sitoplazmik müsin ve yağ vakuolleridir.¹²⁹ Prognozu kötüdür.^{129,128} Taşlı yüzük hücreli karsinom tanısı için tümörün %25'i veya daha fazlasının taşlı yüzük hücrelerinden oluşması gerekir.¹²⁹

2.9.6. Onkositik Varyant

Elektron mikroskopunda bu hücrelerin çok sayıda mitokondri içerdiği görülmektedir. Prostat adenokarsinomu nadiren, diffüz, geniş eozinofilik, granüler sitoplazmalı hücrelerden oluşur.^{127,129}

2.9.7. Lenfoepitelyoma Benzeri Varyant

Malign hücreler sinsisyal bir patern gösterir. Yoğun lenfositik infiltrasyon içerir.^{127-129,131}

2.9.8. Sarkomatoid Karsinom

Nadir görülen ve agresif seyir gösteren tümörlerdir. Sarkomatoid karsinomun, iğsi hücre diferansiasyonu gösteren epitelyal bir tümör olduğunu ve karsinosarkomun ise adenokarsinoma eklenmiş heterelog malign yumuşak doku elemanlarından oluştuğu ifade edilmektedir. Prognozları kötüdür.¹²⁷⁻¹²⁹

2.9.9. Duktal Adenokarsinom

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.^{127,126}

2.9.10. Ürotelyal Karsinom

Primer prostatik ürotelyal karsinom, periüretral glandların ürotelyal epitelinden köken alır veya duktus ve asinusların ürotelyal metaplazisi zemininde, displazi- insitu ve invaziv karsinom süreciyle gelişir.¹³¹ Ürotelyal tümörlerin bütün histolojik tipleri ve grade'leri, primer ve sekonder prostatik ürotelyal tümörlerde de görülebilmektedir.¹²⁷ 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.¹²⁶

2.9.11. Skuamöz Hücreli ve Adenoskuamöz Karsinom

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.^{126,127,129,131}

2.9.12. Bazal Hücre Hiperplazisi ve Karsinomu

Bazal hücre hiperplazisi üç patern gösterir: Tipik bazal hücre hiperplazisi, Atipik bazal hücre hiperplazisi ve Bazal hücre adenomu.¹²⁹

Bazal hücre hiperplazisi; uniform hücrelerin oluşturduğu küçük solid yuvalar yapar. Hücrelerin etrafında palizadik dizilim izlenir.¹²⁶ Yuva yapıları solid olabildiği gibi kistik dilate veya kribiform paternde de olabilir. Bazal hücreler büyük, oval veya yuvarlak olup, ince retiküler kromatinli, büyük, oval, soluk nükleus ve bir miktar sitoplazma içerir. Nükleolus belirgin değildir.¹²⁹ Bazal hücre lezyonları, transizyonel zonda yerleşmeye eğilimli olup genellikle TUR-P materyallerinde izlenir. Fakat bazen iğne biyopsisinde de bulunabilir.^{127,126} Bazaloid yuva yapılarının iyi sınırlı açık renkli nodülleri ile oluşan şekli bazal hücre adenomudur.¹²⁶ 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.^{129,136} Bazal hücreli karsinom, bazal hücre hiperplazisinden farklı olarak desmoplastik stromal yanıt, perinöral invazyon, nekroz ve çevre dokuya geniş infiltrasyon içerir.^{129,126} İki farklı patern gösterir: Adenoid kistik patern ve Bazaloid patern. Adenoid kistik paternde, bazal hücrelerin oluşturduğu düzensiz gruplar, tükrük bezinin adenoid kistik karsinomuna benzeyen müsinöz materyal içerir. Bazaloid patern ise belirgin palizadlaşma içeren, bazaloid hücre nestleri içerir.^{129,131} Bu paternler sıklıkla beraber olsa da pür formları da bildirilmiştir. Adenoid kistik karsinom, HMWCK ile değişik derecelerde immunreaktivite gösterir.¹²⁹

2.9.13. Nöroendokrin Tümörler

Nöroendokrin diferansiasyon gösteren adenokarsinomun klinik özellikleri tipik asiner adenokarsinoma benzer. Adenokarsinomdaki nöroendokrin diferansiasyonun prognoz üzerine etkisi yoktur.¹²⁹ 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.¹²⁹ Bu tümörler akciğer ve diğer bölgelerdeki benzerleri ile morfolojik olarak aynıdır.^{125-127,129} Cushing sendromu, malign hiperkalsemi, uygunsuz Antidiüretik Hormon sekresyonu sendromu ve myastenik (Eaton-Lambert) sendromunu da içeren paraneoplastik sendromlarla birlikte görülür.^{129,131} Tümör hücrelerinde Serotonin, Kalsitonin, Adrenokortikotropik Hormon, Human Koryonogonadotropik Hormon, Tiroid Stimüle 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.

Paraganglioma: Bu bölgedeki paraganglionik doku ve neoplazmaları oldukça nadirdir. Histolojik olarak diğer bölgelerdeki lezyonlar ile aynı olup karakteristik yuva yapıları (Zellballen) içerir.^{131,126} Prostatik paragangliomanın tanısında kullanılan testler diğer alanlardaki paragangliomaların tanısında kullanılan testlerle aynıdır.

Nöroblastom: Nöroektodermal kökenli primitif tümör olup prostatta nadiren görülür.¹²⁷

2.9.14. Mezenkimal Tümörler

Prostatta nadir olup bunların çoğunu leiomyom oluşturur.¹²⁶ Nadiren fibrom, soliter fibröz tümör, kondrom, osteokondrom, hemanjiom, lenfanjiom, ganglionörom, granüler hücreli tümör, nörofibrom ve schwannoma gibi diğer benign stromal tümörler görülebilir. Bu tümörler yumuşak doku ve kemikte görülenlerle aynı özellikleri taşır.¹³¹ Prostat sarkomları, malign prostat tümörlerinin % 0,1-0,2'sini oluşturur.^{126,127} Bu tümörler iki grupta değerlendirilir:

1-Malignite potansiyeli belirlenemeyen prostatik stromal tümör (STUMP) 2-Prostatik stromal sarkom.¹²⁵⁻¹²⁷ Bu klasifikasyon, stromal sellülaritenin derecesi, mitotik figürlerin varlığı, nekroz ve stromanın büyüklüğüne göre yapılır. Leiomyosarkom yetişkinlerde prostatta en sık görülen sarkomdur. Rabdomyosarkom ise çocukluk çağında prostatta en sık izlenen mezenkimal tümördür.^{127,126} Nadir olarak malign fibröz histiyositom, anjiosarkom, osteosarkom, kondrosarkom, malign periferik sinir kılıfı tümörü ve sinovyal sarkom bildirilmiştir.¹²⁵

2.9.15. Hematopoietik ve Lenfoid Tümörler

Olgularda en yaygın olarak büyük B hücreli lenfoma izlense de malign lenfomaların diğer bölgelerde izlenen tüm tipleri prostatta görülebilir. Hodgkin lenfoma nadirdir. Prostatın en sık lösemik tutulumu, kronik lenfositik lösemide izlenir.^{126,127,129}

Tablo 1 : Prostat Adenokarsinomlarının Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Sınıflaması^{125,127}

Epitelial tümörler	Mezenkimal tümörler
Glandüler neoplazmlar	Leiomyosarkom
Asiner adenokarsinom	Rabdomyosarkom
Asiner adenokarsinom	Kondrosarkom
Pseudohiperplastik	Anjiosarkom
Foamy	Malign fibröz histiyositom
Kolloid	Malign periferik sinir kılıfı tümörü
Signet ring	Hemanjiom
Onkositik	Kondrom
Lenfoepiteliyoma benzeri	Leiomyom
Karsinosarkom, sarkomatoid karsinom	Granüler hücreli tümör
Prostatik intraepitelial neoplazi (PIN)	Hemanjioperistom
Prostatik intraepitelial neoplazi (PIN III)	Soliter fibröz tümör
Duktal adenokarsinom	Hematolenfoid tümörler
Kribriform	Lenfoma
Papiller	Lösemi
Solid	Değişik tümörler
Ürotelyal tümör	Kistadenom
Ürotelyal karsinom	Nöroblastom (<i>Willm's</i> tümörü)
Skvamöz tümörler	Rabdoid tümör
Adenoskvamöz karsinom	Germ hücreli tümör
Skvamöz hücreli karsinom	Yolk salk
Bazal hücreli tümörler	Seminom
Bazal hücreli adenom	Embriyonel karsinom& teratom
Bazal hücreli karsinom	Koryokarsinom
Nöroendokrin tümörler	Berrak hücreli adenokarsinom
Endokrin diferansiyasyon gösteren adenokarsinom	Melanom
Karsinoid tümörler	Metastatik tümörler
Küçük hücreli karsinom	
Paraganglioma	
Nöroblastoma	
Prostatik stromal tümör	
Malignite potansiyeli belirsiz stromal tümör	
Stromal sarkom	

Tablo 2: Prostat Adenokarsinomlarının Evrelendirilmesi^{125,127}

Primer Tümör (T): Klinik Evreleme
Tx Primer tümör değerlendirilemiyor.
T0 Primer tümör bulgusu yok
T1 Klinik olarak görülebilen ya da palpe edilebilen tümör yok
T1a Tümör incelenen dokunun %5 ya da daha azında, insidental olarak tespit edilir
T1b Tümör incelenen dokunun %5'inden fazlasında, insidental olarak tespit edilir
T1c Tümör iğne biopsisi ile tespit edilir (ör. Yüksek PSA nedeniyle)
T2 Tümör prostat içinde sınırlı #
T2a Bir lobun yarısı ya da daha azını tutmuş
T2b Bir lobun yarısından fazlasını tutmuş
T2c Tümör her iki lobu tutmuş
T3 Tümör prostatik kapsül dışına yayılmış ##
T3a Mikroskopik mesane boynu tutulumu ve/veya ekstrakapsüler yayılım (unilateral ya da bilateral)
T3b Vezika seminalis tutulumu (bir ya da her ikisine)
T4 Tümör vezika seminalisler dışında diğer komşu organlara, mesane, eksternal sfinkter, rektum, levator kaslar ve/veya pelvik duvara invaze veya fikse.
Patolojik Evreleme (pTNM)
<u>Primer Tümör (pT)</u>
pT1 Tanımlanmıyor*
pT2 Organa sınırlı
pT2a Unilateral, bir lobun yarısı ya da daha azında tutulum
pT2b Unilateral, bir lobun yarısından fazlasını tutar
pT2c Bilateral tutulum
pT3 Ekstraprostatik yayılım
pT3a: Ekstraprostatik yayılım veya mikroskopik mesane boynu invazyonu
pT3c: Vezika seminalis(ler)e yayılım
pT4 Rektum, levator kaslar ve/veya pelvik duvar invazyonu
<u>Bölgesel lenf nodları (pN)</u>
pNX Bölgesel lenf nodu tutulumu değerlendirilemiyor
pN0 Bölgesel lenf düğümlerinde tutulum yok
pN1 Bölgesel lenf nodu ve veya nodlarında metastaz
<u>Uzak Metastaz(pM)</u>
pMX Uzak metastaz değerlendirilemiyor
pM0 Uzak metastaz yok
pM1 Uzak metastaz var
pM1a Bölgesel olmayan lenf nodlarında metastaz
pM1b Kemik metastazı
pM1c Diğer alan(lar), beraberinde kemik tutulumu var ya da yok
<i>Palpabl olmayan ya da görüntüleme teknikleri ile görülemeyen, iğne biopsisi ile bir ya da her iki lobda tümör saptanan vakalar T1c olarak sınıflanır.</i>
<i>Prostat apeksi ya da prostat kapsül (kapsülü aşmayan) tutulumu T3 değil, T2 olarak değerlendirilir.</i>
* <i>Patolojik T1 evresi yoktur. pT2 subklasifikasyonunun prognostik anlamı kanıtlanmamıştır.</i>

2.10. Tümör Yayılımı ve Evreleme

Prostat adenokarsinomunu evrelemedeki amaç, prognozu tayin etmek ve uygun tedaviyi belirlemektir. Prostat adenokarsinomunun klinik ve patolojik evrenmesinde ise tercih edilen TNM evreleme sistemidir. Lokal ekstraprostatik yayılım, periferal zonda yerleşen karsinomlarda, posterolateral bölgeye, transizyonel zonda yerleşen karsinomlarda, glandın anterior kısmına doğru görülmektedir. Prostat adenokarsinomu, metastazını en sık obturator ve hipogastrik bölgesel lenf düğümlerine, pelvis kemiklerine, aksial iskelet sistemine yapmaktadır. Visseral metastazlar, akciğer ve karaciğerdir.^{125,127}

2.11. Tedavi

Lokalize prostat karsinomlarında tedavi seçenekleri radikal prostatektomi, eksternal radyoterapi, hormonal tedavi ve herhangi bir tedavi vermeden izlem şeklindedir. Transüretral rezeksiyon materyallerinde insidental olarak saptanan karsinom ile tümör miktarı düşük ve iyi diferansiye olgularda genellikle ek tedaviye gerek görülmemektedir.^{125,127} Hormonal tedavi seçenekleri estrogen, LH analogları, RH analogları ve antiandrojen tedaviler ile bilateral orşiektomidir.^{125,127,137}

2.12. Prostatik İntraepitelyal Neoplazi PIN

Yapısal olarak benign ancak sitolojik olarak atipik hücrelerle döşeli büyük duktus ve asinustan oluşmaktadır.¹²⁶ Hücreler 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.^{125,126,138} Yüksek dereceli PIN, sıklıkla periferal zonda multifokal odaklar şeklinde görülmekte ve yaşla birlikte görülme insidansı artmaktadır.^{137,138} Yüksek dereceli PIN, prostat adenokarsinomlarının öncül lezyonu olarak kabul edilmekte ve çoğu prostat adenokarsinomuna eşlik etmektedir.^{126,127,137,138}

2.13. Polymerase Chain Reaction Tekniğinin Temel Prensipleri

1980'li yıllarda Cetus firması araştırmacıları, Polymerase Chain Reaction (PCR) 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.¹³⁹⁻¹⁴¹

PCR yöntemi, hedef bir gen ya da DNA bölgesinin, uç bölgelerine bağlanan oligonükleotid primerler aracılığıyla bir dizi replikasyon geçirerek çoğaltılmasına (amplifikasyon) dayanır.^{139,142,143} 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.^{139,142,143}

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.¹³⁹ Yeni DNA sentezinden sonra aynı primerler serbest kalarak tekrar kullanılabilir. Bu şekilde DNA'nın logaritmik olarak amplifikasyonu sağlanabilmektedir.^{139, 140}

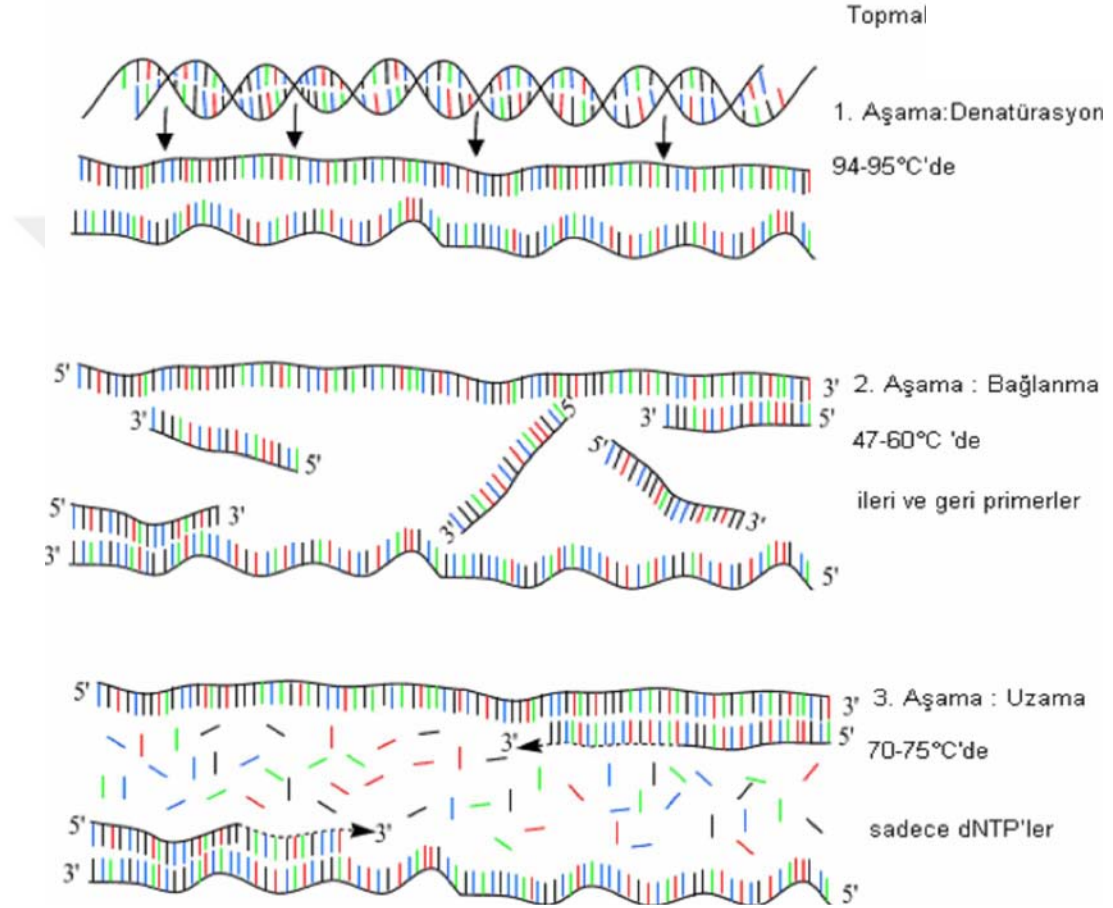
2.13.1 PCR'da temel aşamalar

Denatürasyon

Yüksek sıcaklık yardımıyla DNA molekülünün çift zincirli yapısı birbirinden ayrılır. İlk denatürasyon tek döngü olarak 15 dakika uygulanarak çift zincirli kalıp DNA'nın birbirinden ayrılması sağlanır. Sonraki döngülerde 94-95°C'de 0.5-2 dakika denatürasyon yeterli olmaktadır.^{144,145}

Bağlanma

Daha düşük sıcaklıklarda oligonükleotid primerlerin (ileri ve geri primerler), ayrılmış olan tek zincirli DNA üzerinde, kendi eşlenikleri olan bölgelere bağlanma aşamasıdır.



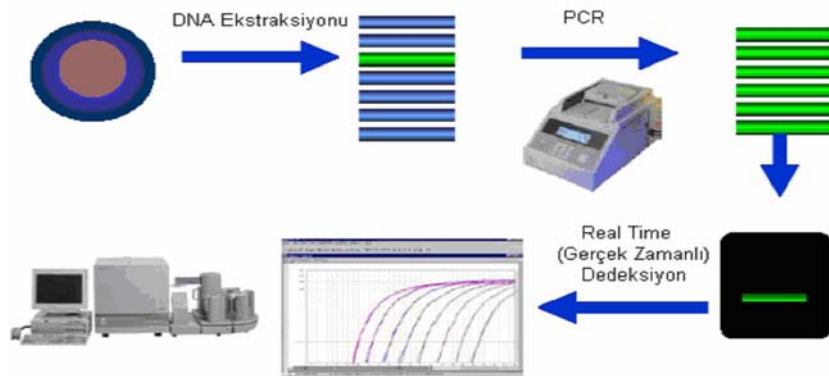
Şekil 4: PCR'da temel aşamalar¹⁴⁴

Uzama

Taq polimeraz aktivitesinin en yüksek olduğu 70-75°C arasında zincir uzaması meydana gelir. Genelde sıcaklık Taq polimeraz enziminin optimum faaliyet gösterdiği 72°C'ye kadar arttırılarak DNA polimeraz enziminin tamamlayıcı DNA zincirini uzatması sağlanır.^{145,146}

2.13.2. 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.^{140,147} 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 probler kullanılmakta ve sonuçlar anında alınarak, tüm işlemler otomatik olarak devam etmektedir.^{139,140,147,148} "Real-time PCR"da oluşan ürün miktarı, reaksiyon boyunca oluşan ürün miktarıyla orantılı olarak artan floresan boyanın verdiği sinyalin izlenmesiyle belirlenir.¹⁴⁹ Reaksiyon süresince gelişen amplifikasyon ve buna bağlı olarak artan floresan, bilgisayar monitöründen takip edilebilir.¹⁵⁰ 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.^{139, 141,151}



Şekil 5: Real Time PCR Sistemi¹⁵⁰

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.¹⁴⁹

2.13.3. Amplifikasyon Ürünlerinin Real-Time PCR’da Tespiti

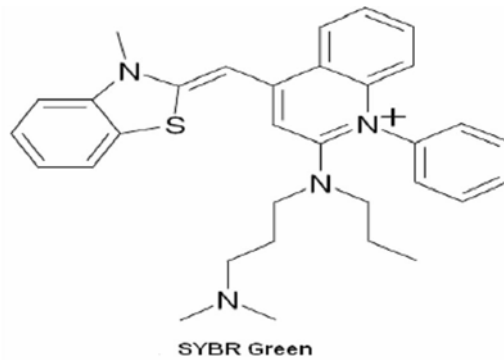
Real Time PCR yönteminde oluşan ürünü, verdiği floresans ile raporlayan bir raportör vardır. Raportör, oluşan ürün miktarını yansıtan bir floresans sinyal oluşturmaktadır. İlk döngüler sırasında bu sinyal zayıftır. Ürün miktarı arttıkça sinyal miktarı da artar ve bu artış üstel olarak devam eder. Sonrasında bu artış sona erer ve doygunluğa ulaşılır.^{139,149}

Reaksiyonun her bir döngüsünde reaksiyon boyunca artan ve elde edilen PCR ürünüyle paralellik gösteren floresans ölçümü için, çift zincirli DNA’ya bağlanan boyalar veya floresans ışımaya yapan diziye özgü proplar kullanılır.^{143,152}

SYBR Green, Eva Green, BEBO, YOYO-1, TOTO-1 çift zincirli DNA’ya spesifik boyalardır.¹³⁹

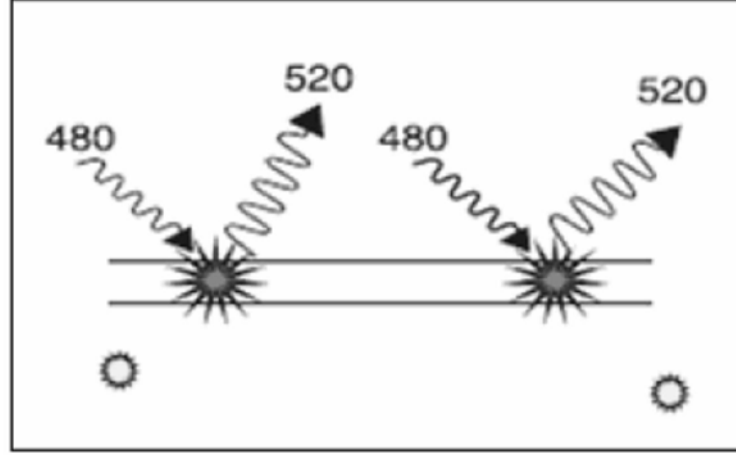
2.13.3.1. Çift zincirli DNA’ya bağlanan boyalar

En yaygın kullanıma sahip olan boya SYBR Green’dir.¹³⁹ SYBR Green yöntemi; amplifikasyona bağlı DNA artışı ile ortaya çıkan floresans miktarının ölçüldüğü en basit, en ucuz ve en direkt floresans veren real-time PCR sistemidir.^{153,154,155,156}



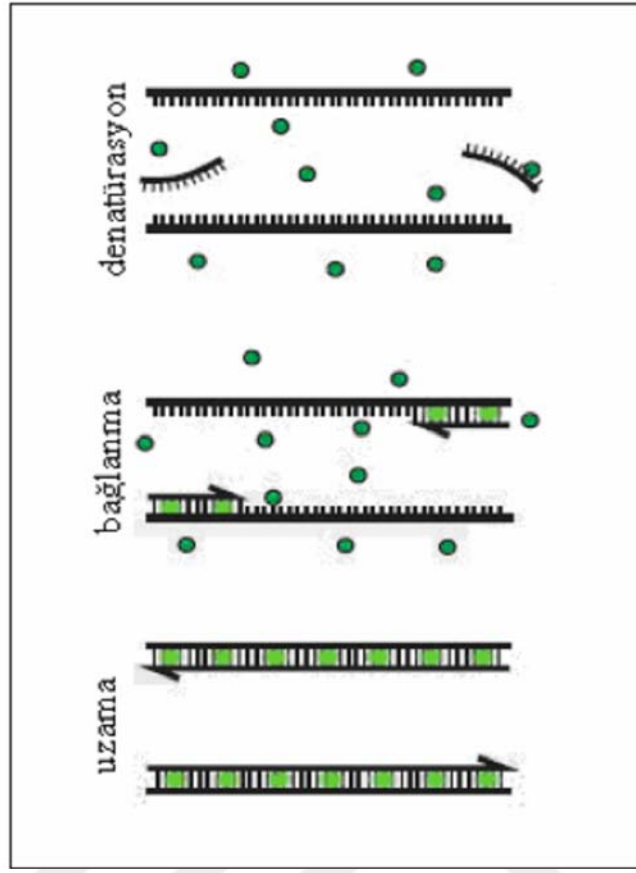
Şekil 6:SYBR Green'in Kimyasal Yapısı¹⁵³

Çift sarmal DNA'nın küçük oluşuna bağlanan Sybr Green I, serbest halinden 1000 kat daha güçlü floresans verir.¹⁵⁷



Şekil 7: Çift zincirli DNA molekülüyle birleşmiş haldeki Sybr Green I floresansı¹⁵⁷

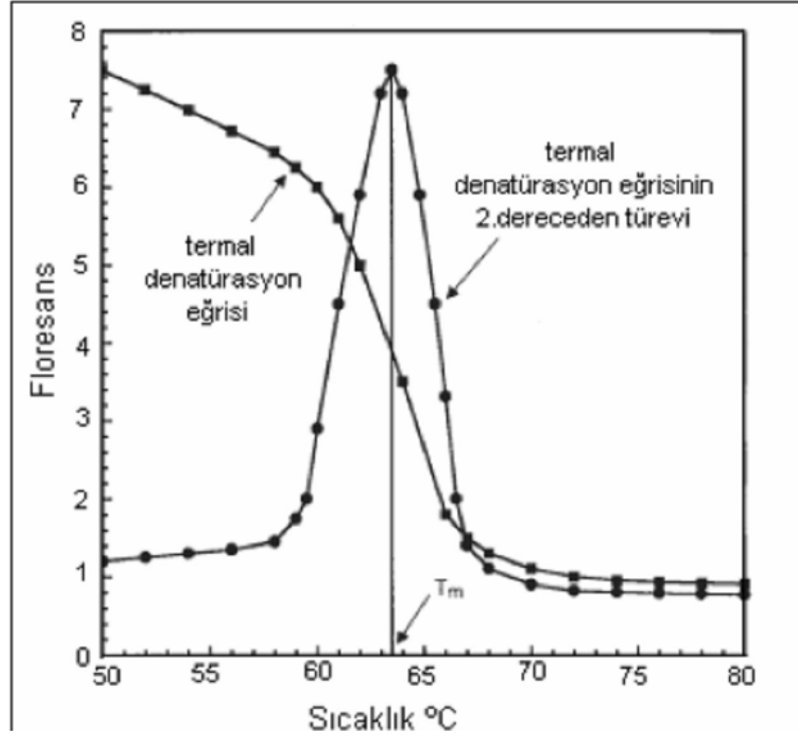
Primerlerin hedef moleküle bağlanması ile az miktarda Sybr green, çift sarmal yapıya katılır ve bunun sonucu olarak yayılan floresans miktarı da az olur. Uzama ile yeni sentezlenen çift sarmal yapı DNA molekülünün yapısına fazla miktarda boya katılması ile zaman içerisinde floresans miktarında artış meydana gelir.^{139,158}



Sekil 8: SYBR Green Yönteminin Prensibi¹⁵⁸

Bu yöntemin PCR'dan sonra amplikonun (PCR ürünü) uzunluğu ve baz dizisine spesifik T_m değerlerinin hesaplanması ile DNA erime eğrilerinin çizimine izin vermesi nedeni ile avantajlıdır. Yöntemin dezavantajı ise Sybr Green'in, tüm çift zincirli DNA moleküllerine bağlanabilmesi nedeni ile her zaman istediğimiz DNA bölgesinin çoğaldığını göstermemesi, bu nedenle yanlış pozitif sonuç alınabilmesidir.^{159,160} Çoğaltılan DNA'nın istenilen hedef bölge olup olmadığını anlayabilmek için DNA'ların erime eğrisi (melting curve) analizleri yapılmalıdır.¹⁵⁴ Erime eğrisi analizi yapmak istendiğinde PCR amplifikasyonunun ardından sıcaklık yavaş yavaş yükseltilerek, belirli aralıklarla tüpteki floresans miktarı kaydedilir.^{159,161} Çift sarmal yapı denatüre olup tek zincirli hale geldiğinde çift zincirli DNA'dan ayrılan Sybr Green miktarının artması ile floresansta lineer bir azalma olur. Termal denatürasyon eğrisinin ikinci dereceden türevi alınarak çan eğrisi şeklinde çizilmiş kurvenin tepe

noktası T_m değeri ile kesişim noktasıdır. Erime eğrisinden yararlanılarak amplikonun T_m derecesi saptanır ve bu T_m derecesi aynı koşullarda işleme alınan pozitif kontrolün T_m derecesiyle karşılaştırılması sonucu PCR değerinin doğru veya hatalı olduğuna karar verilir.¹⁶¹



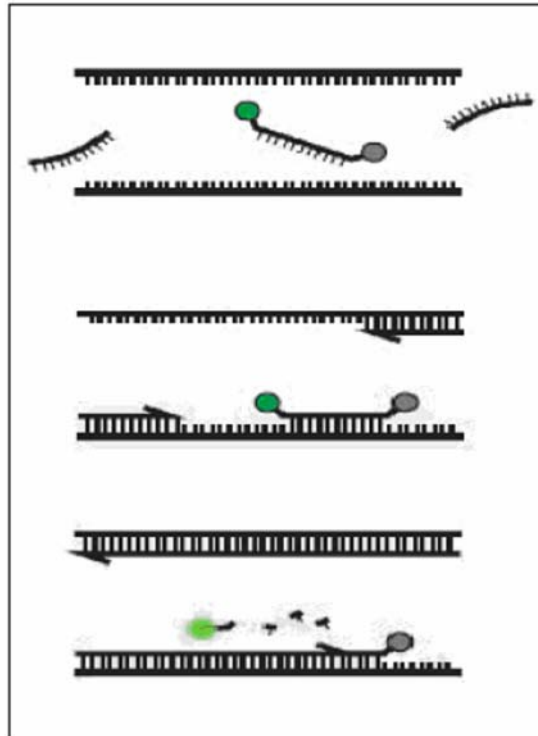
Şekil 9: Amplifiye edilmiş çift zincirli hedef DNA'nın Sybr Green I kullanılarak elde edilmiş termal denatürasyon kurvesi¹³⁹

2.13.3.2. Hedefe Özgü Problar

DNA parçasının çoğaltılmak istenilen bölgesi özel bir bölge ise, spesifik bölgenin belirlenmesinde kullanılır.¹³⁹ Real-Time PCR tekniğinde kullanılan en yaygın floresans işaretli problar "TaqMan" prob, "Molecular beacon", "FRET Hibridizasyon Probları" ve "Scorpion" dur.^{140,149}

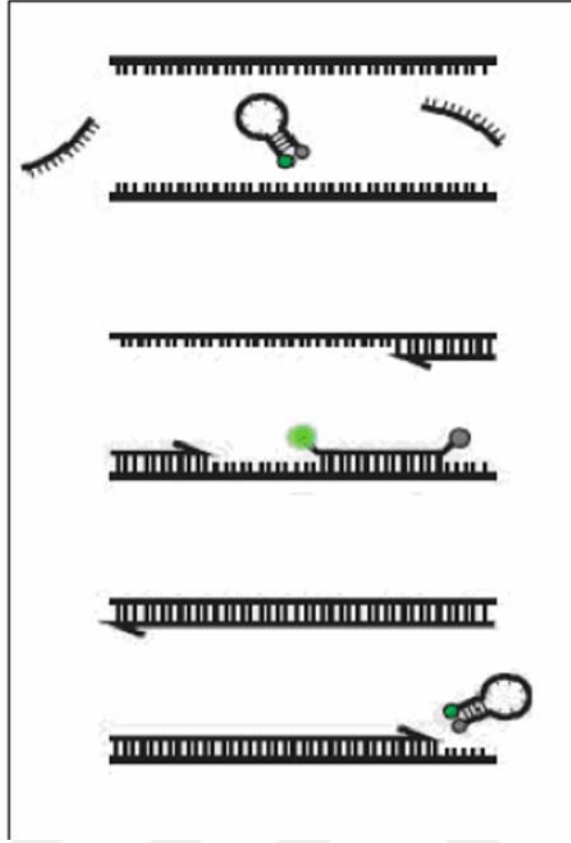
"TaqMan probe" yönteminde, çoğaltılmak istenilen DNA'ya komplementer olan ve floresan işaretlenmiş tek zincirli bir prob kullanılır. Floresan işaretli probun 5' ucunda raportör florokrom, 3' ucunda ise baskılayıcı (quencher) florokrom bulunur.^{152,158,162} 3' uçtaki baskılayıcı boya 5' uçtaki raportör boyanın

sinyal oluşturmasını engellemektedir. oğaltılma sırasında hedef nükleik asit dizisi üzerinde primerlerin bağlanma bölgeleri arasında “Taq Man” problemleri bağlanırlar. Primerlerin bağlanmasından sonra zincir oluşmaya başlar. Probun bağlı olduğu bölgeye gelindiğinde Taq DNA polimeraz enzimi 5'_3' nükleaz aktivitesi ile 5' ucundan yıkılınca floresans boya serbest hale gelerek sinyal verir. Her bir döngüde ürün miktarı arttıkça floresan sinyal artmaya devam eder.^{151,158}



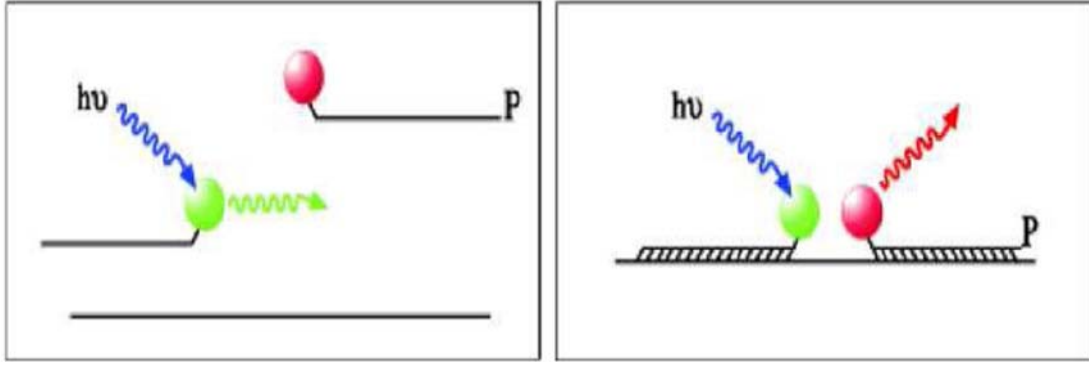
şekil 10: TaqMan Probe Yönteminin Prensibi¹⁵⁸

Moleküler Beacon yöntemi; Moleküler beacon probu solüsyon içerisinde serbest halde iken ışıma yapmaz. Hedef DNA bölgesi PCR ile çoğalmaya başladığı zaman probun komplementer olduğu DNA dizisine göre konformasyonu değişir ve tek zincirli hale gelir. Moleküler beacon, hedef nükleik asit dizisi ile hibridize olur olmaz molekülün yapısı değişerek boyalar birbirlerinden uzaklaştığından floresans miktarı artar.^{159,163}



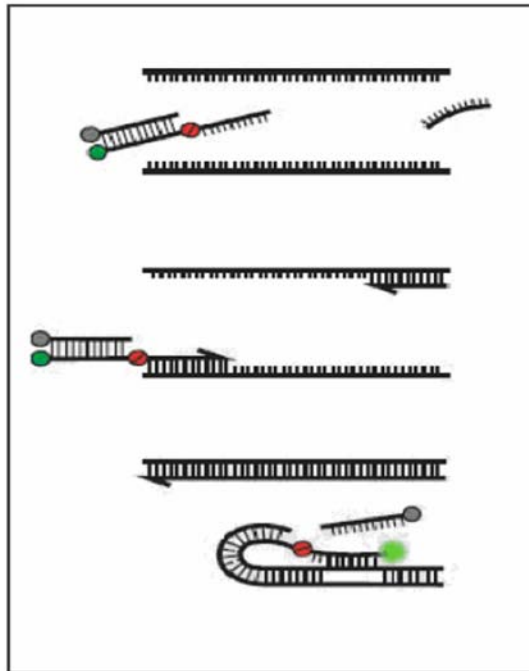
Sekil 11: Moleküler Beacon Yönteminin Prensibi¹⁵⁸

FRET Hibridizasyon Problemleri; “LightCycler®” PCR cihazında kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Hedef DNA dizisi üzerinde birbirine bitişik olarak hibridize olan iki prob kullanılır.^{164,165} Bunlardan birinin 3’ ucunda floresans işaretli boya (donor), diğerinin 5’ ucunda ise alıcı boya (acceptor) vardır. Problar hedef ampliconlar üzerinde birbirine yakın (1-5 nükleotit uzaklıkta) olarak bağlanmakta ve işaretli uçlar yan yana gelmektedir. İşaretli prob (donor) PCR sırasında harici bir ışık kaynağı tarafından uyarıldığında açığa çıkan enerji bitişikindeki ikinci prob üzerindeki alıcı boyayı (acceptor) etkileyerek floresans oluşumuna yol açar. “Fluorescence resonance energy transfer (FRET) olarak adlandırılan bu enerji transferi sonucunda oluşan floresans miktarı, ortamdaki hibridizasyonun derecesine diğer bir ifade ile PCR süresince oluşan ampliconların miktarına bağlı olarak artar.”^{152,158,159,164}



Şekil 12: FRET Yönteminin Prensibi¹⁶⁴

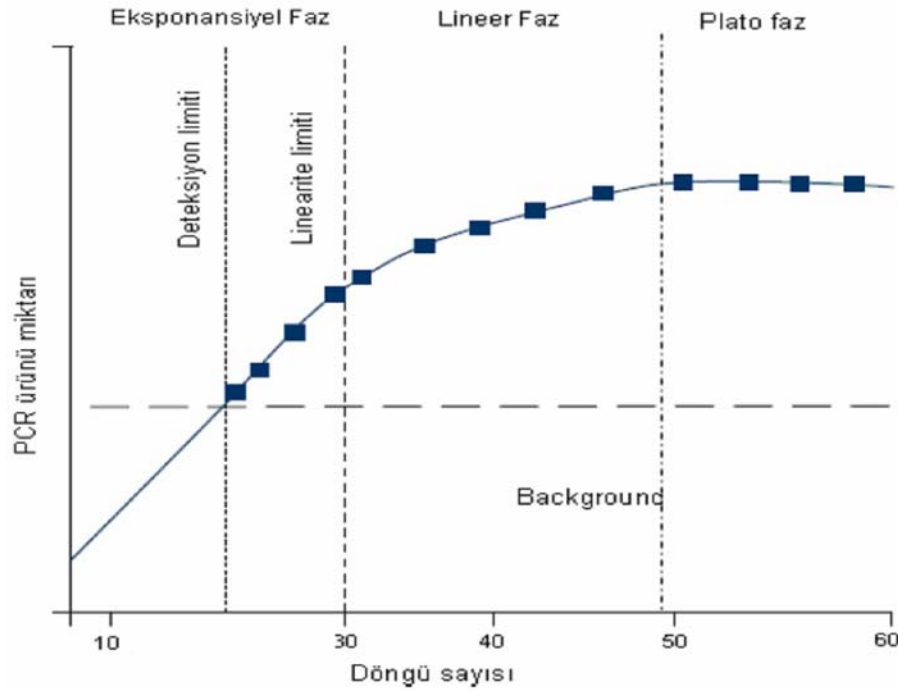
Farklı bir real-time PCR tipi olan scorpion probe tekniğın de ise; uçları birbirine yapışık saç tokası şeklinde işaretli bir probe, primer ile birleştirilmiştir. PCR işlemi sırasında primer ampliconların replikasyonunu gerçekleştirir, probe ise açılarak bu yeni sentezlenen amplicona hibridize olur ve bu sırada floresans marker baskılayıcı boyadan ayrılır ve sinyal verir.¹⁴⁰



Şekil 13: Scorpion Primerlerle Real-Time PCR'ın Temel Prensibi¹⁵⁸

2.13.4. Real Time PCR'ın Temel Fazları

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)”^{146,150,158} Real time PCR çalışmasında tüm örnekler için 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.¹⁴⁶. Yani CT değeri ΔR_n 'de önemli bir artışın olduğu ilk siklus anlamına gelir.



Şekil 14: Real Time PCR'da cevap kurvesi¹⁵²

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 degerinin hesaplanmasında kullanılan temel değerdir.¹⁵⁸

%100 efektif olduğu varsayılan A ve B örneklerindeki kalıp zincirin kopyalarının ilk sayıları arasındaki oran;

$$[No]A / [No]B = 2^{(CtB - CtA)} \text{ 'dır. }^{146}$$

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.

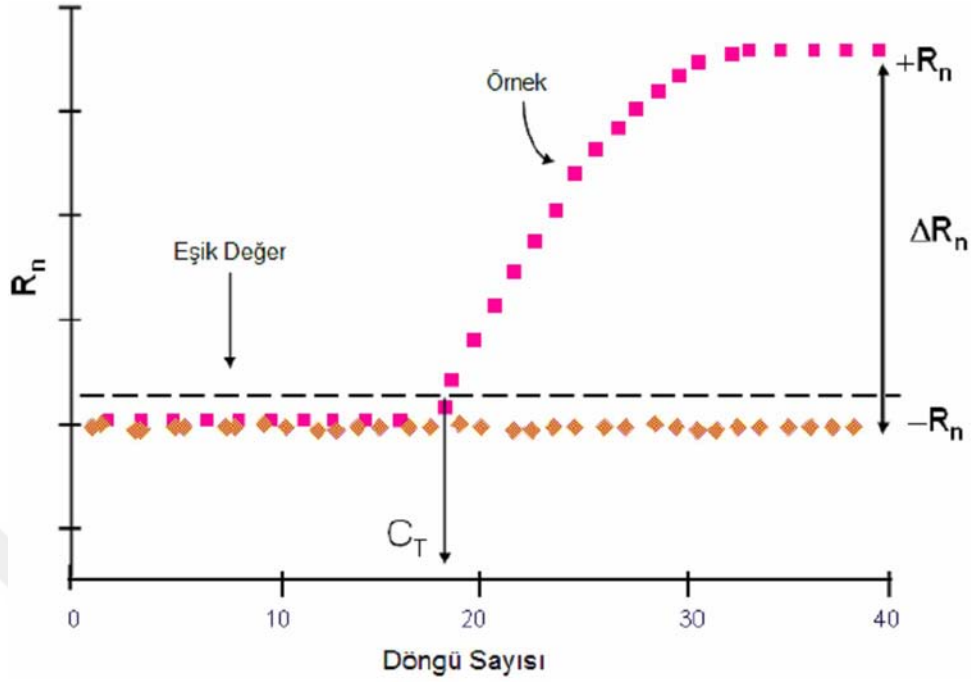
Eğer PCR mükemmel değilse PCR'ın etkinliği için şu eşitlik geçerlidir;

$$[No]A / [No]B = (1-E)^{(CtB - CtA)} \text{ 'dır. }^{146}$$

Burada "E", PCR reaksiyonun etkinliğini ifade eder.

$$\text{Etkinlik} = [10^{(-1/egim)}] - 1$$

formülü ile ifade edilen etkinlik PCR reaksiyonunun ve reaksiyon şartlarının ne kadar düzgün ayarlandığını ifade eden bir başlangıç kontrol parametresidir.



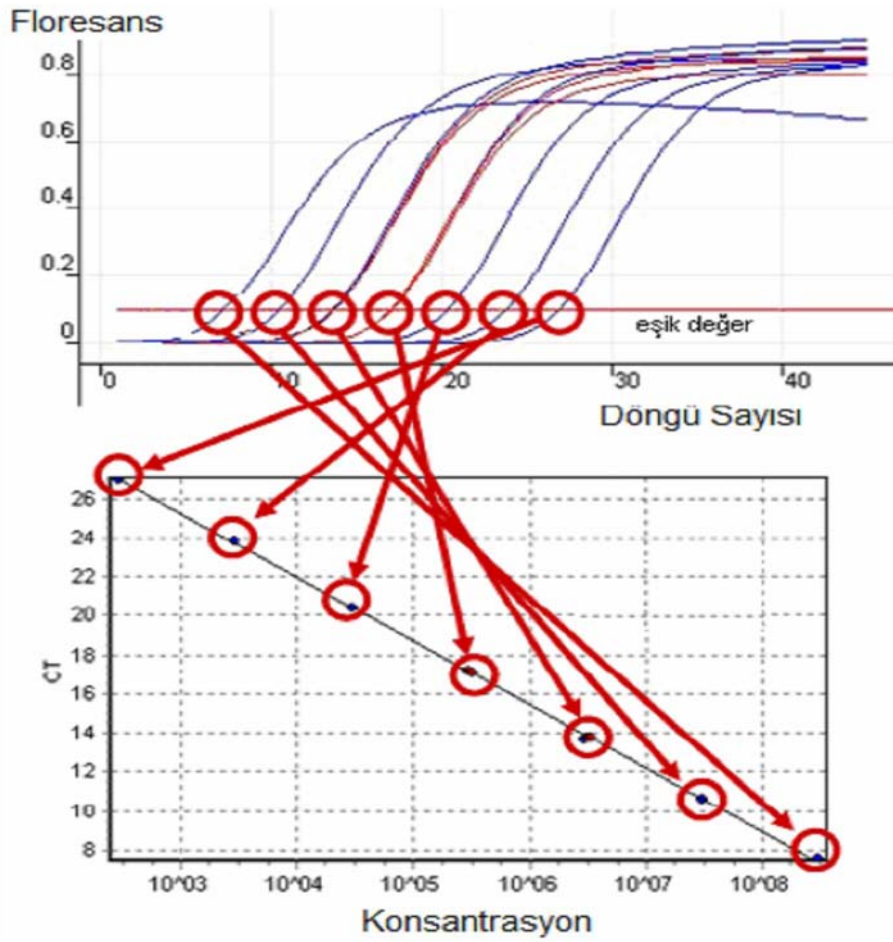
Şekil 15: Normalize reporter signal, ΔR_n ¹⁵⁸

2.13.5. Real Time PCR’da Kantitatif Analiz

Real time PCR’da kantitatif sonuçlar elde etmek için iki metod kullanılır. Bu metodlar; “standart curve metodu” ve “orantılı Ct değeri metodu”dur.¹⁴⁰ Standart curve metodunda kalıp DNA’nın seri dilüsyonları hazırlanırken; orantılı Ct değeri metodunda buna ihtiyaç yoktur. Ancak standart curve metodu ile çok küçük miktardaki örneklerle analizi yürütme şansı vardır.¹⁵⁰

2.13.5.1. Standart Kurve Metodu

Bu metotta hedef nükleik asit molekülünün (RNA, cDNA vs.) seri dilüsyonlarına ait logaritmik konsantrasyon değerlerine karşı elde edilen Ct değerleri kullanılarak standart bir curve oluşturulur. Daha sonra bu çizilen curve, hedef nükleik asit molekülünün miktarını anlamlandırmak üzere referans olarak kullanılır.^{150,152} Standart curve bize, log RNA veya DNA’nın başlangıç miktarları arasındaki ilişkiyi lineer bir grafik olarak sunar.^{166,167} Böylece elde edilen bu curve sayesinde konsantrasyonu bilinmeyen örneğin Ct değeri bulunarak konsantrasyonu tespit edilebilir.¹⁶⁷



Sekil 16: Standart Kurvenin Çizimi Olusumu¹⁶⁷

2.13.5.2. Orantılı CT Degeri Metodu

Real time PCR'da kantitatif sonuçların elde edilmesi için kullanılan diğer bir metod orantılı CT metodudur. Bu metotta örneklerin Ct değerlerinin bir kontrol (veya kalibratör) ile kıyaslanması esas alınır.^{140,150,152} Bu metod “ $2^{-\Delta\Delta CT}$ ” metod olarak da adlandırılmaktadır. Söz konusu $2^{-\Delta\Delta CT}$ değeri şu eşitlikle ifade edilir;

$$\Delta\Delta CT = \Delta CT_{\text{sample}} - \Delta CT_{\text{reference}}$$

Burada;

$\Delta CT_{\text{sample}}$; endojen bir housekeeping gene göre normalize edilmiş herhangi bir örneğe ait CT değeri,

$\Delta CT_{\text{reference}}$; endojen bir housekeeping gene göre normalize edilmiş kontrole (veya kalibratör) ait CT değeridir.

$\Delta\Delta CT$ değerinin geçerli olması için hedef molekülün amplifikasyon etkinliği ile geçerli referansın amplifikasyon etkinliğinin eşit olması gerekmektedir.¹⁴⁰

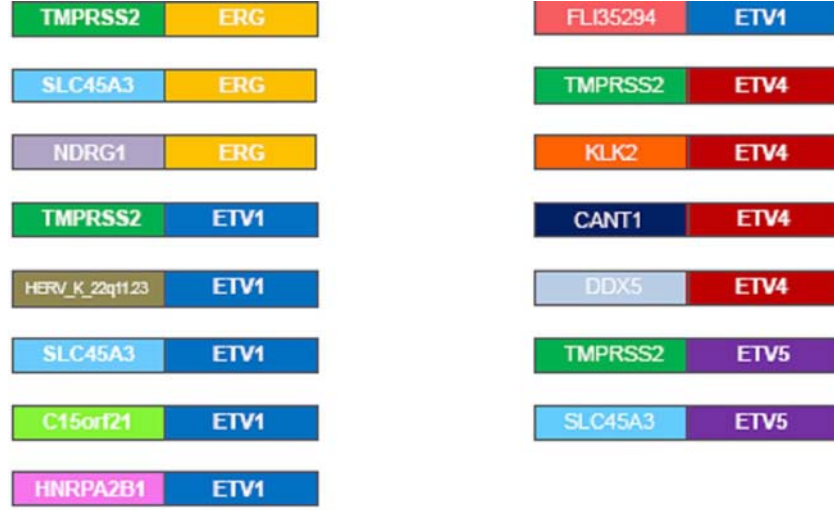
2.14. TMPRSS2ERG füzyon genlerinin keşfi ve etki mekanizması

Tomlins, PKa'de TMPRSS2-ERG füzyonunun biyolojik etkilerini çalışan ilk kişidir.¹⁶⁸ Probasin promotor kontrolünde, ERG eksprese eden transgenik fare üretilerek, ARR2Pb-ERG olarak tanımlanmıştır. Bu fareler 12-14 haftalıkken 3/8'ünde murin prostatik intraepitelyal neoplazi (mPIN) gelişmiştir. Klezovitch'in çalışmasına göre probasin kontrollü yüksek derecede ERG ekspresyonu olan farelerde, 5-6 ayda mPIN gelişmiştir.¹⁶⁸ 10-12 ayda mPIN gelişen farelerde öncekine göre daha az ekspresyon vardır, fakat normalden fazladır. PKa oluşumunun erken evre belirteci olarak, aşırı eksprese olan ERG , murin prostatta, benign bez yapılarında, bazal tabakada ayrılma oluşturmuştur. Daha sonra bu gözleme göre doku rekombinasyon çalışmasında aşırı ERG eksprese eden Prostat epitel hücreleri, böbrek kapsülüne implante edilmiş ve burada da bazal tabakada ayrılma olduğu görülmüştür.¹⁶⁹ Bu bilgilere göre, fare prostatındaki ERG'nin aşırı ekspresyonu, PIN lezyonlarının grade'ini yükseltmemektedir, fakat fare prostat epitel hücrelerinde olumsuz değişiklikler yapmaktadır.^{170,171} Bu değişiklikler farklı genetik temelli farelerde ve ERG gen izoformlarında da gözlenmektedir. Carver, PTEN geni(fosfotaz ve tensin homologu), çıkarılmış farelerde ERG seviyesinin belirgin olarak normalden yüksek olduğunu göstermiştir.¹⁷⁰ Bu kişi aynı zamanda probasin promotorlu ERG ekspresyonlu haploinsufficient PTEN modeli oluşturmuştur. Bu farede 2 ayda HGPIN oluşmuş ve 6 ayda multifokal adenokarsinom gelişmiştir. Kontrol PTEN heterozigot farede ise HGPIN 8 ayda oluşmuş ve adenokarsinom oluşmamıştır.¹⁷⁰ King'in TMPRSS2-ERG fare ile PTEN haploinsufficient fare çaprazlamasında, tüm farelerde (8/8) 6 ayda PIN oluşmuştur.¹⁷¹ Bu çalışmalara göre ERG ve PTEN, adenokarsinom gelişiminde kooperasyon oluşturmaktadır. Bu gözlem ayrıca ERG aşırı ekspresyonunun ya PTEN çıkarılmasıyla ya da Akt aktivasyonu ile kombine edildiği doku rekombinasyon çalışmalarında da desteklenmiştir.¹⁶⁹ Bu çalışmaların hepsi, ERG aşırı ekspresyonunu tek başına

incelemiş ya da diğer genetik değişikliklerle kombinasyon şeklinde incelemiştir. Alternatif olarak Sun¹⁷² ve Wang¹⁷³, xenograft modelde TMPRSS2-ERG pozitif VCaP hücrelerinde ERG baskılanmasının biyolojik etkilerini araştırmıştır. Bu modelde ERG, siRNA ile baskılandığında, sadece baskılanan SCID farelerin 2/9'unda 42 günde tümör geliştirmiştir, kontrol grubunda ise SCID farelerin 5/5'inde tümör geliştirmiştir.¹⁷² Benzer şekilde Wang, transfekte edilen shRNA(short hairpin RNA) VCaP hücreleri kullanarak farelerde, ERG ekspresyonunu araştırmış, 4 hafta sonra, karıştırılmış shRNA kontrol farelerinde lusiferaz sinyali olmuş ve tümör ağırlığı, ERG shRNA farelerinin 4 katı olmuştur.¹⁷³ Tümör supresör PTEN geni (fosfotaz ve tensin homologu), phofoinosit-3- kinaz(PI3K) büyüme faktörleri ve inhibitörünün kritik bir düzenleyicisidir. PKa'de PTEN kaybı sık görülür ve sonucu olarak hücre yaşam süresi, büyümesi ve proliferasyon düzeni bozulur. Önceki çalışmalara göre primer PKa'de PTEN %30-80; kemik metastazında %50 kaybolmuş veya mutasyona uğramıştır. PTEN kaybı ve TMPRSS2-ERG füzyonunun birlikte bulunması, kötü sonuçlarla ilişkilidir ve Carver, bunları, biyokimyasal rekürrensini istatistiksel olarak bağımsız prediktörleri olduğunu bulmuştur.¹⁷⁰ PTEN kaybı ve ERG rearanjmanı olmayan kanserler, istatistiksel olarak iyi prognozla ilişkilendirilmiştir.¹⁷⁴

Prostat kanseri füzyon genlerinde bir çok ETS Faktörü tanımlanmıştır:

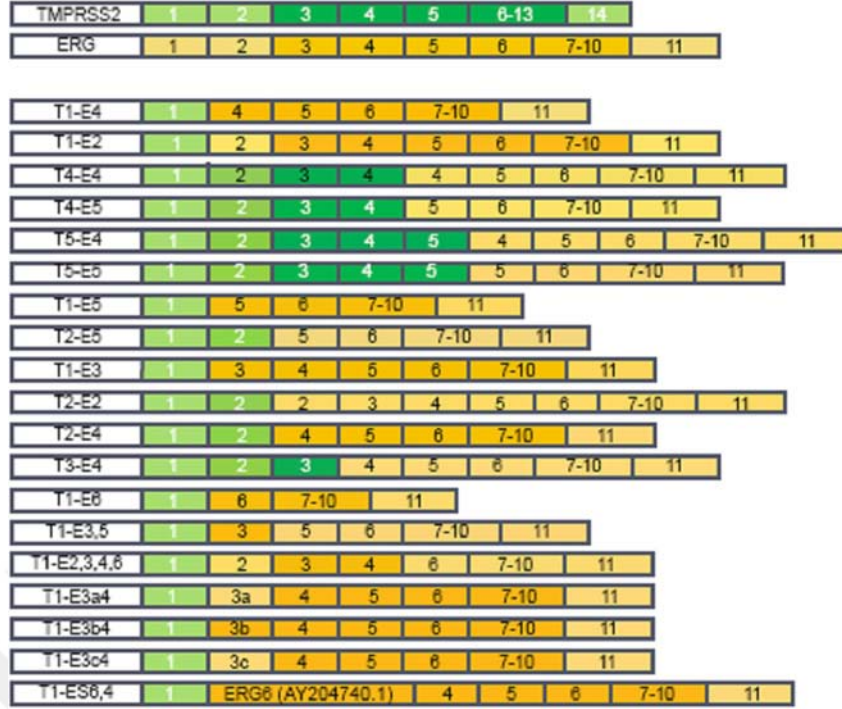
İlk bulunan füzyonlar TMPRSS2-ERG ve TMPRSS2-ETV1'dir, 2005 yılında Tomlins tarafından keşfedilmiştir.³ Kısa bir süre sonra TMPRSS2-ETV4 tanımlanmıştır.¹⁷⁵ PKa'de bulunan diğer ets füzyonları: HERV_K_22q11.23-ETV1, SLC45A3-ETV1, C15orf21-ETV1, HNRPA2B1-ETV1 [7], KLK2-ETV4, CANT1-ETV4¹⁷⁶, TMPRSS2-ETV5, SLC45A3-ETV5¹⁷⁷, SLC45A3- ERG, DDX5-ETV4, FLJ35294-ETV1¹⁷⁸, ve NDRG1-ERG¹⁷⁹ dir.



Şekil 17: Prostat kanseri füzyon genlerinde ets faktörleri^{178,179}

PKa'de füzyon genlerinde birçok ets faktörü tanımlanmıştır. Bunların arasında ERG, ETV1, ETV4 ve ETC5 vardır.^{178,179}

TMPRSS2'ye ek olarak ets ailesine ait birçok 5' eşleri tanımlanmıştır. Bu rearanjmanlar ve translokasyonlar, intrakromozomal delesyonlara bağlı olarak görülebilir. TMPRSS2-ERG'de bu rearanjman ya kromozom 21'deki 3 Mb interstisyel delesyona ya da kromozomal translokasyona bağlı görülebilir. Bu füzyonun sık görülmesi, PKa'de kromozom rearanjmanında bu bölgenin bir Hotspot olduğunu göstermektedir. PKa'de ekzon sekans çalışmalarında hastanın dokusunda bu füzyon geninin eksprese olduğu doğrulanmıştır. Diğer 5' ets füzyonları farklı kromozomlarda nadir olarak görülmektedir. Alternatif kesimli birçok farklı mRNA Transkript varyantıyla vahşi tip ERG'ler gösterilmiştir. Doğal ERG mRNA transkriptlerinin alternatif kesimleri, ERG proteinlerinin farklı izoformlarını oluşturmuştur.^{173,180} Bununla uyumlu şekilde TMPRSS2-ERG füzyonunun birçok kesim varyantı tanımlanmıştır. Bu varyantların farklılıkları, transkriptte olan varyantın ekzonlarıdır. Bunlar arasında şunlar yer alır: T1-E4³, T1-E2, T4-E4, T4-E5, T5-E4¹⁸¹, T1-E5¹⁵, T1-E3¹⁸², T3-E4, T2-E2, T1-E3,5, T1-E2,3,4,6, T2-E4, T1-E6, T1-E3a4, T1-E3b4, T1-E3c4¹⁸³, T1-E6,4 [18], T2-E5¹⁸⁴.

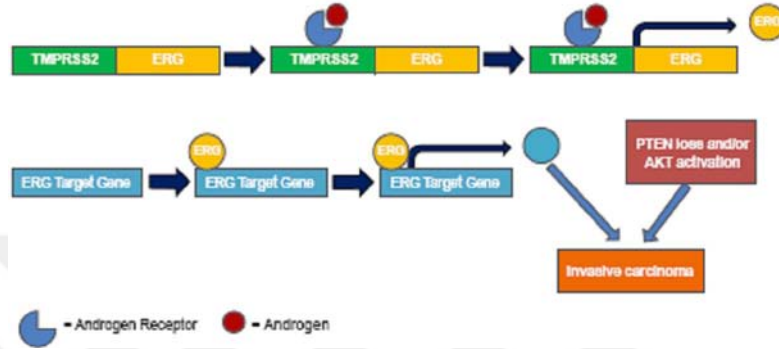


Şekil 18. TMPRSS2-ERG füzyon varyantları¹⁸⁴

Birçok TMPRSS2-ERG füzyon varyantı tanımlanmıştır, en yaygını T1-E4'tür.¹⁸⁴

Bu varyantlar TMPRSS2 ve ERG füzyonunda bulunan ekzonlarına göre değişirler. T2-S6,4 varyantında, füzyonda TMPRSS2'nin ekzon 2 parçası bulunur ve bu 95 nükleotidlik parça ERG form 6 ile aynı uzunluktadır. Daha sonra ERG'nin ekzon 4'ü takip eder. TMPRSS2 yeşil ve ERG sarıdır. Açık renkliler okunmayan bölgelerdir. Koyu renkliler açık okuma bölgeleridir. T, füzyondaki TMPRSS2'nin son ekzonunu temsil eder, E ise ERG'nin ilk ekzonunu temsil eder (Şekil 18). Ayrıca TMPRSS2-ERG izoformlarından eksprese edilen çeşitli 72bp ekzonlar tanımlanmıştır.¹⁷³ TMPRSS2-ERG füzyon proteinleri, genelde 5' doğal ekzonlarını kaybettikleri için N-terminal ERG proteinleri olarak eksprese edilirler. 5'TMPRSS2 ekzonları füzyonda genelde kodlanmaz ve proteinlere dönüşmezler fakat hem TMPRSS2 hem ERG'nin bazı transkript varyantları proteinlere dönüşebilir. Örneğin TMPRSS2-ERG füzyon transkriptinin T2-E4 varyantı, TMPRSS2 Ekzon 2'nin proteini olarak, n-terminali, ERG' nin N-terminali ile birleşir.^{182,183} DNA bağlayan ETS bölgesi ve ERG protein transaktivasyon bölgesi, proteinin c terminalinde bulunur.¹⁸⁰ Bu nedenle,

n terminalinin aksine DNA bağlanma ve protein-protein etkileşimi TMPRSS2-ERG füzyonunda korunmuştur. Böylece farklı ERG füzyon izoformları, vahşi ERG tipiyle benzer biyolojik fonksiyon gösterirler ve PKa progresyonunda aşırı eksprese olurlar.



Şekil 19: TMPRSS2 Reseptörüne bağlanmış androjen, ERG transkripsiyonunu upregüle etmesi³

ERG'nin aşırı üretimi hedef geninin promotoruna bağlanarak, aktivasyon veya inhibisyon ile neoplastik fenotipin oluşumuna neden olur. TMPRSS2-ERG füzyonundaki ERG'nin hedef genleri, MMP3, PLAU, LAMC2, KCNS3, PLA1A, C-MYC, GNMT, SARDH, CXCR4, ADAMTS1, TFF3, ERG, PLAT, MMP9, NDRG1, CUTL2, AR, KLK3 (PSA), KLK2, SLC43A1, FKBP5, EZH2, ZBTB16, HPGD, ZEB1, SPINT1, IL1R2, PSMA ve OPN'dir. Bu ve diğer regüle edilen genler PKa progresyonuna yardım edebilir. Ayrıca TMPRSS2-ERG füzyonu pozitif PKa dokusunda, PTEN kaybı ve AKT aşırı ekspresyonu invaziv karsinom gelişimini tetikler.³

2.15. TMPRSS2-ERG füzyonunun PKa'nin klinik prognozundaki yeri:

TMPRSS2-ERG füzyonu 2005'te ilk tanımlandığında, bu füzyonun PKa gelişimine, prognozuna, agresifliğine, klinik sonuçlarına etkisi konusunda tutarsız raporlar yayınlanmıştır. Bir kaç grup, TMPRSS2-ERG füzyonunun pozitifler arasında stage, grade ve gleason skoru, PSA rekürrensi, progresyon, prognoz ve/veya agresiflik açısından bir ilişki bulamamıştır.^{17,27,185-191} Radikal

prostatektomi yapılan füzyon pozitif hastaların sonuçlarının daha iyi olduğu bulunmuştur.²¹ Diğer bir grup ise füzyon pozitif tümörlerin yüksek sağkalım ve düşük gleason skoruyla ilişkili olduğunu bulmuştur.¹⁹² Hermans ise füzyondaki TMPRSS2 transkriptinde ekzon 0 bulunmasının, daha az agresif tümör ve daha iyi prognozla ilişkili olduğunu bulmuştur.¹⁹³ Füzyon durumu ayrıca kötü sonuçlar ve prognostik belirteçlerle ilişkilidir. Fitzgerald, füzyon gen kopyalarının artmasının düşük sağkalımla ilişkili olduğunu bulmuştur.¹⁹¹ Gopalan, delesyonlarla artan füzyon kopyalarının, agresifliği artırdığını bulmuştur.¹³ Diğer bir grup 2+Edel(delesyonla oluşan füzyon kopyaları gösterir) füzyonlarının, 8 yıllık sağkalımlarının %25 olduğunu bulmuştur.¹⁹⁴ Füzyon kopya sayısı artışı, kötü prognozla ilişkilidir.¹⁹⁵ Yukarda bahsedildiği gibi, translokasyon yerine delesyonla oluşan füzyonlar, daha agresiftir. Mehra'nın yayınladığı bir rapora göre, füzyon pozitif metastatik bölgeler, sadece delesyonla oluşmuştur.¹⁹⁶ Delesyonla oluşmuş TMPRSS2-ERG füzyonları yüksek tümör stage ve lenf nodu tutulumu ile ilişkilidir.¹⁹⁷ Rostad ise TMPRSS2-ERG füzyonunun, yüksek seviye PSA'nın, ileri evre ve yüksek gleason skoru ile ilişkili olduğunu bulmuştur.¹⁹⁸ Ayrıca TMPRSS2-ERG tümörler yüksek grade ile ilişkili bulunmuştur¹⁹⁹ ve metastaza daha yatkındırlar.²⁰⁰ Diğer bir çalışmada ise TMPRSS2-ERG füzyonu ile PKa'ye bağlı ölüm arasında ilişki bulmuşlardır.²⁷

Farklı TMPRSS2-ERG varyantları kötü prognostik faktörlerle ilişkilidir. Wang, 72bp farklı eksprese olan bölge varlığında proliferasyon, invazivlik ve mortalitenin arttığını bulmuştur.¹⁷³ Ayrıca aynı kişi yine T2-E4 füzyonunun agresif hastalıkla ilişkili olduğunu bulmuştur.¹⁷³ T1-E2, T1-E3 ve T2-E4 füzyonları daha agresif hastalık ve seminal vezikül invazyonu ile ilişkili bulunmuştur.¹⁸² Mosquera'nın çalışmasına göre TMPRSS2-ERG füzyon varlığı belirli morfolojik özelliklerle ilişkilidir.²⁰¹ Bu özellikler arasında kribriform büyüme, mavi boyalı musin, makronükleolus, kollajenöz mikronodüller yer alır. Prostat kanseri progresyonunda TMPRSS2-ERG gen füzyonunun rolü,gen füzyonları keşfedilmesinden bu yana, TMPRSS2-ERG pozitif PKa'de ERG aşırı ekspresyonunun yolakları ve etkileri tanımlanmaktadır.²⁰¹

2.16. ERG'nin protein-protein etkileşimi ve hedef gen etkileri

Çalışmaların çoğu, androjen hassas PKa'deki ERG ile androjen reseptörleri (AR) arasındaki anahtar mekanizmayı açıklamıştır. Kastrasyon dirençli PKa (CRPC) 'nin kısmi bağımsız AR regülasyonu göstermesinin aksine CRPC'de TMPRSS2-ERG ekspresyonu devamlılık göstermektedir. Hayvan modellerinin yanı sıra ERG'nin biyolojik rolünü açıklamak için hücre kültür modelleri de kullanılmıştır. VCaP hücrelerinde siRNA ile ERG baskılama, hücrelerin agresifliğini azaltmıştır.^{168,172,173} Aşırı ERG ekspresyonuyla ilişkili ürokinaz plazminojen aktivatörünü (uPA) ve plazminojen aktivatör yollarını bloklamak ve tabi uPA'yı siRNA ile baskılamak, RWPE, VCaP ve BPH-1 hücrelerinde agresifliği azaltmaktadır.^{168,202} Zıt şekilde, ERG aşırı ekspresyonunun hücre kültür çalışmalarında birçok etkileri bulunmuştur. Örnek olarak RWPE ve PrEC hücrelerinde invazyonu artırmaktadır.¹⁶⁸ BPH-1 hücrelerinde proliferasyon ve invazivliği artırmaktadır.²⁰² PNT1a hücrelerinde agresifliği artırmaktadır.¹⁷³ Kemokin reseptörü CXCR4, VCaP hücrelerinde agresifliği artırmaktadır. R1881 tedavisi ERG füzyon proteinlerinin CXCR4 promotoruna bağlanarak, CXCR4 gen ekspresyonunu upregüle eder.²⁰³ Bir kemoinvazyon testinde, ligant CXCL12 kemoatraktan olarak görev alır. VCaP hücreleri sentetik androjen R1881 ile tedavi edilince kemoinvazyon hızı artmaktadır. Bu durum, ERG füzyon proteinleriyle invazyon artışının diğer bir mekanizmasını gösterir. BPH-1 veya PNT1a hücrelerinde ERG aşırı ekspresyonu hücrel migrasyonu artırır.^{170,173} Birlikte eksprese edilen çoklu ERG transkript varyantları ilginç şekilde sinerjik olarak hücre proliferasyon hızını artırır.¹⁷³ TMPRSS2-ERG füzyonuna bağlı ERG aşırı ekspresyonu hücre kültüründe agresifliği, proliferasyonu, migrasyonu artırır. Böylelikle normal hücrel aktiviteyi değiştirebilir. ERG protein-protein etkileşimi ve DNA bağlama özelliğiyle spesifik gen lokuslarına etki eder. İn vitro koimmünopresipitasyon (Co-IP) yapılarak ERG protein yapısı ve etkileşimi çalışmaları göstermiştir ki, ETS bölgesi DNA bağlama ve protein etkileşimi yapmaktadır. Vahşi ERG proteinleri ETS bölgesi üzerinden diğer Fli-1, ETS-2, Er81, ve Pu-1^{180,204} gibi ETS transkripsiyon faktörleriyle heterodimerizasyon yaparak etki göstermektedir. Farklı ERG izoformları AP1 ailesi Fos ve Jun ile etkileşime

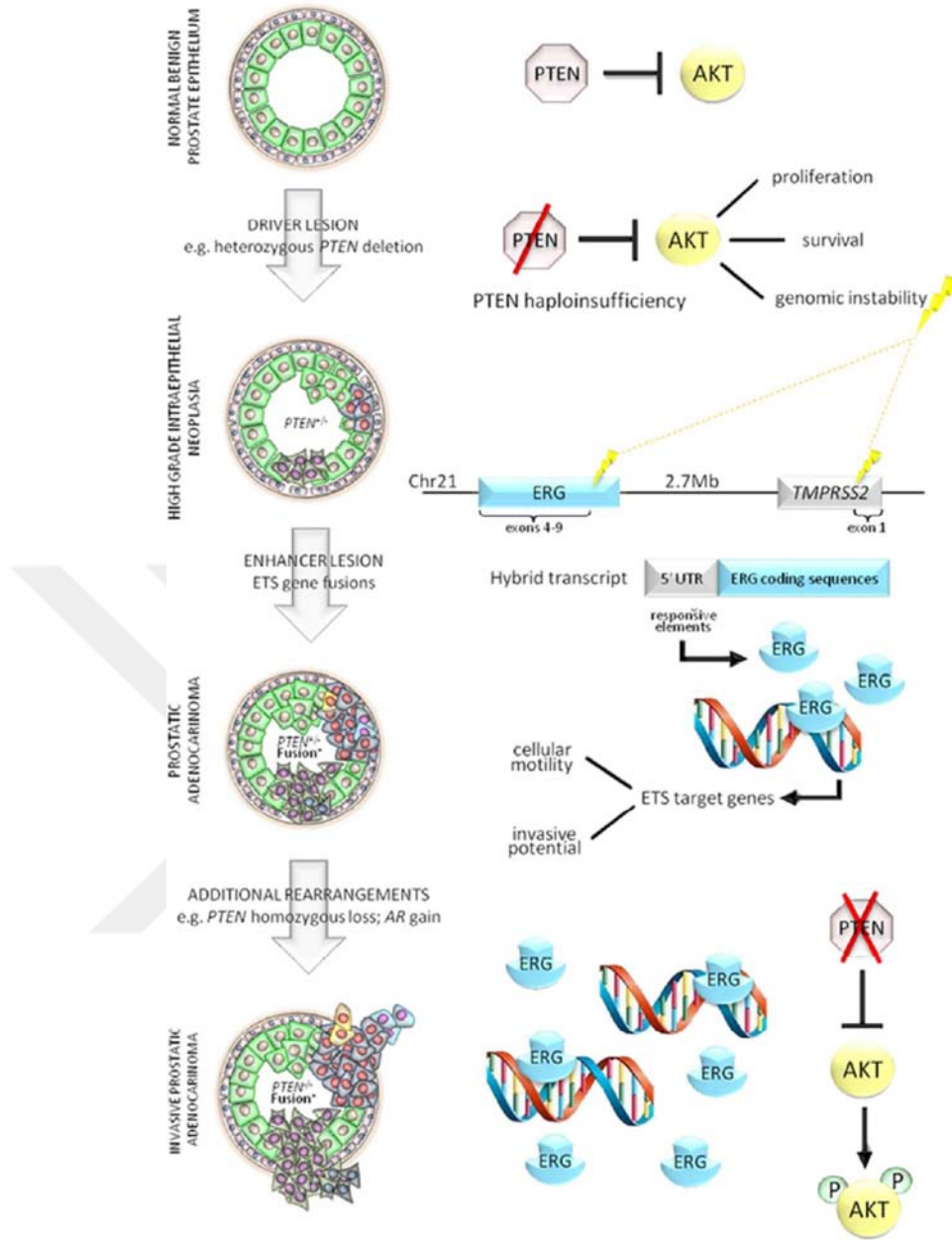
girerek üçlü ERG/Fos/Jun kompleksi oluşturmaktadır. Aynı çalışmada ERG proteinleri benzer veya diğer ERG izoformları ile fiziksel olarak etkileşerek homodimerizasyon ve homo-izo-dimerizasyon yapmaktadır.¹⁸⁰ Diğer bir çalışmada, vahşi tip ERG proteinlerinin, MMP1 ve MMP3 gen promotorlarıyla etkileştiği doğrulanmıştır. ERG, MMP1 promotorunu aktive etmek için Fos ve Jun ile etkileşir ve zıt şekilde ERG, ETS indüklü MMP3 promotor aktivasyonunu inhibe eder.²⁰⁵ VCaP ve ERG pozitif PKa' dokusunda yapılan kütle spektrometresi ve western blot analizlerine göre, ERG fiziksel olarak PARP1 ve DNA-PKcs ile DNA bağımsız etkileşir, witKu70 ve Ku80 ile DNA bağımlı etkileşir. ERG tüm 4 proteinle C-terminali ile etkileşir ve ERG spesifik olarak DNA-PKcs ile ERG-ETS bölgesi aminoasit Y373 ile etkileşir. Bu protein etkileşimi, DNA da çift sarmal kırmayı ve transkripsiyon regülasyonunu yönetir. Aynı çalışmada, kromatin immünpresipitasyonla PARP1, DNA-PKcs, Ku70, ve Ku80; ERG hedef genlerine bağlandığı gösterilmiştir. PARP1 ve DNA-PKcs, ERG'nin PLA1 genini aktive etmesi için gereklidir.²⁰⁶ Bu sonuçlara göre ERG, gen transkripsiyonunu protein etkileşimine bağlı şekilde düzenler. ERG birçok genin anormal ekspresyonu ile ilişkilidir. Bu genler kromatin immünpresipitasyonla (ChIP) bulunmuştur. Tomlins, ERG'nin doğrudan bağlandığı ürokinaz plazminojen aktivatörünün (PLAU) proksimal promotoru ve MMP3'ü bu benzer bir metotla bulmuştur.¹⁶⁸ ChIP, ayrıca ERG'nin C-MYC promotor üst kısımlarındaki ETS elementlerinin etkinliğini göstermiştir.¹⁷² Bu çalışma göstermiştir ki, ERG, PSA enhancer ve prostatein promotor üst bölge ETS elemanlarında görev alır ve ERG, PSA ekspresyonu ile doğrudan etkileşime girmektedir.¹⁷² Ayrıca ERG, GNMT ve SARDH promotoruna bağlanır. ChIP Testi yine ERG'nin doğrudan hem CXCR4 hem de ADAMTS1'e bağlandığını bulmuştur ve bu iki gen ERG aşırı ekspresyonunda upregüle olur.¹⁷⁰ Ayrıca R1881 tedavisine cevapta ERG doğrudan CXCR4 promotoruna bağlanır.²⁰³ Tomlins'in bir çalışmasında ChIP; LAMC2, KNCS3, ve PLA1A'yi ERG'nin doğrudan hedefi olarak bulmuştur. ERG'nin birçok gen ile işbirliği yaptığı bulunmuştur. Bunlar: PLAU, PLAT, MMP9, NDRG1, CUTL2, AR, KLK3 (PSA), KLK2, SLC45A1, FKBP5, EZH2, ve ZBTB16²⁰⁷. ERG, TFF3 (Androjen düzenleyici gen) gen lokusuyla etkileşim için AR ile işbirliği yapar.²⁰⁸ Bir

çalışmada ERG, prostoglandin sinyalizasyonunun modülatörü olarak tanımlanmıştır. ERG doğrudan HPGD geninin promotorundaki çekirdek gene bağlanır. Bu çalışmada VCaP hücrelerinde ERG siRNA, HPGD ekspresyonunu artırır. Buna göre ERG, HPGD promotor ekspresyonunu negatif olarak düzenler.²⁰⁹ ERG ayrıca epitelin, mezenkime dönüşümünü destekler ve ERG doğrudan ZEB1, SPINT1 IL1R2 genlerine bağlanır.²¹⁰ Flajollet'in yaptığı bir çalışmada, ERG, doğrudan osteopontin geni (OPN) promotorundaki ETS dizisine bağlanır ve OPN gen ekspresyonunu artırır.²¹¹ Diğer bir çalışmada ERG, PSMA gen lokusuna bağlanarak PSMA ekspresyonunu negatif olarak düzenler.²¹² Yakın zamanda yapılan bir çalışmanın bulgusuna göre TMPRSS2-ERG füzyonu kontrolünde vahşi tip ERG ekspresyonu olmaktadır. Bu bilgi ChIP'de ERG'nin VCaP füzyon pozitiflerde vahşi ERG lokusuna bağlanmasıyla doğrulanmıştır fakat LNCaP füzyon negatif hastalarda doğrulanmamıştır.²¹³ ERG ve AR kendi lokuslarının ve PKa hedef genlerinin transkripsiyon regülatörleridir. TMPRSS2-ERG pozitif PKa hücrelerindeki AR'nin rolü, hücre kültür çalışmalarında incelenmiştir. VCaP hücrelerinde ERG, fiziksel olarak AR ile etkileşime girdiği bu etkileşim, Co-IP ile doğrulanmıştır. İn vitro çalışmalara göre ERG-AR etkileşimi, ERG-ETS bölgesi üstünden DNA'dan bağımsız olarak gerçekleşmektedir. Aynı çalışma ERG'nin transkripsiyonel regülasyonunun, AR ile birlikte olduğunu göstermiştir. ChIP testi ile ERG ve AR'nin birçok birçok androjen düzenleyici genle işbirliğinde olduğunu ortaya koymuştur. Bunlar arasında KLK3 ve AR yer alır. Bu çalışmaya göre ERG'nin AR mRNA ve protein ekspresyonunda inhibitör etkisi vardır. Diğer bir çalışmaya göre hormon hassas PKa ve CRPC'de ERG, TFF3 bölgesine doğrudan bağlanarak TFF3 ekspresyonunu düzenlemektedir.²⁰⁸ İlginç şekilde ERG, hormon hassas PKa'de TFF3 Ekspresyonunu baskılar, CRPC'de TFF3 ekspresyonunu indükler.

AR pozitif olarak ERG ekspresyonunu ve muhtemel ERG hedef gen ekspresyonunu düzenlemektedir. Cai'nin çalışmasında, füzyon pozitif VCaP hücrelerinde sentetik androjen R1881, ERG ve CXCR4 ekspresyonunu upregüle ettiği bulunmuştur.²⁰³ Ek olarak R1881'in TMPRSS2-ERG füzyonunu aktive etmesi, füzyon pozitif VCaP hücrelerinde CXCR4 ekspresyonunu artırmaktadır.²⁰³ R1881 tedavisi sonrası CXCR4 seviyesinin artması dolaylı

olarak R1881/AR indüklü ERG upregülasyonu ile AR aktivasyonuna bağlanmıştır. Bu sonuçlarla uyumlu şekilde diğer birçok bağımsız çalışmada da R1881 ile tedavi edilen VCaP hücrelerinde TMPRSS2-ERG ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir.^{3,212,214,215} Fakat AR negatif, füzyon pozitif NCIH660 hastalarında R1881 tedavisinden sonra TMPRSS2-ERG ekspresyonu artmamıştır.²¹⁴ Daha önce bahsedildiği gibi, androjen hassas VCaP hücrelerinin R1881 ile tedavi edilmesinden sonra hem TMPRSS2-ERG ekspresyonu hem de vahşi ERG transkripsiyonu artar, fakat sadece TMPRSS2-ERG transkripti doğrudan AR sinyaliyle artar, vahşi tip ERG transkripti, TMPRSS2-ERG füzyonunun doğrudan vahşi ERG lokusuna bağlanmasıyla artar.²¹³ İlginç olarak AR sinyali, TMPRSS2-ERG gen füzyon rearanjmanına yüzeysel olarak katılır, fakat daha sonra AR ile TMPRSS2-ERG arasında güçlü bir ilişki kurulmaktadır.²¹⁶⁻²¹⁹ TMPRSS2 gen ekspresyonu normalde AR'nin kontrolündedir. TMPRSS2-ERG füzyonunun, CRPC'deki rolü tartışmalı kalmıştır ve şimdilerde araştırılmaktadır. Hermans'ın bir çalışmasına göre, TMPRSS2-ERG füzyonu 4 bağımsız Prostat tümör xenogreftinde vardır¹⁸⁴ ve bu füzyon pozitiflerin hiç birinde ERG füzyon mRNA transkripti bulunamamıştır. Bu 4 xenograftın 3'ünde AR mRNA transkript ekspresyonu olmamıştır, diğerinde ise düşük düzeyde izlenmiştir. Diğer bir çalışmada 2 tane AR negatif TMPRSS2-ERG pozitif CRPC xenograftı LuCa49 ve LuCa93'te^{220,221}, ERG füzyon transkripti eksprese edilmemiştir.²¹ Bu nedenle NCI-H660 hücre serisi hariç, AR negatif, TMPRSS2-ERG pozitif PKa hücresi ERG füzyon transkripti genellikle eksprese etmez. Bu bulguların aksine, diğer bir kaç çalışma uyumlu şekilde AR pozitif CRPC tümör ve xenogreftlerde TMPRSS2-ERG füzyon geni olduğunu ve eksprese edildiğini bulmuştur.²²² Cai, TMPRSS2-ERG mRNA ekspresyonunun kastre fare VCaP xenogreftlerinde ve CRPC hasta örneklerinde var olduğunu bulunmuştur.²²² Aynı füzyon pozitif CRPC hasta örneklerinde, androjen hassas Prostat kanser örneklerine göre AR mRNA ekspresyonu artmıştır. Yani CRPC'de dahi AR'nin, TMPRSS2-ERG gen ekspresyonunda rolü vardır. Ayrıca VCaP xenogreftlerinde ERG mRNA ekspresyonu, fare kastre edildikten dört gün sonra azalmıştır. Fakat tümör ortalama 6 hafta sonra tekrarladığında, ERG mRNA ekspresyonu kastrasyon işleminden önceki seviyesinin üzerine çıkmıştır.

Aynı xenogreftlerde, AR mRNA ve protein seviyeleri 6 hafta boyunca artış göstermiştir ve bu artış CRPC' deki AR aşırı ekspresyonuyla uyumludur.²²² Androjenleri bloklanmış (ADT) Prostat kanser hastalarında tekrarlama sıklığı dolayısıyla bu bulgular CRPC kliniğini çok iyi taklit eder. Relaps sırasında, aynı xenograft çalışmasında, DHT biyosentez yolağındaki bir kaç enzimin mRNA ekspresyon upregülasyona uğradığını bulunmuştur.²²² Ayrıca Prostat kanser hücrelerinin, androjenleri, de novo sentezlediği bulunmuştur.^{223,224} Bu nedenle, PKa hücreleri tarafından DHT biyosentez upregülasyonu ve de novo androjen sentezi, CRPC' deki AR sinyal ve TMPRSS2-ERG ekspresyon reaktivasyonun muhtemel mekanizmasını işaret eder ve ADT tedavi direncine katkı sağlayabilir. Bu bulgular CRPC progresyonundaki TMPRSS2-ERG rolünü gösterir fakat CRPC hücrelerinin ADT'yi bypass geçerek nasıl AR indüklü TMPRSS2-ERG ekspresyonu yaptığı tam olarak bilinmemektedir. Belki de CRPC'de TMPRSS2-ERG ekspresyonu androjenden bağımsız olarak gerçekleşmektedir. Fakat hiç bir veri bu hipotezi doğrulamamıştır. Mehra'nın¹⁹⁶ çalışmasına göre hormon dirençli metastatik PKa'de TMPRSS2-ERG ekspresyonu 10/27 (%37) oranında saptanmış olup, 10 hastanın hepsinde metastatik bölgelerde TMPRSS2-ERG füzyonu, interstisyel delesyonla oluşmuştur. Bu bulgularla uyumlu şekilde bir kişideki tüm metastatik bölgeler, aynı füzyon alt tipini taşırlar ve bu alt tip primer tümörde de bulunur. Bu da, füzyon pozitif CRPC'de TMPRSS2-ERG klonal seleksiyon ve ekspansiyon mekanizmasını açıklamaktadır. Attard²¹⁵ benzer sonuçları bulmuştur, CRPC'lerin 15'de 9 (%60)'unda TMPRSS2-ERG transkripti saptamıştır ve 11 CRPC hastasının kanında dolaşan tümör hücreleri de PKa dokusundaki ile aynı ERG gen şeklini taşımaktadır.²¹⁵



Şekil 20: ETS gen füzyonlarını artırıcı lezyon olarak gösteren prostat kanseri modeli²²⁵

PTEN'in aşağı yönündeki regüle edilmeyen yolların, ERG fazla ekspresyonuna etki eden efektör maddelerle beraber çalışması, invaziv ve saldırgan bir prostatik adenokarsinom gelişimindeki kritik olaylardan biridir.²²⁵

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Olgu seçimi

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2006-2013 yılları arasında tanı alan yüzbir olgu çalışma için seçildi. Bu olgulardan yirmisi benign prostat hiperplazisi, otuzbiri gleason skor 6 prostat adenokarsinomu, yirmibeşi gleason skor 7 prostat adenokarsinomu, yirmibeşi gleason skor 8 ve üzeri prostat adenokarsinomu idi. Gleason skor 8 ve üzeri olan olguların 14 ' ü Trans Üretral Prostat Rezeksiyon (TUR-P) olarak seçildi. Geri kalan 87 olgu Radikal Prostatektomi olarak seçildi. Formalin fiksasyonlu, parafine gömülü bloklardan elde edilen Hematoksilen Eozin (H&E) ile boyalı lamalar arşivden çıkarılıp, yeniden gözden geçirildi. 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.

3.2. Etik Kurul

TF2013LTP13 protokol numaralı projemiz, 7 Mart 2013 tarihli toplantının 17 no'lu kararı ile belirtilen yazı ile Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

3.3. Yöntem

3.3.1. RT-PCR Yöntemi

Olguların parafin bloklarından hazırlanan kesitlerin 1.5 ml. eppendorf tüpüne şu şekilde alındı: Önce kesit yapılan mikrotom cihazı hipolu gazlı bezle silindi. Sonra temiz bir gazlı bez ile kurulandı.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.

3.3.2. Dokudan Parafin Uzaklaştırılması (Deparafinizasyon)

1-En fazla 10 µm büyüklüğünde kesitler 1.5 ml'lik eppendorf tüpüne alınır. **800 µl Ksilen** eklenir, çok kısa süreli aralıklarla vortekslenir.

2-Üzerine **400 µl Absolute Ethanol** eklenir ve kısaca vortekslenir. **13.200rpm 'de 2 dk** santrifüj edilir ve pellete zarar vermeden süpernatant atılır.

3-Üzerine **1 ml Absolute Ethanol** eklenir ve kısaca vortekslenir. **13,200rpm'de 2 dk** santrifüj edilir ve pellete zarar vermeden süpernatant atılır.

4-Ethanol kalıntısından kurtulmak için tüpün ağzı kağıt havluya dokundurulur. Pelleti kurutmak için tüpün kapağı açık olacak şekilde **55°C sıcaklıkta 10 dk. bekletilir**. Gerekli görüldüğünde en fazla 20 dk. bekletilebilir.

5- **Absolute Ethanol** kalıntısını almak için spin down yapıp pipetle iyice eppendorf tüpündeki sıvı alınır.

6-RNA izolasyon protokolünün 1.basamağına geçilebilir.

Not: Preparatların üzerine etanol pipetle damlatılır ve kazınır sonra kazılı malzeme eppendorf tüpü içine koyulur. **Absolute etanolle 1000µl** tamamlanır, vorteksle 13,200rpm'de 2 dak sentrifüj yapılır ve üst sıvı dökülür. **Ethanol** kalıntısını almak için spin down yapıp pipetle iyice eppendorf tüpündeki sıvı alınır. Pelleti kurutmak için tüpün kapağı açık olacak şekilde **55°C sıcaklıkta 10 dk. bekletilir**. Gerekli görüldüğünde en fazla 20 dk. bekletilebilir.

3.3.3. RNA İzolasyonu: (Roche High Pure Ffpet Kıt)

1-Deparafinizasyonu tamamlanan doku parçası temiz bir 1,5ml. eppendorf tüpüne alınır.

2-Üzerine **100µl RNA Tissue Lysis Buffer**, **16 ul %10 SDS** ve **40 ul Proteinase K** eklenir.

Tissue Lysis Buffer=100µl

%10 SDS =16µl

Proteinase K =40

Toplam =156µl

3-Karışım vortexlenir ve spin yapılır. **600 rpm'de çalkalanarak 85°C sıcaklıkta 30 dk. bekletilir**.

4-Süre sonunda tüp spin yapılır ve **55°C** sıcaklığa düşmesi beklenir.

5-80 µl Proteinase K eklenir.

6- Karışım vortexlenir ve spin yapılır. **600 rpm'de çalkalanarak 55°C sıcaklıkta 30 dk.** bekletilir. Bu aşama sonunda lysate net şekilde görülmeli, partikül var ise süre **10 dk.** daha uzatılabilir.

7-325 ul RNA Binding Buffer ve **325 ul absolute ethanol** eklenir.

Binding Buffer =325µl

absolute ethanol =325µl

Toplam =650µl

8-Karışım vortexlenir ve High Pure Filtreli tüplere alınır, altınada High Pure Collection Tüp konur. Ardından **8000rpm'de 30 sn.** santrifüj edilir.

9-Collection tüp değiştirilir. Filtrenin kuruması için **8000rpm'de 2 dk.** santrifüj edilir.

10-100 µl DNase working solution eklenir. Oda sıcaklığında **15 dk.** bekletilir. ***DNase working solution Hazırlama:**

Her bir örnek için; **90 µl DNase Incubation Buffer + 10 µl DNase I**

11-500 µl Wash Buffer 1 eklenir. **8000rpm'de 20 sn.** santrifüj edilir. Collection tüp boşaltılır.

12-500µl Wash Buffer 2 eklenir. **8000 rpm'de 20 sn.** santrifüj edilir. Collection tüp boşaltılır.

13-500µl Wash Buffer 2 eklenir. **8000rpm'de 20 sn.** santrifüj edilir. Collection tüp boşaltılır.

14-Filtrenin kuruması için **13200 rpm'de 2 dk** santrifüj edilir. Ardından High Pure Filtreli tüpün altına temiz bir eppendorf tüp konur.

15-25-50 µl arası Elution Buffer eklenir ve oda sıcaklığında **1 dk.** beklenir.

16-8000 rpm 'de 1 dk. santrifüj edilir ve TOTAL RNA eldesi gerçekleşir.

3.3.4. cDNA AŞAMASI: (Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit)

**İlk aşamada 1 örnek için;*

Total RNA =9,4 µl

Random Hexamer Primer =2 µl

Toplam =11,4 µl

Bu karışım Thermal Cycler'da, 65°C'de 10 dk. işleme alınır.

**2.Aşamada 1 örnek için ise;*

Transcriptor High Fidelity Reverse Transcriptase Reaction Buffer
=4µl

Protector RNase Inhibitor =0,5µl

Dntp =2µl

DTT =1µl

Transcriptor High Fidelity Reverse Transcriptase =1,1µl

Toplam (Tüplere dağıtılacak miktar) =8,6µl

İlk aşamada elde edilen 11,4µl Total Hacim üzerine 8,6µl bu karışım
konur. **TOPLAM (Her Tüp içerisindeki hacim) =20µl**

Thermal Cycler'la

29°C'de 10 dk,

48°C'de 60 dk,

85°C'de 5 dk işleme alınır ve cDNA'lar sentezlenir.

NOT:Örnekler -25°C'de gerkirse saklanır

3.3.5. Real Time PCR Aşaması

3.3.5.1. Referans Gen + Target Gen Mix Hazırlama (REAL TIME READY)

Primer &Probe (Real Time Ready) =1 µl

Probe Master =10 µl

grade water (D.S.) =4 µl

total hacim =15 µl Hazırlanan stok **Light**

cycler tüplerine dağıtılır.

Herbir örnek için yukarıdaki protokole **5'er µl cDNA** eklenerek, Light Cycler Sistemlerinde çalışılır.

3.3.5.2. Real Time PCR Heat Protokol

DETECTION FORMAT: 3 color hydrolysis probe LightCycler cihazındaki ısı

Den:

95°C → 10 dk → 1 cyclers

Amp:

95°C → 10sn → 45 cyclers

60°C → 30sn → 45 cyclers

72°C → 1sn → 45 cyclers

Cool:

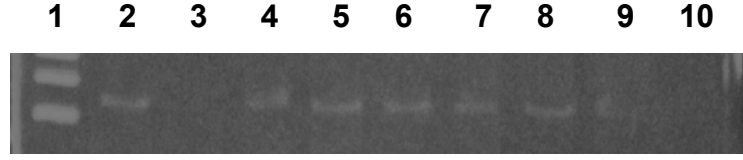
40°C → 1 dk → 1 cyclers

3.3.6. İstatiksel Analiz

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 Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Kategorik değişkenlerin analizinde ise Ki-kare, Mc Nemar ve Kappa testi kullanılmıştır. Sağkalım analizinde Kaplan-Meier yöntemi ve grupların karşılaştırılmasında ise log rank testi kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama±standart sapma,medyan,n ve yüzde olarak ifade edilmiştir. p değerinin <0,05 olduğu durumlar istatiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Analizlerde SPSS v 19.0 paket programı kullanılmıştır.

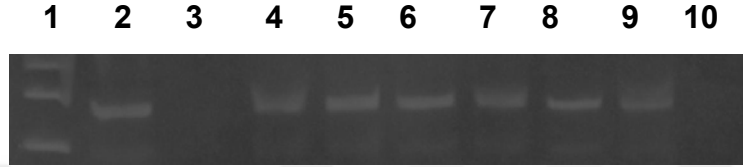
4. BULGULAR

Bu çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2006-2013 yılları arasında tanı alan yüzbir olgu seçildi. Bu olgulardan yirmisi benign prostat hiperplazisi, otuzbiri gleason skor 6 prostat adenokarsinomu, yirmibeşi gleason skor 7 prostat adenokarsinomu, yirmibeşi gleason skor 8 ve üzeri prostat adenokarsinomudur. Gleason skor 8 ve üzeri olan olguların 14'ü Trans Üretral Prostat Rezeksiyon (TUR-P)'dur. Geri kalan 87 olgu Radikal Prostatektomidir. Değerlendirmeye aldığımız 101 olguda en genç hasta 46, en yaşlı hasta 88 olup ortalama yaş 64' dür. PSA değerleri en küçük 0,6 ng/ml, en büyük 116,4 ng/ml olup, ortalama 10.4 ng/ml'dir. GS verilen PKa vakalarımızın en düşük skoru 6, en yüksek skoru 10'dur. GS' u değerlendirilirken GS 6 düşük grade'li, GS 7 orta grade'li, GS 8 ve üzeri yüksek grade'li olarak değerlendirilmiştir. PSA değeri 0-4 ng/ml arası düşük, 4-10ng/ml arası orta, 10ng/ml ve üzeri yüksek değerler olarak kabul edildi. Toplam 20 BPH olgusunun 8'inde (%40) ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu saptandı, 12'sinde (%60) görülmedi. Toplam 31 GS 6 (Düşük grade'li) olgunun tamamında ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu görüldü ve ekspresyon pozitifliği %100 olarak saptandı. Toplam 25 GS 7 (orta grade'li) olgunun tamamında ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu görüldü ve ekspresyon pozitifliği %100 olarak saptandı. Toplam 25 GS 8 ve üzeri (yüksek grade'li) olgunun hiçbirinde ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu izlenmedi. Ekspresyon negatifliği %100 olarak saptandı. 101 olgunun 64'ü (%63,4) ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu pozitif, 37 olgu (%36,6) negatif saptandı.



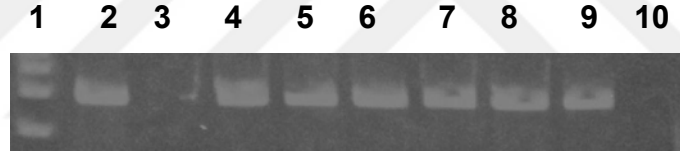
Şekil 21: Real-Time PCR ile G6PDH geninin 9:1 orandaki PAGE yürütülmesi

(1. Kuyu 25bp'lik marker ; 2. Kuyu pozitif kontrol ; 3. Kuyu negatif kontrol ;4.,5.,6.,7.,8.,9. Pozitif olgular , 10.kuyu negatif olgu.)



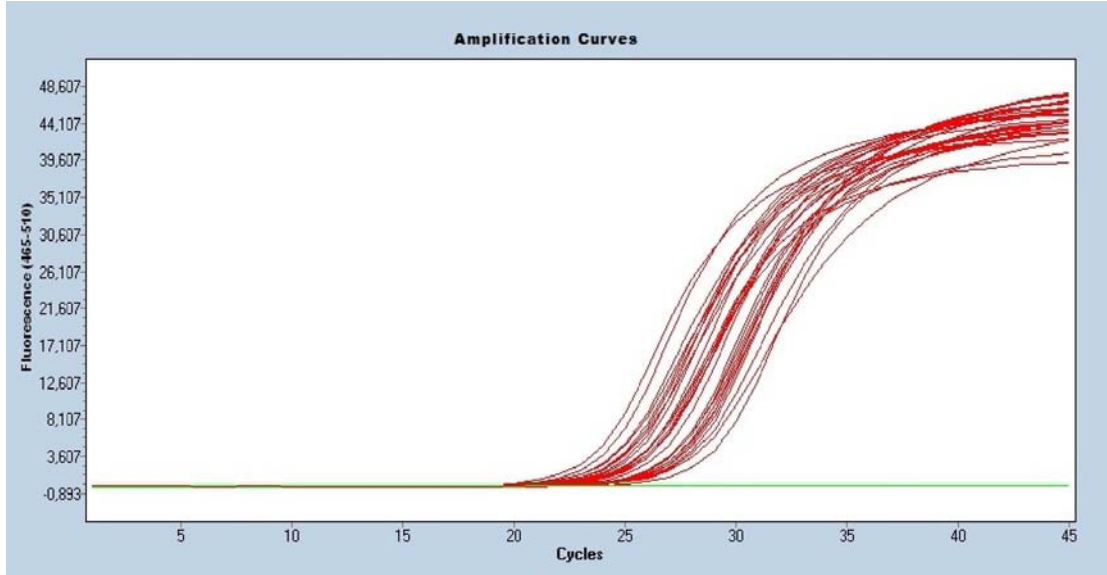
Şekil 22: Real-Time PCR ile ERG gen ekspresyonu 9:1 orandaki PAGE yürütülmesi

(1. Kuyu 25bp'lik marker ; 2. Kuyu pozitif kontrol ; 3. Kuyu negatif kontrol ;4.,5.,6.,7.,8.,9. Pozitif olgular , 10.kuyu negatif olgu.)

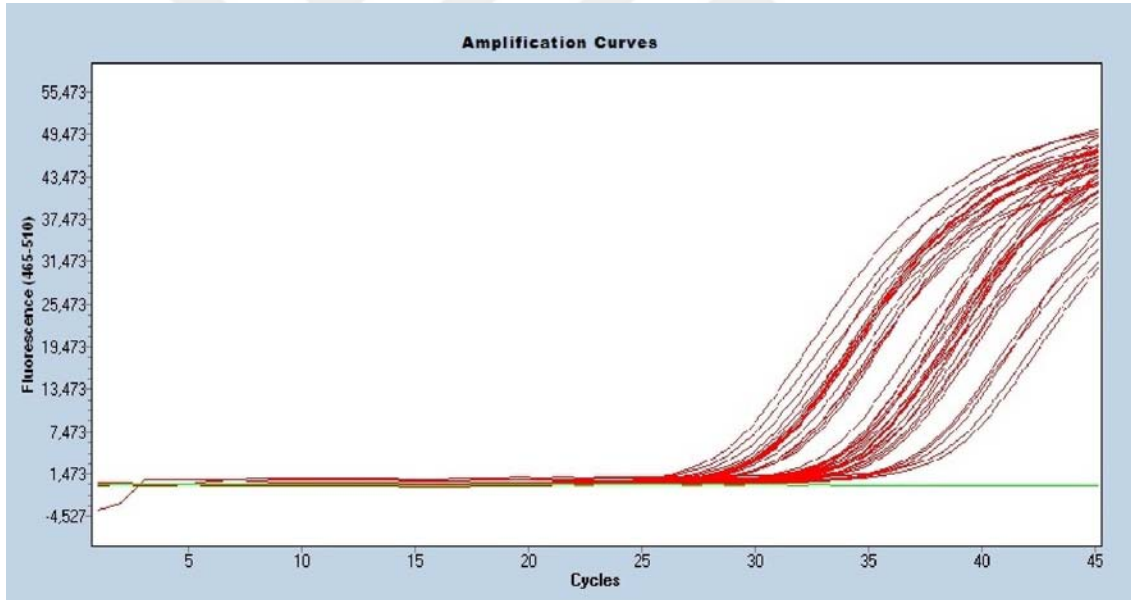


Şekil 23: Real-Time PCR ile TMPRSS2 gen ekspresyonu 9:1 orandaki PAGE yürütülmesi

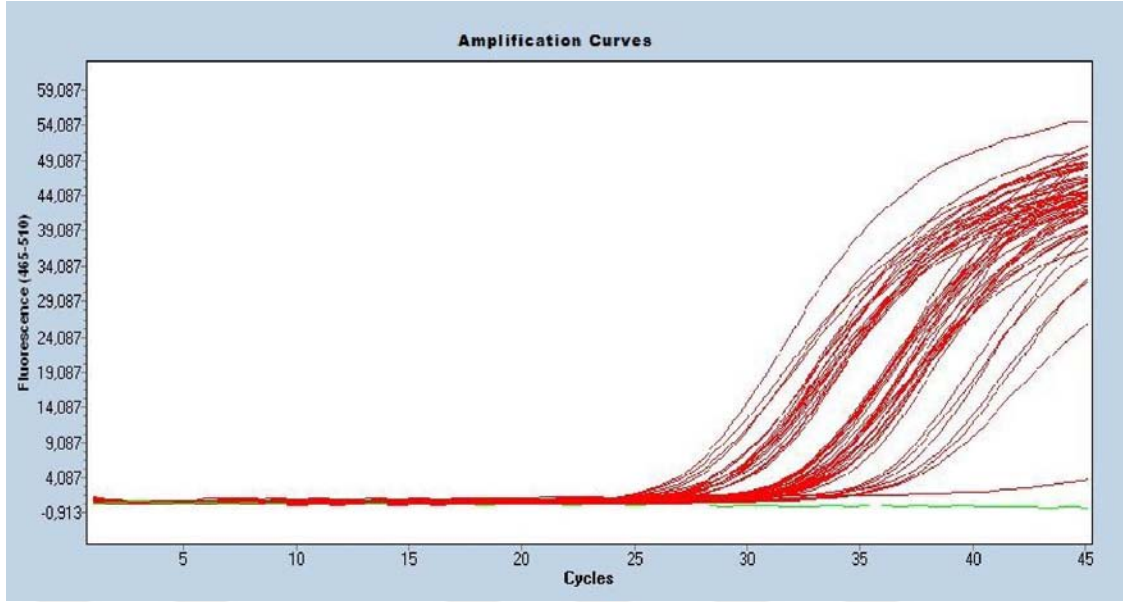
(1. Kuyu 25bp'lik marker ; 2. Kuyu pozitif kontrol ; 3. Kuyu negatif kontrol ;4.,5.,6.,7.,8.,9. Pozitif olgular , 10.kuyu negatif olgu.)



Şekil 24: Real-Time PCR ile G6PD (Referans Gen) Amplifikasyon Eğrileri



Şekil 25: Real-Time PCR ile TMPRSS2 Gen ekspresyonunun Amplifikasyon Eğrileri.



Şekil 26:Real-Time PCR ile ERG gen ekspresyonunun Amplifikasyon Eğrileri

Tablo 3: BPH VE PKa olgularının Yaş, PSA, GS'na göre dağılımı

	yaş	psa	gleason	Ay
BPH				
ort±ss	66,1±11,0	19,2±26,6	0,0±0,0	
Med(As-Uş)	70 (46-82)	11,9 (3,0-87,4)	0,0(0-0)	
Düşük				
ort±ss	60,5±6,5	7,9±4,5	6±0,0	17,2±8,8
Med(As-Uş)	59 (47-73)	6,7(2,9-19,6)	6(6-6)	13(6-40)
Orta				
ort±ss	62,4±5,8	13,9±14	7±0,0	12,7±4,6
Med(As-Uş)	63 (47-75)	9,9(2,6-54,7)	7(7-7)	11(7-21)
Yüksek				
ort±ss	68,9±9,7	25,1±31	8,6±0,5	17,3±14,8
Med(As-Uş)	69 (47-88)	14,4(0,6-116,4)	9(8-10)	12(1-56)
Toplam				
ort±ss	64,1±8,72	16,2±21,6	6,02±2,8	15,77±10,02
Med(As-Uş)	64(46-88)	10,4(0,6-116,4)	7(0-10)	12(1-56)

Değerlendirmeye aldığımız 101 olgunun yaş ortalaması en genç hastada 46, en yaşlı hastada 88 olup ortalama 64'dür. GS 6 PKa olgularının yaş ortalaması 59, GS 7 PKa olgularının yaş ortalaması 63, GS 8 ve üzeri PKa olgularının yaş ortalaması 69'dur. PSA değerleri en küçük 0,6 ng/ml, en büyük 116,4 ng/ml olup ortalama 10.4 dir.

Tablo 4: BPH ve GS'a göre düşük skorlu, orta skorlu ve yüksek skorlu olguların RT-PCR ile elde edilen $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerlerine göre dağılımı

	ort, ss, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ Med (As-Us)
BPH	1,81±2,54 0,059 (0,0001-6,190)
DÜŞÜK	0,38±0,26 0,307 (0,04-1,03)
ORTA	0,005±0,005 0,03 8 (0,0012-0,24)
YÜKSEK	0,000061±0,0000442 000050 (0,0000-0,0001)

Tablo 5: BPH ve GS'larına göre sınıflandırılmış PKa olgularında TMPRSS2 ve ERG ekspresyon varlığının değerlendirilmesi

$2^{-\Delta\Delta Ct}$	BPH		DÜŞÜK		ORTA		YÜKSEK		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
pozitif	8	40	31	100	25	100	0	0	64	63,4
negatif	12	60	0	0	0	0	25	100	37	36,6

20 BPH olgusunun 8'inde (%40) ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu saptandı, 12'sinde (%60) görülmedi.

31 GS 6 (Düşük grade'li) olgunun tamamında ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu görüldü ve ekspresyon pozitifliği %100 olarak değerlendirildi.

25 GS 7(orta grade'li) olgunun tamamında ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu görüldü ve ekspresyon pozitifliği %100 olarak değerlendirildi.

25 GS 8 ve üzeri (yüksek grade'li) olgunun tamamında ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu izlenmedi. Ekspresyon negatifliği %100 olarak değerlendirildi.

Çalışmaya dahil edilen 101 olgunun 64'ünde (%63,4) ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu saptandı, 37'sinde (%36,6) ise saptanmadı.

GS yüksek olgularda ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu negatif olmaktadır. Bu durum istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur (p=0,000)

Tablo 6: BPH ve PKa olgularında TMPRSS2-ERG Gen ekspresyon varlığının PSA, GS, Sağ kalım değerlerine göre incelenmesi

	TMPRSS2 –ERG GEN EKSPRESYONU				p
	Pozitif		Negatif		
	n	%	n	%	
PSA Düşük Orta Yüksek	6	66,7	3	33,3	0,07
	14	82,4	3	17,6	
	13	48,1	14	51,9	
Gleason skor Yok Düşük Orta Yüksek	8	40	12	60	0,000
	31	100	0	0	
	25	100	0	0	
	0	0	25	100	
Sağkalım Sağ eks	59	68,6	27	31,4	0,010
	1	16,7	5	83,3	

PSA değeri düşük olan 6 hastada TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu (%66,7) pozitif, 3 hastada (%33,3) negatif bulundu. PSA değeri orta olan 14 hastada TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu (%82,4) pozitif, 3 hastada (%17,6) negatif bulundu. PSA değeri yüksek olan 13 hastada TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu (%48,1) pozitif, 14 hastada (%51,9) negatif olarak bulundu. TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu ile PSA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (p=0,07).

BPH tanısı alan 8 hastada TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu (%40) pozitif, 12 hastada (%60) negatif bulundu.

Gleason skoru 6 (düşük grade) olan 31 hastanın 31'inde TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu (%100) pozitif olarak bulundu. TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu negatif hasta saptanmadı.

Gleason skoru 7 (orta grade) olan 25 hastanın 25'inde TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu (%100) pozitif olarak bulundu. TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu negatif hasta saptanmadı.

Gleason skoru 8 ve üzeri (yüksek grade) olan 25 hastanın 25'inde TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu (%100) negatif olarak bulundu. TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu pozitif hasta saptanmadı. TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu ile gleason skor değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı ($p=0,000$).

Tablo 7: PKa tanılı hastaların GS dağılımı, sağ kalım, eksitus durumu ve takip sürelerinin değerlendirilmesi

GRUP	Sağkalım süresi, ay	Total/ex
GS (Düşük)		28/0
GS (Orta)	41	24/1
GS (yüksek)	20	20/5
Toplam		72/6

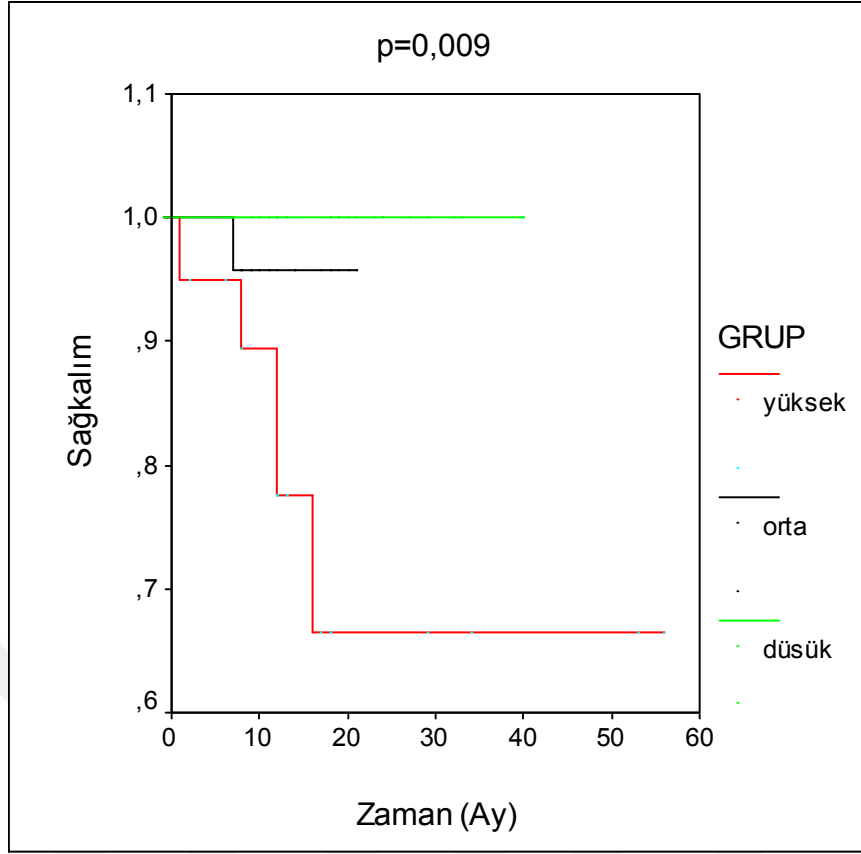
Tablo8: TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu pozitif ve negatif PKa tanılı hastalarda sağ kalım

Tmprss2-Erg Ekspresyon varlığı	Total/ex	%
Tmprss2-Erg pozitif	52/1	98
Tmprss2-Erg negatif	20/5	75
Toplam	72/6	91,6

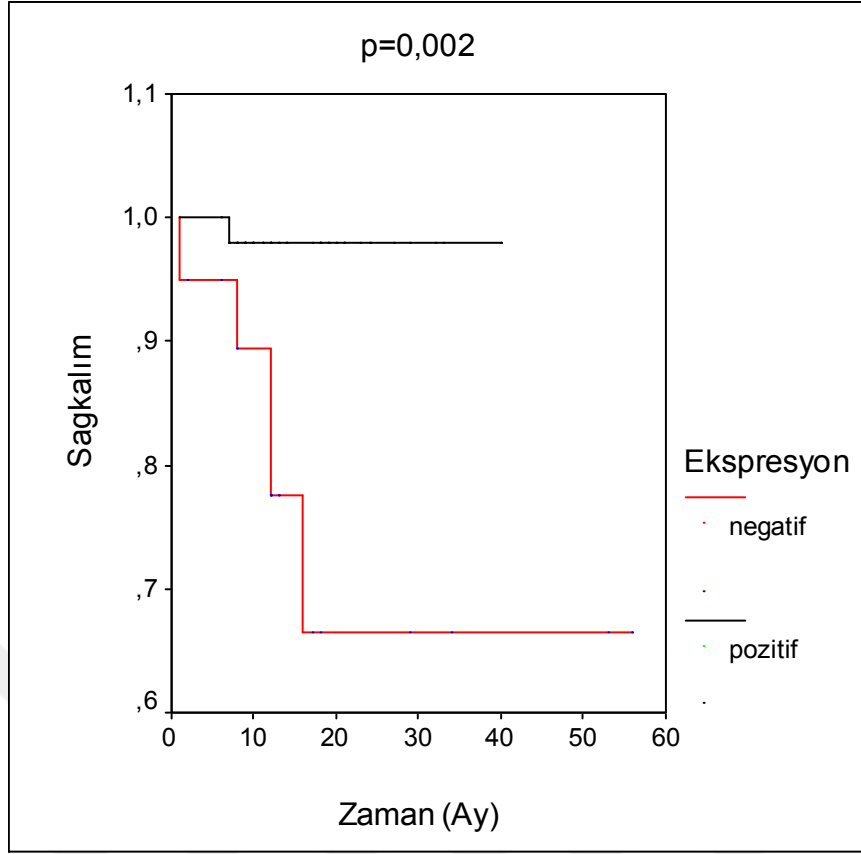
Toplam 72 hastanın 6'sında (%91,6) eksitus görüldü. Eksitus olan 6 hastanın 5'inde (%75) TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu negatifti. Sağ kalan 66 hastanın 59'unda TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu pozitifdi.

Sağ kalımı etkileyen faktörler incelendiğinde;

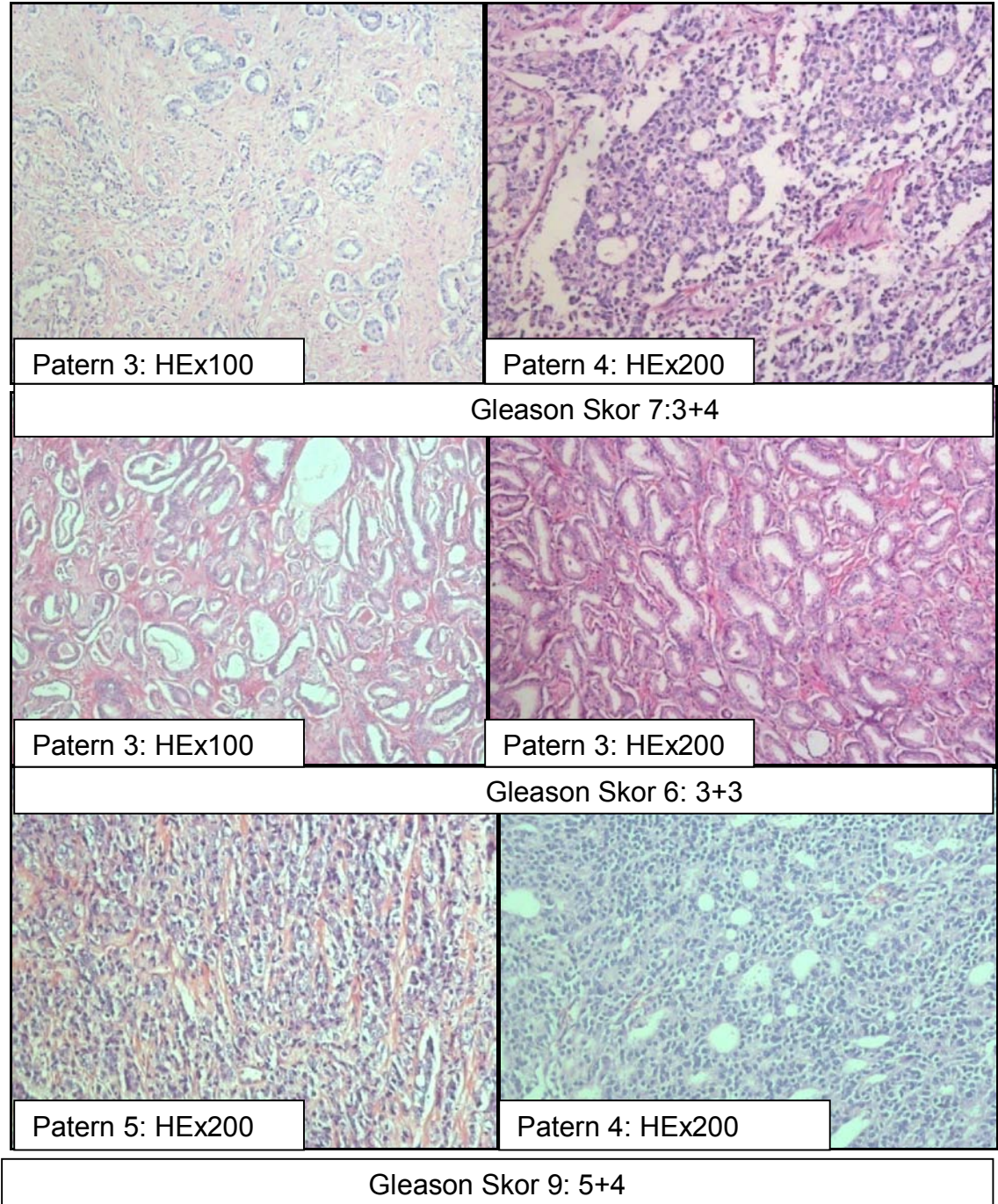
Gleason skor gruplarına göre ve ekspresyon pozitifliğine göre gruplar arasında sağkalım süreleri açısından anlamlı fark olduğu saptanmıştır. Gleason skoru yüksek olan hastaların, düşük olanlara göre sağkalım süreleri daha kısadır. Yüksek skoru olanlar 20, orta skoru olanlar 41 ay yaşamaktadırlar ($p=0,009$). TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu pozitif olan hastalar ise ortalama 38 ay yaşamakta, TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu negatif olanlar daha kısa (29 ay) yaşamaktadırlar ($p=0,002$).



Şekil 27: GS na göre hastaların sağ kalım ve takip süreleri



Şekil 28: TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu pozitif ve negatif PKa tanılı hastaların sağkalım sürelerinin değerlendirilmesi



Şekil 29: GS 6 (düşük), GS 7 (orta), GS 8 ve üzeri (yüksek) olgular:

Patern 3; Stromayı invaze eden, birbirinden bağımsız, küçük glandlar görülmektedir, Patern 4; Stromayı invaze eden kribriform yapılar izlenmektedir. Patern 5; Stromayı invaze eden solit tipte tümöral hücreler görülmektedir.

5. TARTIŞMA

TMPRSS2; aktive olduğunda, hücrenin yüzeyinden ekstrasellüler alana transloke olan, bir tip II transmembran serin proteazdır. Ürünü genellikle normal prostat dokusunda da salgılanan ancak neoplastik prostat epitelinde ekspresyonu artan, androjen düzenlemeli bir gendir. TMPRSS2, onkogenlerin transpoze olabileceği, androjene tepki veren güçlü bir kontrol modülü içermektedir. Bu potansiyel onkogenlerden bir tanesi, ETS ailesi üyesi olan, çeşitli MAP kinazların sebep olduğu mitojenik ve/veya stres sinyallerine tepki veren ve tümörogeneze yönelen hedef genlerin transkripsiyonunu düzenleyen ERG'dir. PKa'nin küçük bir kısmında, ERG, stromanın endotel hücrelerinden eksprese edilir. ERG'yi içeren kromozomal translokasyonlar; Ewing sarkomu, myeloid lösemi ve servikal kanserlerde de görülmüştür. ERG ekspresyonu güçlü pozitif disregülatör etkiye sebep olabildiği için, bu translokasyon önemlidir. ERG, Ewing sarkomunda bilinen bir onkogen olduğu için, ERG'in PKa'de fazla salınması, adenokarsinomların oluşmasını destekleyen kritik bir onkogen olduğunu düşündürmektedir.²²⁶

PKa, aynı odak içinde bile, aşırı histolojik heterojenite içerebilen multifokal ve heterojen bir neoplazidir. İnsan prostat örneklerindeki TMPRSS2:ERG hibrid transkriptleri detaylandırılarak yapılan çalışmalarda, benzer sonuçlar bildirilmiştir. Yazarlar PKa örneklerinin sadece 19/26'sında (%73) TMPRSS2:ERG füzyonunun , RT-PCR ile tespit edilen füzyon ürünü olduğunu göstermişlerdir.²²⁶

TMPRSS2 ve *ERG* genleri, kromozom 21q üzerinde birbirinden 3 Megabaz ayrı yerleşimlidir. Androjen etkisi altında intrakromozomal interstisyel delesyon ya da translokasyon oluşur, bu da androjene duyarlı *TMPRSS2* geninin *ERG*'nin transkripsiyon birimine yaklaşmasına neden olur. *TMPRSS2/ERG* füzyonu farklı moleküler yollarla transkripsiyon, apoptoz, hücre proliferasyonu, differensiasyon ve invazivliğe aracılık eden bir ERG proteini üretir. ERG'yle etkileştiği gösterilmiş olan moleküler hedefler şunlardır: poly(ADP-ribozom) polimeraz 1 DNA protein kinaz HDAC1 hedef genleri ve

WNT/ β -katenin sinyal yolağı, matriks metaloproteinazları, PIM-1 onkogeni, c-MYC onkogeni, PI3K-PTEN aksı ve EZH2 polikomb grup proteindir. Yakın zamanda poly(ADP-ribozom) polimeraz 1 inhibitörünün, ERG-pozitif prostat kanseri ksenogreftlerinin gelişimini ve *TMPRSS2/ERG* füzyonunu seçici olarak baskılaması, prostat kanseri için potansiyel bir moleküler terapötik hedefe çevirmektedir.²²⁷

2005' te, Tomlins ve ekibi transmembran proteaz, serin 2 (*TMPRSS2*): v-ets eritroblastozis virüs E26 onkogen homolog (*ERG*) gen füzyonunun, prostat kanserinde sık karşılaşılan bir genetik olay olduğunu tanımlamıştır.³ Bu durum, tekrarlayan kromozomal yeniden düzenlenmelerin, daha önce primer olarak hematolojik kanserler ve mezenşim orijinli kanserlerde gözlenmesi nedeni ile dikkate değerdir.²²⁸ Prostat kanserlerinin tahmini olarak %40 ila 50'si füzyon barındırır.²²⁹ Bu da Amerika'da her yıl, yaklaşık 100000 füzyon pozitif prostat kanseri vakası olarak yorumlanabilir.²³⁰

TMPRSS2-ERG gen füzyonları, kromozomal bir translokasyonun ya da interstisyel delesyonun sonucu olarak ortaya çıkabilir.^{231,197} *TMPRSS2* geni, androjenle düzenlenir ve *ERG* onkogeni de transkripsiyon faktörlerinin eritroblast transformasyonuna spesifik (*ETS*) ailesinin bir üyesidir²³² ve proliferasyonun, differensiasyonun, apoptozun ve diğer hücrel süreçlerin düzenlenmesinde rol oynar.^{233,234} Bu nedenle gen füzyonunun, prostat kanseri gelişimini etkileyebilecek onkogenik etkilerinden, androjen regülasyon mekanizmasının etkisi, sorumlu olabilmektedir.

Bazı çalışmalar, *TMPRSS2:ERG*'le prostat kanseri gelişimi arasında pozitif bir ilişki olduğunu gösterdiği halde^{18,27,194,195,197} bazılarında füzyon ile arasında önemsiz ya da aksi ilişki gösterilmiştir.^{8,13,21,235-243} *TMPRSS2:ERG* ve klinikopatolojik özellikler, tümör evresi ve Gleason grade'i gibi, arasındaki bağlantıyı inceleyen çalışmalarda çelişkili sonuçlar bulunmuştur.^{8,17,18,21,182,193,195,197,235-241,244-248}

Çalışmamız yaş ortalaması 64 (46-88), PSA değerleri ortalama 10,4 (0,6-116,4) olan 101 hastadan oluşmaktadır. Yirmi olgu BPH, 31 olgu gleason skor 6, 25 olgu gleason skor 7 ve 25 olgu gleason skor 8 ve üzeridir. Çalışmaya dahil edilen olgulardan Gleason skor 8 ve üzeri olan 14 olgu TUR-P'den

oluşmaktadır, geri kalan 87 olgu Radikal prostatektomi den oluşmaktadır. Biz çalışmamızda TMPRSS2- ERG gen ekspresyon varlığını saptamak için RT-PCR yöntemi kullandık. Toplam 20 BPH olgusunun 8'inde (%40) ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu saptandı, 12'sinde (%60) görülmedi. Toplam 31 GS 6 (Düşük grade'li) olgunun tamamında ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu görüldü ve ekspresyon pozitifliği %100 olarak saptandı. Toplam 25 GS 7(orta grade'li) olgunun tamamında ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu görüldü ve ekspresyon pozitifliği %100 olarak saptandı. Yirmibeş GS 8 ve üzeri (yüksek grade'li) olguda ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu izlenmedi. Ekspresyon negatifliği %100 olarak saptandı. GS yüksek olgularımızda ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu negatif olmaktadır. Bu durum istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Gleason skor 8 ve üzeri olan olgularımızın TUR-P spesmenlerinden seçilmiş olmasının, ERG ve TMPRSS2 ekspresyon varlığını etkilediği ya da PKa moleküler yollarında başka faktörlerin de rol oynadığını düşündürmektedir. Çalışmamızda BPH olgularında %40 ERG ve TMPRSS2 ekspresyon varlığı tespit ettik. Kontaminasyon riski nedeni ile BPH olguları iki kez çalışılmıştır, herhangi bir malignite olup olmadığı konusunda tekrar histopatolojik inceleme yapılmış, ancak aynı sonuçlar elde edilmiştir. Bugüne kadar yapılan çalışmaların sadece birinde, BPH olgularında ekspresyon varlığı gösterilmiştir.

2007'de Clark ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada BPH örneklerinin 31 vakanın 2'sinde (%6) TMPRSS2-ERG gen füzyonu saptamışlardır.²²⁵

Bulgulardaki farklılıklar büyük olasılıkla; kısmen, küçük örnek boyutları ve önceki çalışmaların çoğundaki vakaların sınırlı sayıda olmasıyla, bunun yanı sıra çalışma kohortlarının heterojenitesiyle (örneğin radikal prostatektomiye karşın yakın izlem kohortları), füzyon açısından incelenen tümör dokuları [örneğin RP materyalinden alınan dokuya karşın transuretral prostat rezeksiyonundan (TUR-P) alınan doku] ve füzyonu tespit etmek için kullanılan yöntemle (örneğin FISH, PCR [RT-PCR]) açıklanabilir. 2005'teki keşfinden bu yana gen füzyonu, prostat kanseri gidişatında farklı sonuçlarla muhtemel bir

biomarker olarak geniş oranda çalışılmaktadır.^{13,14,18,21,27,188,191,193,235,238,239,240,241, 243, 249, 250-253}

Prostat adenokarsinomunda bildirilen *TMPRSS2/ERG* füzyonu sıklığı, RP ve biyopsi materyallerinde %20'den %68'e, TUR-P materyallerinde fark edilen rastlantısal tümörlerde 0'dan %29'a değişkenlik gösterir. İnsidansın bu kadar geniş aralığı, çalışma şekli, tespit yöntemleri (PCR, FISH, İHK), hastaların etnik alt yapısı, ERG'nin intratümöral immünoheterojenitesi, boyama yorumunun gözlem içi ve çalışma içi değişkenliği, kullanılan ERG antikorunun kopyası, transizyonel ve periferel zon tümörleri arasındaki moleküler farklılığı içeren çok sayıda faktörden etkilenir. Daha önce bildirilene uygun olarak, RP'de ERG immün pozitifliğinin insidansının (151/454 hasta; %33), TURP materyalinde, fark edilen rastlantısal transizyonel zon kanserleriyle (3/59 hasta; %5.1) kıyaslandığında, önemli ölçüde daha yüksek olduğu bulunmuştur. Böyle bir zonal farklılığın ERG ekspresyonu açısından kesin önemi belirsizdir, ama büyük ihtimalle transizyonel ve periferel zon kanserleri arasındaki biyolojik farklılığı yansıtmaktadır.²²⁷

Yapılan bir meta-analizde, radikal prostatektomi örneklerinden alınan dokuda füzyon prevalansı %49, TURP örneklerindeyse yalnızca %30'dur.²⁵⁴ Bu fark füzyonun transizyonel zonunda, daha az yaygın olduğunu yansıtabilir.^{6,14,28,31,256} İki zondan orijin alan prostat kanserlerinin genetik ya da biyolojik olarak farklı olabileceği nosyonunu da destekler.^{14,28} Füzyon prevalansı, hasta kohortunun kıtasıyla değişebilir; Asyalı kohortunda %23, Avrupalı ve Kuzey Amerikalı kohortunda yaklaşık %50'dir. Füzyon negatife karşın, pozitif için, prostat kanseri gelişimi riskiyle ilişki olan genetik ya da yaşam tarzı faktörlerinin dağılımına göre değişmeyi de içine alan birçok faktör, bu farklılıkları açıklayabilir. Ayrıca radikal prostatektomi örneklerinde, *TMPRSS2:ERG* füzyon durumunu değerlendirmek için, RT-PCR (%52) ya da İHK (%52) kullanılan çalışmalarda, FISH (%42) kullanılanlara göre daha yüksek füzyon prevalansı olduğu görülmüştür. Sonuçların tamamı olmasa da bir kısmı, yöntemlerin *TMPRSS2:ERG* füzyon durumunu bazı derecelerde yanlış sınıflandırabileceğini ortaya koymuştur.²⁵⁴

Çalışmamızda, transizyonel zonun örneklendiği TUR materyallerinde ekspresyon görülmemiştir. Periferik tümörlerin örneklendiği radikal prostatektomi örneklerinde ise ekspresyon saptanmıştır. Bu bulgu periferik ve transizyonel zon tümörlerinin biyolojisindeki farklılığa bağlı olabilir.

Son 9 yılda çelişkili sonuçlara yol açan çok sayıda çalışma yayınlanmıştır. RP'lerde *TMPRSS2/ERG* füzyonu / *ERG* overekspresyonu ile 4 klinikopatolojik parametre (1) preop PSA düzeyleri 2) Gleason skoru 3) patolojik evresi 4) nüks ve mortalite arasındaki ilişkiye odaklanılmıştır. Tümör evresi, Gleason grade'i ve PSA düzeyleri prognostik risk gruplarını tanımlamak ve tedaviyi yönlendirmek için ,3 önemli kriterdir.²²⁷

Gleason skoru, prognozda önemli bir yere sahiptir. Hastada PKa'ya bağlı ölüm riskini belirleyicidir, bu sebepten dolayı da PKa tanısı verilirken tümör grade'i belirlenir. Çünkü grade, tedavi seçeneklerini önemli derecede etkilemektedir.²⁵⁷⁻²⁶¹ Yapılan çalışmalarda, GS ile tümörün invaziv karakteri arasında korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.^{262, 263}

Yaş aralığı olarak PKa olgularını incelediğimiz zaman, olguların % 47 'si 70-79 yaş aralığında %78' i ise 60-79 yaş aralığındadır.²⁶⁴⁻²⁶⁷ Bizim çalışmamızda değerlendirmeye aldığımız 101 olgunun yaş ortalaması en genç hastada 46, en yaşlı hastada 88 olup ortalama 64 dür. GS 6 PKa olgularının yaş ortalaması 59, GS 7 PKa olgularının yaş ortalaması 63, GS 8 ve üzeri PKa olgularının yaş ortalaması 69'dur. Yaş ve Gleason skorları arasında ise anlamlı bir ilişki saptamadık.

Bir tümör belirleyicisi olan PSA, tümör ile ilişkili olmasından ziyade organa özgül bir glikoproteindir. PSA, fonksiyonel prostat bezi olan tüm erkeklerin serumunda tesbit edilebilir. Dolaşımda bulunan serum PSA değeri, seminal plazmadakinin milyonda biri kadardır. Epitel doku, bazal hücre tabakası ve bazal membran intraduktal PSA'yı prostatın kapiller ve lenfatik drenajından ayırmaktadır. Bu engelleri bozan hastalık durumunda dolaşıma fazla miktarda PSA geçişi olur. Prostat hastalıklarında fazla sekresyona bağlı olarak serum konsantrasyonu yükselir. 1 ml'lik tümör volümü, genellikle serum PSA düzeyinin 4 ng/ml'nin üstüne çıkmasına neden olduğundan prostat kanserinin erken tanısında kullanılmaktadır. Buna karşın, yaşlılarda görülen PSA yüksekliğinin

2/3'ünün nedeni BPH'dır. 1980'li yılların sonlarından itibaren, PSA'nın tarama testi olarak kullanılmaya başlamasıyla birlikte, erken evrede teşhis edilen PKa olgularında, büyük bir artış meydana gelmiştir.²⁶⁸ Serum PSA'sı için normal değer aralığı, 0-4 ng/ml olarak kabul edilmektedir.²⁶⁹ PKa da ise, serum PSA düzeyleri normale göre 10-30 kat, BPH da ise ortalama 3 kat artış gösterir. Bunun da tümör hücrelerinin bazal membranı yıkan proteolitik aktiviteleri sebebiyle, dokudan dolaşıma PSA kaçağının artmasına bağlı olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte prostat dokusundan dolaşıma PSA kaçaklarının nedeni olarak, düzeni bozulmuş doku mimarisinin, daha önemli olduğu ileri sürülmektedir.²⁶⁹⁻²⁷² Serum PSA seviyesinin sensitivite ve spesifitesi, onu mükemmel bir tarama testi yapmaya yeterli değildir. Çünkü prostatit ve BPH olgularında PSA'nın (>4.0ng/ml) yüksekliği gözlenebilmektedir. Prostat hacmi ve kişinin yaşı da PKa olmaksızın, PSA artışına katkıda bulunmaktadır.²⁶⁹ Özellikle de Serum PSA düzeyinin 4.0-10.0 ng/ml olduğu durumlarda, PKa ve BPH olgularında önemli örtüşmeler olmaktadır. Literatürde değişik serilerde PKa tanısı almış olguların % 18-32 arasında değişen oranlarda serum t-PSA düzeyleri normal seviyelerde bulunmuş²⁷³⁻²⁷⁶ ve Andriole ve Catalona 10.000 olgunun serum PSA değerlerini incelediklerinde şu sonuçları elde etmişlerdir. Bu olguların % 3'ünde PKa tespit edilmiş, olguların %25'inin serum PSA değeri 4.1-10.0 ng/ml arasında değerlere sahip olup, serum PSA değeri 10 ng/ml üzerinde olan olguların %60'ında PKa tespit edilmiştir.²⁷⁷ Catalona ve arkadaşları, PKa tanısı için sınır değeri olarak çizilen ROC eğrileri sonucunda 4.0 ng/ml olarak bulmuşlardır.²⁷⁸ Yine Catalona ve arkadaşları, Serum PSA düzeyinin 4.0-10.0 ng/ml olduğu olgularda her 5 biyopsi sonucunda 1 PKa tespit etmişlerdir. Bu değer tüm grubun %60-80'ini oluşturmaktadır.²⁷⁹ Son 20 yıl içerisinde, yapılan çalışmalarda ortalama serum PSA düzeyleri, gleason skoru ile ilişkisiz ancak prostat büyüklüğüyle ilişkili bulunmuştur.²²⁶ Çalışmamızda PSA değerleri en küçük 0,6 ng/ml, en büyük 116,4 ng/ml olup ortalama 10.4 idi. GS verilen PKa vakalarımızın en düşük skoru 6, en yüksek skoru 10 idi. Gleason skoru ile PSA arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkinin olmaması bu çalışmaları desteklemektedir.

Bin Xu ve ark. yazdıkları derlemede ERG-pozitif prostat kanseri vakalarının ERG-negatif olanlara göre, daha düşük preop PSA düzeylerine sahip olma eğiliminde olduğunu belirtmektedir.²²⁷ 6159 hastanın olduğu toplam 6 çalışmada, bugüne dek yapılan en geniş skalalı 481, 1039, 1180, 2085 hastanın olduğu 4 çalışma, ERG pozitifliğiyle düşük PSA düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir.²²⁷ Bizim çalışmamızda, TMPRSS2-ERG ekspresyon varlığı ile PSA değerleri arasında anlamlı bir ilişki bulmadık. Çalışma grubumuza BPH olgularını dahil etmemiz ve bu olgularda ki volüme bağlı yüksek PSA değerleri nedeni ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Kore’ de yapılan bir çalışmada²⁸⁰, ERG pozitifliği, batı toplum tabanlı çalışmalarla kıyaslandığında daha düşük (% 24.4) bulunmuştur.²⁸⁰ Yapılan diğer araştırmalara bakıldığında *TMPRSS2-ERG* gen füzyonu, uygulanan yöntem ve çalışma gruplarına bağlı olarak, % 15.3’den % 70 üzerinde olmak üzere değiştiği görülmüştür.^{27,281} Japonya, bir çalışmada, düşük bir oran içeren ERG pozitifliği rapor etmiştir (% 20.1 ve% 28).^{12,282} Böylece, Doğu Asya’da prostat kanseri hastalarında, füzyonun düşük olduğu söylenebilir. Bizim serimizde, toplam 101 olguda 64 (%63,4) oranında ekspresyon varlığı saptadık. Coğrafik koşulların ve farklı ırkların, *TMPRSS2-ERG* ekspresyonu üzerine olan etkilerini saptamak için daha geniş tabanlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Yapılan bazı çalışmalarda, ERG-pozitifliğinin , Gleason patern 4 ve 5 tümörlerde, Gleason paterni 3 tümörlerden, daha yüksek olduğu gösterilmiştir.^{13,16} Korede yapılan çalışmada²⁸⁰, Gleason patern 3 tümörlerde ERG-pozitiflik oranı daha yüksek bulunmuştur. Seksen iki hastanın değerlendirildiği bir çalışmada, gleason skoru 6 için %67,gleason skoru 7 için %42, gleason skoru 8 ve üzeri için % 33 füzyon pozitifliği tespit edilmiştir.²⁸³ Kanada’da, 163 hastadan yapılmış olan bir çalışmada % 43 olarak tespit edilen füzyon pozitif hastaların, gleason skorlarına göre dağılımı, gleason skor 3-4 için %42, gleason skor 6 için % 84, gleason skor 8 için % 14 olarak tespit edilmiştir.²⁸⁴ ERG ve Gleason skoru arasındaki ilişkiyi, güvenilir şekilde sonuca ulaştıran, 5424 prostat kanserinin olduğu 8 çalışma, anlamlı bir negatif birliktelik bildirmiştir. 1734 hastanın olduğu 9 çalışma ise pozitif bir birliktelik bildirmiştir ve

6455 hastanın olduğu 37 çalışmada, ERG ve Gleason skoru arasında belirsiz bir birliktelik bildirilmiştir.²²⁷

Çalışmamızda, yüksek gradeli olgularımızda *TMPRSS2/ERG* ekspresyonunun olmaması, bu tümörlerin transizyonel zonda yerleşmesine bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Periferel zondan gelişmiş ve genellikle radikal prostatektomi ile örneklenen tümörlerde ekspresyon varlığını, periferel ve transizyonel zondan gelişen tümörlerin farklı moleküler yolaklar izleyebileceğine bağlayabiliriz. Bununla birlikte, tümör gelişim yolağının ilk basamaklarında, tümör gelişiminin başlamasında ekspresyonun daha etkin olduğunu, ileri basamaklarda ise farklı moleküler yolakların devreye girdiğini göstermektedir. Gleason skoru yüksek olan olgularda yapılacak olan yeni çalışmalarla farklı moleküler yolakların araştırılması bu konuya ışık tutacaktır.

FISH sonuçları ile karşılaştırıldığında, ERG immünohistokimyasal boyanma duyarlılığı % 89.8 ve özgüllüğü % 96.4 olarak saptanmıştır.²⁸⁰ FISH ve RT-PCR karşılaştırıldığında, RT-PCR %45, FISH ise %43 olarak görülmüştür. RT-PCR spesifitesi ve sensifitesi %93 olarak saptanmıştır.²⁸³

50 hastanın değerlendirildiği bir alıřma²⁸⁵ da ise %78 füzyon pozitifliği saptanmış.²⁸⁵ Biz alışmamızda, *TMPRSS2/ERG* ekspresyonunu RT-PCR yöntemi ile tespit ettik. Kantitatif olan RT-PCR'ın hassas bir yöntem olduğunu saptadık. Ancak ekspresyona neden olan mekanizmanın translokasyon veya delesyon olup olmadığının FISH yöntemi ile tespit edilmesi ve karşılaştırılarak değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Radikal prostatektomiyle tedavi edilen hastalarda, hem kohort çalışmasında hem de meta-analizde, ERG over ekspresyonu ya da pozitif *TMPRSS2:ERG* füzyon durumu daha ileri tümör evresiyle ilişkili bulunmuştur.²⁵⁴

Genel olarak, *TMPRSS2/ERG* füzyonu, ileri patolojik evre ile birlikte olma eğilimi gösterir. 5540 hasta içeren 10 çalışmada, ERG pozitif kanserin, negatiflere kıyasla ilerlemiş hastalıkta, daha yüksek yüzdede olduğu bulunmuştur ki bunun aksiye henüz literatürde bildirilmemiştir. ERG pozitifliği ve ileri tümör evresi arasındaki bağ ayrıca, tanıda *TMPRSS2/ERG* füzyonunun, daha ileri patolojik evreyle ilişkili olduğu, 8003 RP ve 34 çalışmalık bir meta analizle desteklenmektedir . Ancak böyle bir bağlantı her zaman net değildir.

6474 hasta içeren 35 çalışma, ERG durumunun patolojik evreden bağımsız olduğunu göstermiştir. Muhtemel açıklamalar; ERG ve tümör evresi arasındaki ters ilişkinin, biyolojik olarak önemsiz olduğu ya da hastaların sadece küçük bir alt grubunda bulunduğu olabilir. Dolayısıyla böyle bağlantılar küçük skalalı çalışmalarda kolaylıkla fark edilemez.²²⁷ Bizim serimizde yüksek gleason skora sahip olgular TUR materyali olduğu için patolojik evre ve ekspresyon arasındaki ilişki değerlendirme dışı tutulmuştur.

Otuz ayrı çalışmada toplam 11092 hastadanın değerlendirilmesinde, ERG pozitifliğinin nüks ya da mortaliteyle ilişkisiz olduğu gösterilmiştir. Sonra yapılan çalışmalarda, ERG füzyonu ile klinik davranış arasında çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. RP'den 454 prostat adenokarsinomu ve TURP'den 59 rastlantısal kanserin olduğu bir çalışmada, ERG aşırı ekspresyonunun periferik zon prostat kanserlerinde, transizyonel zon kanserlerine göre, çok daha sık olduğu bulunmuştur. ERG immün pozitifliğinin agresif lokal tümör özellikleri ya da daha kötü bir sonuçla ilişkisi saptanmamıştır.²²⁷ Bizim serimizde, ekspresyon olan olguların birinde, ekspresyon olmayan olguların 5'inde ölüm bildirilmiştir. Düşük gleason skorlu ve periferik zon kaynaklı tümörlerde daha yüksek oranda bulduğumuz ekspresyon varlığı ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktadır. Bu bulgumuz *TMPRSS2/ERG* füzyonunun, tümörün erken dönemlerinde daha etkin olduğunu düşündürmektedir.

Önceki çalışmalardaki bazı bulgular, *TMPRSS2:ERG*'nin, TUR-P ile konulan prostat kanseri tanısını takiben yakın izlemle yönetilen hastalarda daha kötü sonuçlarla ilişkili olabileceğini ileri sürmüştür.^{27,194} Demichelis ve ekibi, füzyon pozitif hastalarda, negatif olanlara göre uzak metastaz ve prostat kanserine bağlı ölüm riskinde, yaklaşık 3 katlık bir artış olduğunu bulmuştur.²⁷ Bu keşif daha sonra aynı grup tarafından lethal ya da ağrısız prostat kanserlerinde, geniş bir vaka-kontrol çalışmasıyla tekrarlanmıştır.²⁸⁶ Başka bir TUR-P kohortunda, Attard ve ekibi spesifik olarak delesyonla oluşan füzyona sahip hastaların füzyon negatif olanlara göre, artmış ölüm riskine sahip olduklarını bulmuştur.¹⁹⁴ Sadece 3 TUR-P kohortu, *TMPRSS2:ERG* ile lethal prostat kanseri arasındaki ilişkinin araştırıldığı analiz için, uygun bulunmuştur. Bu hasta grubunda tümör grade'i ve evresi hakkında veri sağlayan bunun gibi

çok az çalışma vardır. Buna rağmen sonuçlar TMPRSS2:ERG' nin daha düşük sıklıkta ortaya çıktığı ama TURP sonrası yakın izlemde olan hastalarda, daha agresif bir fenotiple ilişkili olduğu hipoteziyle aynı doğrultudadır. Bu özel hasta grubunda TMPRSS2:ERG'nin progresyonla ilişkili olması mümkündür çünkü transizyonel zonda ortaya çıkan, periferel zonda oluşarlardan biyolojik ya da genetik olarak farklıdır. Periferel zon tümörlerinin, transizyonel zon tümörlerine göre, daha kötü prognozla ilişkili olduğu göz önüne alındığında^{254,287}, TUR-P örneklerindeki pozitif füzyon durumunun, kanserin bu alt grubunda periferel zon tümör orijini için basit bir marker olması da mümkündür. Yine de başka bir açıklama da TMPRSS2:ERG'nin prostat kanserinde gerçekten bir prognostik belirteç olduğudur. TMPRSS2:ERG, metastatik yayılımdan ziyade lokal tümör büyümesinin bir belirtciyse, tedavi olunmadığında füzyon pozitif tümörü olan hastalar füzyonu olmayanlara göre daha kötü prognoza sahip olmalıdır. Bu soruyu yanıtlamak için ilk tedaviyi alan ve almayan hastalarda geniş skalalı bir biyopsi çalışması gerekmektedir.²⁵⁴ Bizim serimizde TUR olgu sayısı düşüktür ve bu olgularda ekspresyon görülmemiştir. Ancak bu seride gleason skor yüksek olduğu için mortalite oranı yüksektir. Transizyonel zon tümörlerinin örneklendiği TUR materyallerini içeren geniş olgulu çalışmalarla, prognozla ekspresyon ilişkisi irdelenmelidir.

Delesyon sonucu oluşan gen füzyonuna sahip kanserlerin, translokasyonlarla oluşarlardan, daha kötü prognoza sahip olduğu ileri sürülmüştür, bunun muhtemel nedeni 21. kromozomdaki TMPRSS2 ve ERG arasında yaklaşık 3Mb'lik etkin tümör süpresör genlerin bulunmasıdır.¹⁹⁷ Yapılan bir çalışmada, translokasyonla ya da delesyonla TMPRSS2:ERG pozitif olan kanserlerle (TMPRSS2:ERG negatif olan kanserlere karşın ikisi) ve sonuçlar arasında belirgin bir ilişki saptanmamıştır.²⁵⁴

Önceki çalışmalar, kesin füzyon transkripsiyon değişkenleri^{182,193,288} ve yeniden düzenlemenin artmış kopya sayılarıyla^{13,191,194,195} sonuçlar arasında ilişki olduğunu ileri sürmüştür.

Erken tanı ve tedavi olduğunda, PKa'nin tedavi oranı %90' ın üzerindedir. Fakat, bu vakalarının yüzde kaçının hayati risk oluşturacağı, ve yüzde kaçının tedavi edilmediğinde veya farklı bir şekilde tedavi edildiğinde hayat uzunluğu ve

kalitesini etkilemeyeceği bilinmemektedir. Hastalığın gidişini daha iyi belirleyebilen PKa moleküler belirteçlerini tanımlamak, hastaların tedavi seçeneklerini iyileştirmek açısından çok önemlidir. Embriyolojik ve zonal anatomisi farklı olan prostatın, tümör heterojenitesi de farklı olduğu için literatürde, moleküler yolaklar üstüne yapılan, değişik sonuçlar içeren çok sayıda çalışma vardır. *TMPRSS2/ERG* füzyonu bu yolaklardan biridir. Biz çalışmamızda, *TMPRSS2/ERG* ekspresyonunun düşük gleason skorlu ve periferik zon tümörü olan olgularda pozitif olduğunu saptadık. Literatürde de az olan yüksek gleason skorlu olguları içeren geniş serilerde ekspresyonun araştırılması gereklidir. Bu gen füzyonlarının klinik sonuçlarının belirlenmesi için, uzun dönem takip ve daha çok vaka gereklidir. Potansiyel onkogen ERG'nin androjen reseptör yönlendirmeli ekspresyonuyla ilgili translokasyonların tanımlanması, PKa'nin risk gruplarına bölünmesini, tanı ve tedavisini geliştirmeyi sağlayabilir.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmamız yüzbir olgudan oluşmaktadır.
2. Bu olgulardan yirmisi benign prostat hiperplazisi, otuzbiri gleason skor 6 prostat adenokarsinomu, yirmibeşi gleason skor 7 prostat adenokarsinomu, yirmibeşi gleason skor 8 ve üzeri prostat adenokarsinomudur.
3. Gleason skor 8 ve üzeri olan olguların 14'ü Trans Üretral Prostat Rezeksiyon (TUR-P) olarak seçilmiştir.Geri kalan 87 olgu Radikal Prostatektomi olarak seçilmiştir.
4. Değerlendirmeye aldığımız 101 olgunun yaş ortalaması en genç hastada 46, en yaşlı hastada 88 olup ortalama yaş 64 dür. PKa yaş ortalaması ise 64,9 dur. PKa görülme yaş ortalaması literatür ile uygunluk göstermektedir.
5. PSA değerleri en küçük 0,6 ng/ml, en büyük 116,4 ng/ml olup, ortalama 10.4 ng/ml' idi.
6. PSA değeri düşük (0-4 ng/ml) olan 6 hastada TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu (%66,7) pozitif, 3 hastada (%33,3) negatif bulundu. PSA değeri orta olan (4-10 ng/ml), 14 hastada TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu (%82,4) pozitif, 3 hastada (%17,6) negatif bulundu. PSA değeri yüksek olan (10 ng/ml ve üzeri) 13 hastada TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu (%48,1) pozitif, 14 hastada (%51,9) negatif olarak bulundu. TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu ile PSA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,07$).
7. Yirmi BPH olgusunun 8'inde (%40) ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu saptandı, 12'sinde (%60) görülmedi.
8. Otuz bir GS 6 (Düşük grade'li) olgunun tamamında ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu görüldü ve ekspresyon pozitifliği %100 olarak saptandı. Toplam 25 GS 7 (orta grade'li) olgunun tamamında ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu görüldü ve ekspresyon pozitifliği %100 olarak saptandı.

Toplam 25 GS 8 ve üzeri (yüksek grade'li) olgularda ERG ve TMPRSS2 ekspresyonu izlenmedi. Ekspresyon negatifliği %100 olarak saptandı. Gleason skoru ile TMPRSS2-ERG ekspresyon varlığı arasında anlamlı bir ilişki saptandı ($p=0,000$). Gleason skoru yüksek grade'de TMPRSS2-ERG ekspresyon varlığı görülmedi.

9. BPH'lı olgularımızın %40 TMPRSS2-ERG ekspresyon varlığı göstermesi ve literatürde tek bir çalışmada %6 oranında BPH vakalarında TMPRSS2-ERG ekspresyon varlığının gösterilmesi nedeni ile bu konuda daha çok çalışmanın yapılmasına ihtiyaç göstermektedir.
10. TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu pozitif ve negatif PKa tanılı hastaların toplam 72'sinin tedavi takip sürelerine ulaşıldı. 6 hastanın eksitus olduğu saptandı.
11. TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu pozitif GS 6 (düşük grade)'li 28 hastanın tedavi takip sürelerine ulaşıldı. Eksitus görülmedi.
12. TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu pozitif GS 7 (orta grade)'li 24 hastanın tedavi takip sürelerine ulaşıldı. Bir hastanın eksitus olduğu görüldü. Sağ kalım süresi 41 ay olarak saptandı.
13. TMPRSS2-ERG gen ekspresyonu negatif GS 8 ve üzeri (yüksek grade) 'li 20 hastanın tedavi takip sürelerine ulaşıldı. 5 hastanın eksitus olduğu görüldü. Sağ kalım süresi 20 ay olarak saptandı.
14. Prostat karsinomunun gidişini daha iyi belirleyebilen moleküler belirteçlerini tanımlamak, hastaların tedavi seçeneklerini iyileştirmek açısından çok önemlidir. Embriyolojik ve zonal anatomisi farklı olan prostatın, tümör heterojenitesi de farklı olduğu için literatürde, moleküler yolaklar üstüne yapılan, değişik sonuçlar içeren çok sayıda çalışma vardır. *TMPRSS2/ERG* füzyonu bu yolaklardan biridir. Bu gen füzyonlarının klinik sonuçlarının belirlenmesi için, uzun dönem takip ve daha çok vaka içeren çalışmalar gereklidir. Potansiyel onkogen ERG'nin androjen reseptör yönlendirmeli ekspresyonuyla ilgili translokasyonların tanımlanması, PKa'nin risk gruplarına bölünmesini, tanı ve tedavisini geliştirmeyi sağlayabilir.

15.15.PKa olan kişilerin sayısı her geçen yıl artış göstermektedir ve PKa'deki TMPRSS2-ERG sıklığı göz önüne alındığında, PKa'nu daha iyi anlamak için konuyla ilgili ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir



KAYNAKLAR

- 1- Cancer facts & figures **2012** (2012) In: Atlanta, GA: The American Cancer Society.
- 2- U.S. Cancer Statistics Working Group. United state cancer statistics:1999-2009 incidence and mortality Web-based report. **2012**. Atlanta, GA: Department of Health and Human Services, Centers for Disease
- 3- **Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, Dhanasekaran SM, Mehra R, et al. (2005)** Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. Science 310: 644-648 Control and Prevention, and National Cancer Institute.
- 4 **Bismar TA, Yoshimoto M, Vollmer RT, et al.** PTEN genomic deletion is an early event associated with ERG gene rearrangements in prostate cancer. BJU Int **2011**;107:477-85.
- 5- **Bismar TA, Dolph M, Teng LH, Liu S, Donnelly B.** ERG protein expression reflects hormonal treatment response and is associated with Gleason score and prostate cancer specific mortality. Eur J Cancer **2012**;48:538-46.
- 6- **Braun M, Scheble VJ, Menon R, et al.** Relevance of cohort design for studying the frequency of the ERG rearrangement in prostate cancer. Histopathology **2011**;58:1028-36.
- 7- **Chaux A, Albadine R, Toubaji A, et al.** Immunohistochemistry for ERG expression as a surrogate for TMPRSS2-ERG fusion detection in prostatic adenocarcinomas. Am J Surg Pathol **2011**;35:1014-20.
- 8- **Darnel AD, Lafargue CJ, Vollmer RT, Corcos J, Bismar TA.** TMPRSS2-ERG fusion is frequently observed in Gleason pattern 3 prostate cancer in a Canadian cohort. Cancer Biol Ther **2009**;8:125-30.
- 9- **Esgueva R, Perner S, LaFargue J, et al.** Prevalence of TMPRSS2-ERG and SLC45A3-ERG gene fusions in a large prostatectomy cohort. Mod Pathol **2010**;23:539-46.
- 10- **Falzarano SM, Zhou M, Carver P, Tsuzuki T, Simmerman K, He H, Magi-Galluzzi C.** ERG gene rearrangement status in prostate cancer detected by immunohistochemistry. Virchows Arch **2011**;459:441-7.

- 11- **Falzarano SM, Zhou M, Hernandez AV, Klein EA, Rubin MA, Magi- Galluzzi C.** Single focus prostate cancer: pathological features and ERG fusion status. *J Urol* **2011**;185:489-94.
- 12- **Furusato B, van Leenders GJ, Trapman J, et al.** Immunohistochemical ETS-related gene detection in a Japanese prostate cancer cohort: diagnostic use in Japanese prostate cancer patients. *Pathol Int* **2011**;61: 409-14.
- 13- **Gopalan A, Leversha MA, Satagopan JM, et al.** TMPRSS2-ERG gene fusion is not associated with outcome in patients treated by prostatectomy. *Cancer Res* **2009**;69:1400-6.
- 14- **Guo CC, Zuo G, Cao D, Troncoso P, Czerniak BA.** Prostate cancer of transition zone origin lacks TMPRSS2-ERG gene fusion. *Mod Pathol* **2009**;22:866-71.
- 15- **Guo CC, Wang Y, Xiao L, Troncoso P, Czerniak BA.** The relationship of TMPRSS2-ERG gene fusion between primary and metastatic prostate cancers. *HUM PATHOL* **2012**;43:644-9.
- 16- **Hoogland AM, Jenster G, van Weerden WM, et al.** ERG immunohistochemistry is not predictive for PSA recurrence, local recurrence or overall survival after radical prostatectomy for prostate cancer. *Mod Pathol* **2012**;25:471-9.
- 17- **Mosquera JM, Mehra R, Regan MM, et al.** Prevalence of TMPRSS2- ERG fusion prostate cancer among men undergoing prostate biopsy in the United States. *Clin Cancer Res* **2009**;15:4706-11.
- 18- **Nam RK, Sugar L, Yang W, et al.** Expression of the TMPRSS2:ERG fusion gene predicts cancer recurrence after surgery for localised prostate cancer. *Br J Cancer* **2007**;97:1690-5.
- 19- **Nam RK, Sugar L, Wang Z, et al.** Expression of TMPRSS2:ERG gene fusion in prostate cancer cells is an important prognostic factor for cancer progression. *Cancer Biol Ther* **2007**;6:40-5.
- 20- **Perner S, Mosquera JM, Demichelis F, et al.** TMPRSS2-ERG fusion prostate cancer: an early molecular event associated with invasion. *Am J Surg Pathol* **2007**;31:882-8.
- 21- **Saramaki OR, Harjula AE, Martikainen PM, Vessella RL, Tammela TL, Visakorpi T.** TMPRSS2:ERG fusion identifies a subgroup of prostate cancers with a favorable prognosis. *Clin Cancer Res* **2008**;14: 3395-400.
- 22- **Scheble VJ, Braun M, Beroukhir R, et al.** ERG rearrangement is specific to prostate cancer and does not occur in any other common tumor. *Mod Pathol* **2010**;23:1061-7.

- 23- **van Leenders GJ, Boormans JL, Vissers CJ, et al.** Antibody EPR3864 is specific for ERG genomic fusions in prostate cancer: implications for pathological practice. *Mod Pathol* **2011**;24:1128-38.
- 24- **Yaskiv O, Zhang X, Simmerman K, et al.** The utility of ERG/P63 double immunohistochemical staining in the diagnosis of limited cancer in prostate needle biopsies. *Am J Surg Pathol* **2011**;35: 1062-8.
- 25- **Zhang S, Pavlovitz B, Tull J, Wang Y, Deng FM, Fuller C.** Detection of TMPRSS2 gene deletions and translocations in carcinoma, intraepithelial neoplasia, and normal epithelium of the prostate by direct fluorescence in situ hybridization. *Diagn Mol Pathol* **2010**;19: 151-6.
- 26- **Bismar TA, Yoshimoto M, Duan Q, Liu S, Sircar K, Squire JA.** Interactions and relationships of PTEN, ERG, SPINK1 and AR in castration-resistant prostate cancer. *Histopathology* **2012**;60:645-52.
- 27- **Demichelis F, Fall K, Perner S, et al.** TMPRSS2:ERG gene fusion associated with lethal prostate cancer in a watchful waiting cohort. *Oncogene* **2007**;26:4596-9.
- 28- **Falzarano SM, Navas M, Simmerman K, Klein EA, Rubin MA, Zhou M, Magi-Galluzzi C.** ERG rearrangement is present in a subset of transition zone prostatic tumors. *Mod Pathol* **2010**;23:1499-506.
- 29- **Fine SW, Gopalan A, Leversha MA, et al.** TMPRSS2-ERG gene fusion is associated with low Gleason scores and not with high-grade morphological features. *Mod Pathol* **2010**;23:1325-33.
- 30- **Gopalan A, Leversha MA, Dudas ME, et al.** TMPRSS2-ERG rearrangement in dominant anterior prostatic tumours: incidence and correlation with ERG immunohistochemistry. *Histopathology* **2013**;63:279-86.
- 31- **Liu S, Yoshimoto M, Trpkov K, et al.** Detection of ERG gene rearrangements and PTEN deletions in unsuspected prostate cancer of the transition zone. *Cancer Biol Ther* **2011**;11:562-6.
- 32- **Gao X, Li LY, Zhou FJ, et al.** ERG rearrangement for predicting subsequent cancer diagnosis in high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and lymph node metastasis. *Clin Cancer Res* **2012**;18: 4163-72.
- 33- **Mosquera JM, Perner S, Genega EM, et al.** Characterization of TMPRSS2-ERG fusion high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and potential clinical implications. *Clin Cancer Res* **2008**;14: 3380-5.

- 34- **Shah RB, Tadros Y, Brummell B, Zhou M.** The diagnostic use of ERG in resolving an “atypical glands suspicious for cancer” diagnosis in prostate biopsies beyond that provided by basal cell and alphasamylase markers. *HUM PATHOL* **2013**;44:786-94.
- 35- **Sadler TW:** Langman’s Medical Embryology, ed 6, Baltimore, Williams & Wilkins, **1990**.
- 36- **Kirby RS, Christmas TJ:** Benign Prostatic Hyperplasia, ed 2, London, Mosby International, **1997**.
- 37- **Shapiro E.** Embryologic development of the prostate. Insights into the etiology and treatment of benign prostatic hyperplasia. *Urol Clin North Am.* **1990** Aug;17(3):487-93
- 38- **Tanagho E.A. :** Anatomy of the lower urinary tract. In: Campbell's Urology. Edited by Walsh PC, Retik AB, Stamey TA, Vaughan Jr, E D. Philadelphia: W.B. Saunders Company. Vol.1, chapt.1, pp. 40-69, **1992**
- 39- **Coffey, D.S** The Molecular Biology, Endocrinology, and Physiology of the Prostate and Seminal Vesicles. IN: Campbell's Urology (Walsh, PC, Retik, AB, Stamey, TA. and Vaughan, ED, Jr., Eds.), W. B. Saunders Co., New York, 6th Edition, Volume I, pp. 221-266, **1992**
- 40- **Peter A Humphrey** Prostate Pathology, **2003** by the American Society for clinical Pathology chapter 1 page 3-7
- 41- **Perichery Narayan:** Benign Prostatic Hyperplasia. Churchill Livingstone **2001**
- 42- **Paz G.F., Homonnai Z.T.,** Functional anatomy of the male accessory sex organs. In: Infertility: Male and female. Edited by Insler V., Lunenfeld B. Edinburgh: Churchill Livingstone. pp.129-167, **1986**
- 43- **Grayhack JT, Kozlowski JM.** Benign Prostatic Hyperplasia. Adults and Pediatric Urology. Ed. Gillenwater JY, Grayhack JT, Howards SS, Duckett JW. St. Louis, Mosby Year Book, **1991**; 1211- 1276
- 44- **Berry SJ, Coffey DS, Walsh PC, Ewing LL.** The development of human benign prostatic hyperplasia with age. *J Urol.* **1984**;132(3):474-9
- 45- **Brooks JD.** Anatomy of the lower urinary tract and male genitalia. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED et al. *Campbell's Urology*. Philadelphia, Saunders, **2007**; 38-77
- 46- **Hinman F Jr,** Atlas of Urosurgical Anatomy, Philadelphia, W.B. Saunders Co., **1993**.

- 47- **Tanagho EA**: Anatomy of the genitourinary tract; in Tanagho TA, McAninch JE (eds):Smith's General Urology, ed 14, Norwalk, Appleton & Lange, **1995**, pp 1-16.
- 48- **Carroll PR, Grossfeld GD**. Anatomy. Rogers RS, Carroll PR, Tanagho E. Prostate Cancer. 1st ed. Canada: BC Decker Inc. **2002**: 82- 91
- 49- **Gray H**. Reproductive System. Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE, Feguson MWJ. Gray's Anatomy. 34th ed. London: Pearson Professional Ltd. **1995**:1858-1861
- 50- **McNeal JE**: The prostate and prostatic urethra: a morphologic study. J Urol **1972**;107:1008-1016.
- 51- **Coffey D**: The molecular biology, endocrinology, and physiology of the prostate and seminal vesicles; inWalsh PC, Retik AB, Stamey TA, Vaughan ED Jr. (eds): Campbell's Urology, ed 6, Philadelphia, W.B. Saunders Co., **1992**, vol 1, pp 221-266.
- 52- **Barut M**. Transrektal Ultrasonografiyle prostat biyopsisi ve ağrı kontrolünde intravenöz kontramal ile periprostatik sinir blokajı karşılaştırması. Türkiye Klinikleri **2007**;44:57-61
- 53- **Snell RS**. The pelvis:Part II-The pelvic cavity. Snell RS. Clinical Anatomy. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins **2004**: 378-382
- 54- **Walsh P, Refik A**. Campbell Üroloji. Sekizinci baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, **2005**; 1237-1296, 3003-3079.
- 55- **Hekimgil M**. Prostatın zonal anatomi ve histolojisi. Mesane ve Prostat Patolojisi Kursu, Ankara: **2007**; 54-59.
- 56- **Williams PL**. Gray's Anatomy. 36th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, **1980**; 1420-1422.
- 57- **Mills, Stacey E**. Histology for Pathologists. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, **2006**: 923-944.
- 58- **Humphrey P**. Prostate Pathology. Chicago: ASCP Press, **2003**; 3-23.
- 59- **Rosai J**. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. Ninth ed. New York: Mosby, 2004; 65, 1361-1411, 281
- 60- **Amin MB, Bostwick GD**. Pigment in prostatic epithelium and adenocarcinoma: A potential source of diagnostic confusion with seminal vesicular epithelium. Mod Pathol. **1996**; 9(7): 791-795.

- 61- **Özorak A.** Prostat biopsilerinde 6-10-12 kadran biopsilerin prostat kanseri saptama oranları ve prostat kanseri saptanması için optimal alınması gereken parça sayısının araştırılması. T.C. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Isparta, **2007**; 9.
- 62- Guyton&Hall Tıbbi Fizyoloji Kitabı, 9. Edisyon. Nobel Tıp Kitapevleri. **1996**.
- 63- **Glover D.:** Oncologic Diseases, in Textbook of Internal Medicine, ed. Myers, AR. Harwal Publishing, Philadelphia, pp. 161-163. **1994**
- 64- **Pienta K.J.:** Etiology, Epidemiology and Prevention of Carcinoma the Prostate, in Campbell's Urology.eds.Walsh PC, Retik A.B, Vaughan ED, Jr, Wein AJ. Seventh edition, W.B. Saunders Co., Philadelphia, Vol. 3, Chapter 80, pp. 2489-2495 **1998**
- 65- **Rose DP, Boyar AP, Wynder EL.** International comparisons of mortality rates for cancer of the breast, ovary, prostate, and colon, and per capita food consumption. Cancer. **1986** 1;58(11):2363-71.
- 66- **Isaacs, W.B. and Coffey, D.S.** Understanding DNA Changes in Urological Cancers. In: Oncogenes and Molecular Genetics of Urological Tumors. (Olsson, C.A., Ed.), Churchill Livingstone, New York, pp. 3-14, **1992**
- 67- **Pitot HC.** Environmental modifiers in carcinogenesis.IARC Sci Publ.**1982**; (39): 165 -76.
- 68- **Hall EJ.** From chimney sweeps to oncogenes: the quest for the causes of cancer. Radiology. **1991**;179(2):297-306.
- 69- **Land H, Parada LF, Weinberg RA.** Tumorigenic conversion of primary embryo fibroblasts requires at least two cooperating oncogenes. Nature. **1983** 18-24;304 (5927):596-602.
- 70- **Levine AJ, Momand J.** Tumor suppressor genes: the p53 and retinoblastoma sensitivity genes and gene products. Biochim Biophys Acta. **1990** 1;1032(1):119-36.
- 71- **Avunduk MC.** 'Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi' 73.Bölüm Onkogenler, 975-277-014-2,7,Öncü Basımevi Ankara,Güneş Kitapevi, **2004**
- 72- **Connolly JM, Rose DP.** Production of epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha by the androgen-responsive LNCaP human prostate cancer cell line Prostate. **1990**;16(3):209-18.
- 73- **Turkeri LN, Sakr WA, Wykes SM, Grignon DJ, Pontes JE, Macoska JA.** Comparative analysis of epidermal growth factor receptor gene expression and protein product in benign, premalignant, and malignant prostate tissue. Prostate. **1994** ;25(4):199-205.

- 74- **Zhau HE, Wan DS, Zhou J, Miller GJ, von Eschenbach AC.**, Expression of c-erb B-2/neu proto-oncogene in human prostatic cancer tissues and cell lines. *Mol Carcinog.* **1992**;5(4):320-7.
- 75- **Viola MV, Fromowitz F, Oravez S, Deb S, Finkel G, Lundy J, Hand P, Thor A, Schlom J.** Expression of ras oncogene p21 in prostate cancer. *N Engl J Med.* **1986** 16;314(3):133-7
- 76- **Akdas A, Cevik I, Tarcan T, Turkeri L, Dalaman G, Emerk K.** The role of free prostate-specific antigen in the diagnosis of prostate cancer. *Br J Urol.* **1997** ;79(6):920-3.
- 77- **Buttayan R, Sawczuk IS, Benson MC, Siegal JD, Olsson CA.** Enhanced expression of the c-myc protooncogene in high-grade human prostate cancers. *Prostate.* **1987**;11(4): 327-37.
- 78- **Fontana A, Constam DB, Frei K, Malipiero U, Pfister HW.** Modulation of the immune response by transforming growth factor beta. *Int Arch Allergy Immunol.* **1992**;99(1):1-7.
- 79- **Yang EY, Moses HL.** Transforming growth factor beta 1-induced changes in cell migration, proliferation, and angiogenesis in the chicken chorioallantoic membrane *J Cell Biol.* **1990**;111(2):731-41.
- 80- **Carter BS, Bova GS, Beaty TH, Steinberg GD, Childs B, Isaacs WB, Walsh PC.** Hereditary prostate cancer: epidemiologic and clinical features. *J Urol.* **1993**;150(3):797-802
- 81- **Irvine RA, Yu MC, Ross RK, Coetzee GA.** The CAG and GGC microsatellites of the androgen receptor gene are in linkage disequilibrium in men with prostate cancer. *Cancer Res.* **1995** 1;55(9):1937-40.
- 82- **Bastian PJ, Ellinger J, Wellmann A, Wernert N, Heukamp LC, Muller SC, von Ruecker A.** Diagnostic and prognostic information in prostate cancer with the help of a small set of hypermethylated gene loci. *Clin Cancer Res.* **2005** 1;11(11):4097-106.
- 83- **Macoska JA, Trybus TM, Sakr WA, Wolf MC, Benson PD, Powell IJ, Pontes JE.** Fluorescence in situ hybridization analysis of 8p allelic loss and chromosome 8 instability in human prostate cancer. *Cancer Res.* **1994** 15;54(14):3824-30.
- 84- **Sidransky D, Messing E.** Molecular genetics and biochemical mechanisms in bladder cancer. Oncogenes, tumor suppressor genes, and growth factors. *Urol Clin North Am.* **1992** ;19(4):629-39.
- 85- **Anwar K, Nakakuki K, Shiraishi T, Naiki H, Yatani R, Inuzuka M.** Presence of ras oncogene mutations and human papillomavirus DNA in human prostate carcinomas. *Cancer Res.* **1992** 1;52(21):5991-6.

- 86-**Rosai J.**, Ackerman's Surgical Pathology: Male reproductive system; Prostate and Seminal vesicles. 9.th, Mosby, St. Louis, sayfa; 1361-1411. **2004**.
- 87- **Athanassiadou P, Bantis A, Gonidi M, Liossi A, Aggelonidou E, Petrakakou E, Giannopoulos A.** Telomerase expression as a marker in prostate cancer: correlation to clinicopathologic predictors. J Exp Clin Cancer Res. **2003** ;22(4):613-8.
- 88- **Montie JE, Pienta KJ.** Review of the role of androgenic hormones in the epidemiology of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. Urology. **1994** ;43(6):892-9.
- 89- **Melegos DN, Freedman MS, Diamandis EP.** Prostate-specific antigen in cerebrospinal fluid. : Clin Chem. **1997** ;43(5):855.
- 90- **Heer R, Douglas D, Mathers ME, Robson CN, Leung HY.** Fibroblast growth factor 17 is over-expressed in human prostate cancer. J Pathol. **2004** ;204(5):578-86.
- 91-**Christensson A, Bjork T, Nilsson O, Dahlen U, Matikainen MT, Cockett AT, Abrahamsson PA, Lilja H.** Serum prostate specific antigen complexed to alpha 1-antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. J Urol. **1993** ;150(1):100-5.
- 92- **Winkelstein W.Jr., Ernster R.:** Epidemiology and etiology. In Murphy GP (Ed.). Prostate Cancer. Littleton, Massachussets, PGS Publishing, 1-17, **1979**
- 93- **Stamey T.A., Mc Neal J.E.:** Adenocarcinoma of the Prostate. In: Campbell's Urology. Walsh P.C., Retik A.B., Stamey T.A., Vaughan E.D. (Eds.). 6th Ed. WB Saunders Co. 1159-1221. **1992**
- 94- **Thiessen EU.** Concerning a familial association between breast cancer and both prostatic and uterine malignancies. Cancer. **1974** ;34(4):1102-7.
- 95- **Brown JA, Alcaraz A, Takahashi S, Persons DL, Lieber MM, Jenkins RB.** Chromosomal aneusomies detected by fluorescent in situ hybridization analysis in clinically localized prostate carcinoma. J Urol. **1994** ;152(4):1157-62.
- 96- **Smith Genel Üroloji. Editörler; Emil A. Tanagha, Jack W. McAninch.** Çeviri editörü;Yrd. Doç.Dr.Gürkan Kazancı. Nobel Tıp Kitapevleri. **1999**. Sayfa; 410-433
- 97- **Mettlin C, Selenskas S, Natarajan N, Huben R.** Beta-carotene and animal fats and their relationship to prostate cancer risk. Cancer. **1989** 1;64(3): 605-12.
- 98- **Hsing AW, McLaughlin JK, Schuman LM, Bjelke E, Gridley G, Wacholder S, Chien HT, Blot WJ.** Diet, tobacco use, and fatal prostate cancer: results from the Lutheran Brotherhood Cohort Study Cancer Res. **1990** 1;50(21):6836-40.

- 99- **Huggins C, Hodges CV.** Studies on prostatic cancer: I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. 1941. J Urol. **2002** ;168(1):9-12.
- 100- **Roger S.Kirby, Timothy J.Christmas, Michael K.Brawer,** Mosby. Prostate Cancer: Second Edition **2001**
- 101-**Graham S, Haughey B, Marshall J, Priore R, Byers T, RzePKa T, Mettlin C, Pontes JE.** Diet in the epidemiology of carcinoma of the prostate gland. J Natl Cancer Inst. **1983**;70(4):687-92.
- 102- **Reichman ME, Hayes RB, Ziegler RG, Schatzkin A, Taylor PR, Kahle LL, Fraumeni JF Jr** Serum vitamin A and subsequent development of prostate cancer in the first National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. Cancer Res. **1990** 15;50(8):2311-5
- 103- **Pagano F, Zattoni F, Vianello F, Piazza R, Capitanio G.** Is there a relationship between benign prostatic hyperplasia and prostatic cancer? Eur Urol. **1991**;20 Suppl- 1:31-5
- 104- **Zigeuner R, Schips L, Lipsky K, Auprich M, Salfellner M, Rehak P, Pummer K, Hubmer G.** Detection of prostate cancer by TURP or open surgery in patients with previously negative transrectal prostate biopsies. Urology. **2003** Nov;62(5):883-7.
- 105- **Heidenreich A, Aus G, Bolla M, Joniau S, Matveev VB, Schmid HP, Zattoni F;** European Association of Urology. EAU guidelines on prostate cancer. Eur Urol. **2008** Jan;53(1):68-80. Epub 2007 Sep 19.
- 106- **Hamilton W, Sharp D.** Symptomatic diagnosis of prostate cancer in primary care: a structured review. Br J Gen Pract. **2004** Aug;54(505):617-21.
- 107- **Guisse TA, Mohammad KS, Clines G, Stebbins EG, Wong DH, Higgins LS, Vessella R, Corey E, Padalecki S, Suva L, Chirgwin JM.** Basic mechanisms responsible for osteolytic and osteoblastic bone metastases. Clin Cancer Res. **2006** Oct 15;12(20 Pt 2):6213s-6216s.
- 108- **Lange PH, Ercole CJ, Lightner DJ, et al.** The value of serum prostate specific antigen determinations before and after radical prostatectomy. J Urol **1989** Apr;141(4):873-9.
- 109- **Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, 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. J Urol **1994** May;151(5):1283-90.
- 110- **McCormack TR, Rittenhouse HG, Finlay JA, et al:** Molecular form of prostate specific antigen and the human kallikrein gene family: A new era. Urology, 45: 729, **1995**

- 111- **Sokoll LJ, Chan DW.** Prostate-specific antigen. Its discovery and biochemical characteristics. *Urol Clin North Am.* **1997** May;24(2):253-9.
- 112- **Catalona WJ.** Clinical utility of measurements of free and total prostate-specific antigen (PSA): a review. *Prostate Suppl.* **1996**;7:64-9.
- 113- **Kundra V, Silverman PM, Matin SF, Choi H,** Imaging in oncology from the University of Texas M. D. Anderson Cancer Center: diagnosis, staging, and surveillance of prostate cancer. *AJR Am J Roentgenol.* **2007** Oct;189(4):830-44.
- 114- **Mottet N, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, Mason M, Matveev V, Schmid HP, Van der Kwast T, Wiegel T, Zattoni F, Heidenreich A.** EAU guidelines on prostate cancer. Part II: Treatment of advanced, relapsing, and castration-resistant prostate cancer. *Eur Urol.* **2011** Apr;59(4):572-83. Epub 2011 Jan 25.
- 115- **Bartsch G, Horninger W, Klocker H, et al;** Tyrol Prostate Cancer Screening Group. Prostate cancer mortality after introduction of prostate specific antigen mass screening in the Federal State of Tyrol, Austria. *Urology* **2001** Sep;58(3):417-24.
- 116- **Braeckman J, Michielsen D.** Prognostic factors in prostate cancer. *Recent Results Cancer Res.* **2007**;175:25-32.
- 117- **Suzuki H, Kamiya N, Imamoto T, Kawamura K, Yano M, Takano M, Utsumi T, Naya Y, Ichikawa T.** Current topics and perspectives relating to hormone therapy for prostate cancer. *Int J Clin Oncol.* **2008** Oct;13(5):401-10. Epub 2008 Oct 23.
- 118- **Isbarn H, Boccon-Gibod L, Carroll PR, Montorsi F, Schulman C, Smith MR, Sternberg CN, Studer UE.** Androgen deprivation therapy for the treatment of prostate cancer: consider both benefits and risks. *Eur Urol.* **2009** Jan;55(1):62-75. Epub 2008 Oct 14.
- 119- **Moreau JP, Delavault P, Blumberg J.** Luteinizing hormone-releasing hormone agonists in the treatment of prostate cancer: a review of their discovery, development, and place in therapy. *Clin Ther.* **2006** Oct;28(10):1485-508.
- 120- **De Jong IJ, Eaton A, Bladou F.** LHRH agonists in prostate cancer: frequency of treatment, serum testosterone measurement and castrate level: consensus opinion from a roundtable discussion. *Curr Med Res Opin.* **2007** May;23(5):1077-80.
- 121- **Crawford ED, Hou AH.** The role of LHRH antagonists in the treatment of prostate cancer. *Oncology (Williston Park).* **2009** Jun;23(7):626-30.
- 122- **Galsky MD, Vogelzang NJ.** Docetaxel-based combination therapy for castration-resistant prostate cancer. *Ann Oncol.* 2010 Nov;21(11):2135-44. Epub 2010 Mar 29

- 123- **Samaratunga H, Montironi R, True L, Epstein JI, Griffiths DF, Humphrey PA, van der Kwast T, Wheeler TM, Srigley JR, Delahunt B, Egevad L**; ISUP Prostate Cancer Group. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 1: specimen handling. *Mod Pathol*. 2011 Jan;24(1):6-15. Epub **2010** Sep 10.
- 124- **Van der Kwast TH, Amin MB, Billis A, Epstein JI, Griffiths D, Humphrey PA, Montironi R, Wheeler TM, Srigley JR, Egevad L, Delahunt B**; ISUP Prostate Cancer Group. 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. *Mod Pathol*. **2011** Jan;24(1):16-25. Epub 2010 Sep 3.
- 125- **Rosai J**. Male Reproductive system. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, Volume 1. 9th ed. Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto. Mosby 1361-1411, **2004**
- 126- **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**.
- 127- **Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA**, editors. World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital organs. Lyon: IARC Pres; **2004**: 160-215.
- 128- **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
- 129- **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
- 130- **Grignon D. J., Sakr W.A.**: Atypical adenomatous hyperplasia of the prostate. *Eur Urol* **1996**; 30: 206-211
- 131- **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
- 132- **Epstein J.I.**: Diagnosis and reporting of limited adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy. *Mod Pathol* **2004**; 17: 307-315
- 133- **Heidenreich A, Aus G, Bolla M, Joniau S, Matveev VB, Schmid HP, Zattoni F**; European Association of Urology. EAU guidelines on prostate cancer. *Eur Urol*. 2008 Jan;53(1):68-80. Epub **2007** Sep 19

- 134- **Montironi R, Cheng L, Lopez-Beltran A**, Scarpelli M, Mazzucchelli R, Mikuz G, Kirkali Z, Montorsi F. Original Gleason system versus 2005 ISUP modified Gleason system: the importance of indicating which system is used in the patient's pathology and clinical reports. *Eur Urol.* 2010 Sep;58(3):369-73. Epub **2010** May 8.
- 135- **Humphrey P.** Gleason grading and prognostic factors in carcinoma of the prostate. *Mod Pathol.* **2004**; 17: 292-306
- 136- **Yang X, Tretiakova M.S., Sengupta E., Gong C., Jiang Z.**: Florid basal cell hyperplasia of the prostate. *Human Pathol* **2003**; 34 (5): 462-470
- 137- **Bostwick DG, Meiers I.** Neoplasms of the Prostate. In: Bostwick DG, Cheng L, editors. *Urologic Surgical Pathology*. Missouri: Mosby-Elsevier **2008**: 444-578.
- 138- **Silverberg SG, DeLellis RA, Frable WJ, LiVolsi VA, Wick MR**, editors. *Silverberg's Principles and Practice of Surgical Pathology and Cytopathology*. Philadelphia: Churchill Livingstone **2006**:1791-1828.
- 139- **Kubista, M., Andrade M., Forootan, A., Jonák, J., Lind, K., et al.** The real-time polymerase chain reaction *Mol Aspects Med* **2006**;27:95-125., J.M., Bengtsson.67
- 140- **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**.
- 141- **Dorak, M.T.** Real-time PCR. *School of Clinical Medical Sciences (Child Health)Newcastle University, Newcastle-upon-Tyne, UK.* ISBN 0–203–96731–3 *Mastere-book* ISBN, (2006). sayfa 39 – 62.
- 142- **Oral, H.B.** Enfeksiyon Hastalıkları ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu. nj.O.T.F.Enfeksiyon II. *Klinigi, TKlin Tıp Bilimleri* **1992**, 12, BURSA.
- 143- **Gut, M., Leutenegger, C.M., Huder, JB., Pedersen, N.C., Lutz, H.** One-tube fluorogenic reverse transcription-polymerase chain reaction for the quantitation of feline coronaviruses. *J Virol Methods* **1999**;77:37-46.
- 144- **Arı, S., Temizkan, G., Arda, N.,** Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, “DNA’ nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile Çoğaltılması” ,Nobel Kitabevi, 57-67, (**1999**).
- 145- Anonim. <http://users.ugent.be/~avierstr/principles/pcr.html>.
- 146- **Kubista, M., Andrade, J.M., Bengtsson, M., Forootan, A., Jonák, J., Lind, K., et al.** The real-time polymerase chain reaction *Mol Aspects Med* **2006**;27:95-125.
- 147- Real Time PCR. <http://www.iontek.com.tr/?id=11>.

- 148-DNA/RNA Real-Time Quantitative PCR.
- 149- **Günel, T.** Gen Anlatımının Kantitatif Analizi “Real-Time PCR”. Türkiye Klinikleri J Med Sci **2007**, 27:763-767.
- 150- Anonim. Real-Time PCR Vs. Traditional PCR. Applied Biosystems.
- 151- **Leutenegger, C. M.** The Real-Time TaqMan PCR and Applications in Veterinary Medicine
- 152- Anonim. Real-Time PCR Applications Critical Factors for Successful Real-Time. Qiagen PCR Hand Book.
- 153- **Aslan, A., İlhak, O.I., Calicioglu, M.:** Effect of method of cooking on identification of heat processed beef using polymerase chain reaction (PCR) technique. Meat Sci., **2006**; 72: 326-330
- 154- **Sawyer, J., Wood, C., Shanahan, D., Gout S., McDowell, D.** Real-time PCR for quantitative meat species testing. Food Control 14 (**2003**), 579–583.
- 155- **Dooley, J. J., Paine, K. E., Garrett, S.D.,** Brown, H. M. Detection of meat species using TaqMan real-time PCR assays. Meat Science 68 (**2004**), 431–438.
- 156- **Chisholm, J., Conyers, C., Booth, C., Lawley, W., Hird, H.** The detection of horse and donkey using real-time PCR. Meat Science 70, (**2005**) 727-732.
- 157- **Valasek, M. A. and Repa¹, Joyce J.** The power of real-time PCR Adv Physiol Educ 29: 151–159, **2005**; doi:10.1152/advan.00019.2005.
- 158- **Ünlü, A.** PCR&Real Time PCR.ppt..
- 159- **Levin, R.E.,** The Application of Real-Time PCR to Food and Agricultural systems. Food Biotechnology, Vol. 18, No. 1, pp. 97–133, **2004**
- 160- **Hofmann, K.** Fundamental problems in identifying the animal species of muscle meat using electrophoretic methods. _n Fleischwirts, 67 (**1987**), 820-826.
- 161-**Van der Velden, V.H., Hochhaus, A., Cazzaniga, G., Szczepanski, T., Gabert, J., van Dongen, J.J.** Detection of minimal residual disease in hematologic malignancies by real-time quantitative PCR: Principles, approaches, and laboratory aspects. Leukemia **2003**;17:1013-34.
- 162- **Wolf, C., Lüthy J.** Quantitive compatitive (QC) PCR for quantification of porcine DNA. Meat Sci., 57, (**2001**),161-168.

- 163- **Kubista, M., A, Stalberg., Bar, T.** Light-up probe based real-time Q-PCR. In: Raghavachari R, Tan W, eds. Genomics and Proteomics Technologies. 1st ed. Proceedings of SPIE; **2001**.p.53-8.
- 164- **Chaplin, B.E., Rasmussen, R.P., Bernard, P.S., Wittwer, C.T.** LightCyclerTM hybridization probes the most direct way to monitor PCR amplification and mutation detection. *Biochemica* **1999**;1:5-8.
- 165- **Wittwer, C.T., Herrmann, M.G., Moss, A.A., Rasmussen, R.P.** Continuous fluorescence monitoring of rapid cycle DNA amplification. *Biotechniques* **1997**;22:130-1, 134-8.
- 166- Anonim. Essentials of Real Time PCR.http://www3.appliedbiosystems.com/cms/groups/mcb_marketing/documents/generaldocuments/cms_039996.pdf.
- 167- **Mulema, J.M.K.** Analysis of data from Real time experiments.ppt. (**2006**).
- 168- **Tomlins SA, Laxman B, Varambally S, Cao X, Yu J, et al. (2008)** Role of the TMPRSS2-ERG gene fusion in prostate cancer. *Neoplasia* 10: 177-188.
- 169- **Zong Y, Xin L, Goldstein AS, Lawson DA, Teitell MA, et al. (2009)** ETS family transcription factors collaborate with alternative signaling pathways to induce carcinoma from adult murine prostate cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:12465-12470.
- 170- **Carver BS, Tran J, Gopalan A, Chen Z, Shaikh S, et al. (2009)** Aberrant ERG expression cooperates with loss of PTEN to promote cancer progression in the prostate. *Nat Genet* 41: 619-624.
- 171- **King JC, Xu J, Wongvipat J, Hieronymus H, Carver BS, et al. (2009)** Cooperativity of TMPRSS2-ERG with PI3-kinase pathway activation in prostate oncogenesis. *Nat Genet* 41: 524-526.
- 172- **Sun C, Dobi A, Mohamed A, Li H, Thangapazham RL, et al. (2008)** TMPRSS2- ERG fusion, a common genomic alteration in prostate cancer activates C-MYC and abrogates prostate epithelial differentiation. *Oncogene* 27: 5348-5353.
- 173- **Wang J, Cai Y, Yu W, Ren C, Spencer DM, et al. (2008)** Pleiotropic Biological Activities of Alternatively Spliced TMPRSS2/ERG Fusion Gene Transcripts. *Cancer Res* 68: 8516-8524.
- 174- **Reid AH, Attard G, Ambrosine L, Fisher G, Kovacs G, et al. (2010)** Molecular characterisation of ERG, ETV1 and PTEN gene loci identifies patients at low and high risk of death from prostate cancer. *Br J Cancer* 102: 678-684.

- 175- **Tomlins SA, Mehra R, Rhodes DR, Smith LR, Roulston D, et al. (2006)** TMPRSS2:ETV4 gene fusions define a third molecular subtype of prostate cancer. *Cancer Res* 66: 3396-3400.
- 176- **Hermans KG, Bressers AA, van der Korput HA, Dits NF, Jenster G, et al. (2008)** Two unique novel prostate-specific and androgen-regulated fusion partners of ETV4 in prostate cancer. *Cancer Res* 68: 3094-3098.
- 177- **Helgeson BE, Tomlins SA, Shah N, Laxman B, Cao Q, et al. (2008)** Characterization of TMPRSS2:ETV5 and SLC45A3:ETV5 gene fusions in prostate cancer. *Cancer Res* 68: 73-80.
- 178- **Han B, Mehra R, Dhanasekaran SM, Yu J, Menon A, et al. (2008)** A fluorescence in situ hybridization screen for E26 transformation-specific aberrations: identification of DDX5-ETV4 fusion protein in prostate cancer. *Cancer Res* 68: 7629-7637.
- 179- **Pflueger D, Rickman DS, Sboner A, Perner S, LaFargue CJ, et al. (2009)** N-myc downstream regulated gene 1 (NDRG1) is fused to ERG in prostate cancer. *Neoplasia* 11: 804-811.
- 180- **Carrère S, Verger A, Flourens A, Stehelin D, Duterque-Coquillaud M (1998)** Erg proteins, transcription factors of the Ets family, form homo, heterodimers and ternary complexes via two distinct domains. *Oncogene* 16: 3261-3268.
- 181- **Soller MJ, Isaksson M, Elfving P, Soller W, Lundgren R, et al. (2006)** Confirmation of the high frequency of the <I>TMPRSS2/ERG</I> fusion gene in prostate cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 45: 717-719.
- 182- **Wang J, Cai Y, Ren C, Ittmann M (2006)** Expression of Variant TMPRSS2/ERG Fusion Messenger RNAs Is Associated with Aggressive Prostate Cancer. *Cancer Res* 66: 8347-8351.
- 183- **Clark J, Merson S, Jhavar S, Flohr P, Edwards SM, et al (2007)** Diversity of TMPRSS2-ERG fusion transcripts in the human prostate. *Oncogene* 26: 2667-2673.
- 184- **Hermans KG, van Marion R, van Dekken H, Jenster G, van Weerden WM, et al. (2006)** TMPRSS2:ERG fusion by translocation or interstitial deletion is highly relevant in androgen-dependent prostate cancer, but is bypassed in late-stage androgen receptor-negative prostate cancer. *Cancer Res* 66: 10658-10663.
- 185- **Esgueva R, Perner S, J LaFargue C, Scheble V, Stephan C, et al. (2010)** Prevalence of TMPRSS2-ERG and SLC45A3-ERG gene fusions in a large prostatectomy cohort. *Mod Pathol* 23: 539-546.

- 186- **Mwamukonda K, Chen Y, Ravindranath L, Furusato B, Hu Y, et al. (2009)** Quantitative expression of TMPRSS2 transcript in prostate tumor cells reflects TMPRSS2-ERG fusion status. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 13: 47-51.
- 187- **Rouzier C, Haudebourg J, Carpentier X, Valério L, Amiel J, et al. (2008)** Detection of the TMPRSS2-ETS fusion gene in prostate carcinomas: retrospective analysis of 55 formalin-fixed and paraffin-embedded samples with clinical data. *Cancer Genet Cytogenet* 183: 21-27.
- 188- **Furusato B, Gao CL, Ravindranath L, Chen Y, Cullen J, et al. (2008)** Mapping of TMPRSS2-ERG fusions in the context of multi-focal prostate cancer. *Mod Pathol* 21: 67-75.
- 189- **Tu JJ, Rohan S, Kao J, Kitabayashi N, Mathew S, et al. (2007)** Gene fusions between TMPRSS2 and ETS family genes in prostate cancer: frequency and transcript variant analysis by RT-PCR and FISH on paraffin-embedded tissues. *Mod Pathol* 20: 921-928.
- 190- **Albadine R, Latour M, Toubaji A, Haffner M, Isaacs WB, et al. (2009)** TMPRSS2-ERG gene fusion status in minute (minimal) prostatic adenocarcinoma. *Mod Pathol* 22: 1415-1422.
- 191- **FitzGerald LM, Agalliu I, Johnson K, Miller MA, Kwon EM, et al. (2008)** Association of TMPRSS2-ERG gene fusion with clinical characteristics and outcomes: results from a population-based study of prostate cancer. *BMC Cancer* 8: 230.
- 192- **Winnes M, Lissbrant E, Damber JE, Stenman G (2007)** Molecular genetic analyses of the TMPRSS2-ERG and TMPRSS2-ETV1 gene fusions in 50 cases of prostate cancer. *Oncol Rep* 17: 1033-1036.
- 193- **Hermans KG, Boormans JL, Gasi D, van Leenders GJ, Jenster G, et al. (2009)** Overexpression of Prostate-Specific TMPRSS2(exon 0)-ERG Fusion Transcripts Corresponds with Favorable Prognosis of Prostate Cancer. *Clin Cancer Res* 15: 6398-6403.
- 194- **Attard G, Clark J, Ambroisine L, Fisher G, Kovacs G, et al. (2007)** Duplication of the fusion of TMPRSS2 to ERG sequences identifies fatal human prostate cancer. *Oncogene* 27: 253-263.
- 195- **Yoshimoto M, Joshua AM, Cunha IW, Coudry RA, Fonseca FP, et al. (2008)** Absence of TMPRSS2:ERG fusions and PTEN losses in prostate cancer is associated with a favorable outcome. *Mod Pathol* 21: 1451-1460.
- 196- **Mehra R, Tomlins SA, Yu J, Cao X, Wang L, et al. (2008)** Characterization of TMPRSS2-ETS Gene Aberrations in Androgen-Independent Metastatic Prostate Cancer. *Cancer Res* 68: 3584-3590.

- 197- **Perner S, Demichelis F, Beroukhi R, Schmidt FH, Mosquera JM, et al. (2006)** TMPRSS2:ERG Fusion-Associated deletions provide insight into the heterogeneity of prostate Cancer. *Cancer Res* 66: 8337-8341.
- 198- **Rostad K, Hellwinkel OJ, Haukaas SA, Halvorsen OJ, Øyan AM, et al. (2009)** TMPRSS2:ERG fusion transcripts in urine from prostate cancer patients correlate with a less favorable prognosis. *APMIS* 117: 575-582.
- 199- **Mehra R, Tomlins SA, Shen R, Nadeem O, Wang L, et al (2007)** Comprehensive assessment of TMPRSS2 and ETS family gene aberrations in clinically localized prostate cancer. *Mod Pathol* 20: 538-544.
- 200- **Perner S, Svensson MA, Hossain RR, Day JR, Groskopf J, et al. (2010)** ERG Rearrangement Metastasis Patterns in Locally Advanced Prostate Cancer. *Urology* 75: 762-767.
- 201- **Mosquera JM, Perner S, Demichelis F, Kim R, Hofer MD, et al. (2007)** Morphological features of $TMPRSS2-ERG$ gene fusion prostate cancer. *J Pathol* 212: 91-101.
- 202- **Klezovitch O, Risk M, Coleman I, Lucas JM, Null M, et al. (2008)** A causal role for ERG in neoplastic transformation of prostate epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 2105-2110.
- 203- **Cai J, Singareddy R, Kropinski A, Sheng S, Cher ML, et al. (2010)** Androgens Induce Functional CXCR4 through ERG Factor Expression in TMPRSS2-ERG Fusion-Positive Prostate Cancer Cells. *Transl Oncol* 3: 195
- 204- **Basuyaux JP, Ferreira E, Stéhelin D, Buttice G (1997)** The Ets transcription factors interact with each other and with the c-Fos/c-Jun complex via distinct protein domains in a DNA-dependent and -independent manner. *J Biol Chem* 272: 26188-26195-203.
- 205- **Buttice G, Duterque-Coquillaud M, Basuyaux JP, Carrère S, Kurkinen M, et al. (1996)** Erg, an Ets-family member, differentially regulates human collagenase1 (MMP1) and stromelysin1 (MMP3) gene expression by physically interacting with the Fos/Jun complex. *Oncogene* 13: 2297-2306.
- 206- **Brenner JC, Ateeq B, Li Y, Yocum AK, Cao Q, et al. (2011)** Mechanistic rationale for inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase in ETS gene fusion-positive prostate cancer. *Cancer Cell* 19: 664-678.
- 207- **Yu J, Yu J, Mani RS, Cao Q, Brenner CJ, et al. (2010)** An integrated network of androgen receptor, polycomb, and TMPRSS2-ERG gene fusions in prostate cancer progression. *Cancer Cell* 17: 443-454.

- 208- **Rickman DS, Chen YB, Banerjee S, Pan Y, Yu J, et al. (2010)** ERG cooperates with androgen receptor in regulating trefoil factor 3 in prostate cancer disease progression. *Neoplasia* 12: 1031-1040.
- 209- **Mohamed AA, Tan SH, Sun C, Shaheduzzaman S, Hu Y, et al. (2011)** ERG oncogene modulates prostaglandin signaling in prostate cancer cells. *Cancer Biol Ther* 11: 410-417.
- 210- **Leshem O, Madar S, Kogan-Sakin I, Kamer I, Goldstein I, et al. (2011)** TMPRSS2/ERG promotes epithelial to mesenchymal transition through the ZEB1/ZEB2 axis in a prostate cancer model. *PLoS One* 6: e21650.
- 211- **Flajollet S, Tian TV, Flourens A, Tomavo N, Villers A, et al. (2011)** Abnormal expression of the ERG transcription factor in prostate cancer cells activates osteopontin. *Mol Cancer Res* 9: 914-924.
- 212- **Yin L, Rao P, Elson P, Wang J, Ittmann M, et al. (2011)** Role of TMPRSS2-ERG gene fusion in negative regulation of PSMA expression. *PLoS One* 6: e21319.
- 213- **Mani RS, Iyer MK, Cao Q, Brenner JC, Wang L, et al. (2011)** TMPRSS2-ERG-mediated feed-forward regulation of wild-type ERG in human prostate cancers. *Cancer Res* 71: 5387-5392.
- 214- **Mertz KD, Setlur SR, Dhanasekaran SM, Demichelis F, Perner S, et al. (2007)** Molecular characterization of TMPRSS2-ERG gene fusion in the NCI-H660 prostate cancer cell line: a new perspective for an old model. *Neoplasia* 9: 200-206.
- 215- **Attard G, Swennenhuis JF, Olmos D, Reid AH, Vickers E, et al. (2009)** Characterization of ERG, AR and PTEN gene status in circulating tumor cells from patients with castration-resistant prostate cancer. *Cancer Res* 69: 2912- 2918.
- 216- **Mani RS, Tomlins SA, Callahan K, Ghosh A, Nyati MK, et al. (2009)** Induced chromosomal proximity and gene fusions in prostate cancer. *Science* 326: 1230.
- 217- **Lin C, Yang L, Tanasa B, Hutt K, Ju BG, et al. (2009)** Nuclear receptor-induced chromosomal proximity and DNA breaks underlie specific translocations in cancer. *Cell* 139: 1069-1083.
- 218- **Bastus NC, Boyd LK, Mao X, Stankiewicz E, Kudahetti SC, et al. (2010)** Androgen-induced TMPRSS2:ERG fusion in nonmalignant prostate epithelial cells. *Cancer Res* 70: 9544-9548.
- 219- **Haffner MC, De Marzo AM, Meeker AK, Nelson WG, Yegnasubramanian S (2011)** Transcription-induced DNA double strand breaks: both oncogenic force and potential therapeutic target? *Clin Cancer Res* 17: 3858-3864.

- 220- **Perner S, Demichelis F, Beroukhi R, Schmidt FH, Mosquera JM, et al. (2006)** TMPRSS2:ERG fusion-associated deletions provide insight into the heterogeneity of prostate cancer. *Cancer Res* 66: 8337-8341.
- 221- **Linja MJ, Savinainen KJ, Saramäki OR, Tammela TL, Vessella RL, et al. (2001)** Amplification and overexpression of androgen receptor gene in hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Res* 61: 3550-3555.
- 222- **Cai C, Wang H, Xu Y, Chen S, Balk SP (2009)** Reactivation of Androgen Receptor-Regulated TMPRSS2:ERG Gene Expression in Castration-Resistant Prostate Cancer. *Cancer Res* 69: 6027-6032.
- 223- **Lubik AA, Gunter JH, Hendy SC, Locke JA, Adomat HH, et al. (2011)** Insulin increases de novo steroidogenesis in prostate cancer cells. *Cancer Res* 71: 5754-5764.
- 224- **Locke JA, Guns ES, Lubik AA, Adomat HH, Hendy SC, et al. (2008)** Androgen levels increase by intratumoral de novo steroidogenesis during progression of castration-resistant prostate cancer. *Cancer Res* 68: 6407-6415.
- 225- **Julia L Williams, Maisa Yoshimoto, Alexander H Boag, Jeremy A Squire, Paul C Park, TMPRSS2:ETS gene fusions in prostate cancer ,*Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.* 2011; 15(8)**
- 226-**Ashish B Rajput, Melinda A Miller, Alessandro De Luca, Niki Boyd, Sam Leung, Antonio Hurtado-Coll, Ladan Fazli, Edward C Jones, Jodie B Palmer, Martin E Gleave, Michael E Cox, David G Huntsman** Frequency of the TMPRSS2:ERG gene fusion is increased in moderate to poorly differentiated prostate cancers *J Clin Pathol* 2007;60:1238–1243. doi: 10.1136/jcp.2006.043810
- 227-**Bin Xu MD, PhD¹, Myriam Chevarie-Davis MD, MSc¹, Simone Chevalier PhD¹, Eleanora Scarlata PhD¹, Nebras Zeizafoun MD¹, Alice Dragomir PhD¹, Simon Tanguay MD¹, Wassim Kassouf MD¹, Armen Aprikian MD¹, Fadi Brimo MD¹,*** The prognostic role of ERG immunopositivity in prostatic acinar adenocarcinoma: a study including 454 cases and review of the literature, *Human Pathology* (2014) 45, 488–497
- 228- **Frohling S, Dohner H.** Chromosomal abnormalities in cancer. *N Engl J Med* 2008;359:722–34.
- 229- **Tomlins SA, Bjartell A, Chinnaiyan AM, Jenster G, Nam RK, Rubin MA, et al.** ETS gene fusions in prostate cancer: from discovery to daily clinical practice. *Eur Urol* 2009;56:275–86.
- 230-**Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A.** *Cancer statistics, 2011:* the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin* 2011;61:212–36.

- 231- **Hermans KG, van Marion R, van Dekken H, Jenster G, van Weerden WM, Trapman J.** TMPRSS2:ERG fusion by translocation or interstitial deletion is highly relevant in androgen-dependent prostate cancer, but is bypassed in late-stage androgen receptor-negative prostate cancer. *Cancer Res* **2006**;66:10658–63.
- 232- **Lin B, Ferguson C, White JT, Wang S, Vessella R, True LD, et al.** Prostate-localized and androgen-regulated expression of the membrane-bound serine protease TMPRSS2. *Cancer Res* **1999**;59:4180–4.
- 233- **Seth A, Watson DK.** ETS transcription factors and their emerging roles in human cancer. *Eur J Cancer* **2005**;41:2462–78.
- 234- **Clark JP, Cooper CS.** ETS gene fusions in prostate cancer. *Nat Rev Urol* **2009**;6:429–39.
- 235- **Lapointe J, Kim YH, Miller MA, Li C, Kaygusuz G, Van De Rijn M, et al.** A variant TMPRSS2 isoform and ERG fusion product in prostate cancer with implications for molecular diagnosis. *Mod Pathol* **2007**;20: 467–73.
- 236- **Rostad K, Hellwinkel OJ, Haukaas SA, Halvorsen OJ, Oyan AM, Haese A, et al.** TMPRSS2:ERG fusion transcripts in urine from prostate cancer patients correlate with a less favorable prognosis. *APMIS* **2009**;117: 575–82.
- 237- **Hofer MD, Kuefer R, Maier C, Herkommer K, Perner S, Demichelis F, et al.** Genome-wide linkage analysis of TMPRSS2-ERG fusion in familial prostate cancer. *Cancer Res* **2009**;69:640–6.
- 238- **Lee K, Chae JY, Kwak C, Ku JH, Moon KC.** TMPRSS2-ERG gene fusion and clinicopathologic characteristics of Korean prostate cancer patients. *Urology* **2010**;76:1268.e7–13.
- 239- **Leinonen KA, Tolonen TT, Bracken H, Stenman UH, Tammela TLJ, Saramaki OR, et al.** Association of SPINK1 expression and TMPRSS2: ERG fusion with prognosis in endocrine-treated prostate cancer. *Clin Cancer Res* **2010**;16:2845–51.
- 240- **Rouzier C, Haudebourg J, Carpentier X, Valerio L, Amiel J, Michiels JF, et al.** Detection of the TMPRSS2-ETS fusion gene in prostate carcinomas: retrospective analysis of 55 formalin-fixed and paraffinembedded samples with clinical data. *Cancer Genet Cytogenet* **2008**;183:21–7.
- 241- **Rubio-Briones J, Fernandez-Serra A, Calatrava A, Garcia-Casado Z, Rubio L, Bonillo MA, et al.** Clinical implications of TMPRSS2-ERG gene fusion expression in patients with prostate cancer treated with radical prostatectomy. *J Urol* **2010**;183:2054–61.
- 242- **Toubaji A, Albadine R, Meeker AK, Isaacs WB, Lotan T, Haffner MC, et al.** Increased gene copy number of ERG on chromosome 21 but not TMPRSS2-ERG fusion predicts outcome in prostatic adenocarcinomas. *Mod Pathol* **2011**;24:1511–20.

- 243- **Minner S, Enodien M, Sirma H, Luebke AM, Krohn A, Mayer PS, et al.** ERG status is unrelated to PSA recurrence in radically operated prostate cancer in the absence of anti-hormonal therapy. *Clin Cancer Res* **2011**;17:5878–88.
- 244- **Mao C, Yu Y, Boyd LK, Ren G, Lin D, Chaplin T, et al.** Distinct genomic alterations in prostate cancers in Chinese and western populations suggest alternative pathways of prostate carcinogenesis. *Cancer Res* **2010**;70:5207–12.
- 245- **Miyagi Y, Sasaki T, Fujinami K, Sano J, Senga Y, Miura T, et al.** ETS family-associated gene fusions in Japanese prostate cancer: analysis of 194 radical prostatectomy samples. *Mod Pathol* **2010**;23:1492–8.
- 246- **Sun QP, Li LY, Chen Z, Pang J, Yang WJ, Zhou XF, et al.** Detection of TMPRSS2-ETS fusions by a multiprobe fluorescence in situ hybridization assay for the early diagnosis of prostate cancer: a pilot study. *J Mol Diagn* **2010**;12:718–24.
- 247- **Tu JJ, Rohan S, Kao J, Kitabayashi N, Mathew S, Chen Y-T.** Gene fusions between TMPRSS2 and ETS family genes in prostate cancer: frequency and transcript variant analysis by RT-PCR and FISH on paraffin-embedded tissues. *Mod Pathol* **2007**;20:921–8.
- 248- **Magi-Galluzzi C, Tsusuki T, Elson P, Simmerman K, Lafargue C, Esgueva R, et al.** TMPRSS2-ERG gene fusion prevalence and class are significantly different in prostate cancer of Caucasian, African- American and Japanese patients. *Prostate* **2011**;71:489–97.
- 249- **Bonaccorsi L, Nesi G, Nuti F, Paglierani M, Krausz C, Masieri L, et al.** Persistence of expression of theTMPRSS2:ERG fusion gene after presurgery androgen ablation may be associated with early prostate specific antigen relapse of prostate cancer: preliminary results. *J Endocrinol Invest* **2009**;32:590–6.
- 250- **Mehra R, Tomlins SA, Shen R, Nadeem O, Wang L, Wei JT, et al.** Comprehensive assessment of TMPRSS2 and ETS family gene aberrationsin clinically localized prostate cancer. *Mod Pathol* **2007**;20: 538–44.
- 251- **Barros-Silva JD, Ribeiro FR, Rodrigues A, Cruz R, Martins AT, Jeronimo C, et al.** Relative 8q gain predicts disease-specific survival irrespective of the TMPRSS2-ERG fusion status in diagnostic biopsies of prostate cancer. *Genes Chromosomes Cancer* **2011**;50:662–71.
- 252- **Boormans JL,HermansKG,MadeAC, van LeendersGJ, WildhagenMF, Collette L, et al.** Expression of the androgen-regulated fusion gene TMPRSS2-ERG does not predict response to endocrine treatment in hormone-naïve, node-positive prostate cancer. *Eur Urol* **2010**;57:830–5.

- 253- **Furusato B, Tan SH, Young D, Dobi A, Sun C, Mohamed AA, et al.** ERG oncoprotein expression in prostate cancer: clonal progression of ERG-positive tumor cells and potential for ERG-based stratification. *Prostate Cancer Prostatic Dis* **2010**;13:228–37.
- 254- **Andreas Pettersson, Rebecca E. Graff, Scott R. Bauer, et al.** The *TMPRSS2:ERG* Rearrangement, ERG Expression, and Prostate Cancer Outcomes: A Cohort Study and Meta-analysis, Published Online First June 26, **2012**; DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-12-0042
- 255- **Greene DR, Fitzpatrick JM, Scardino PT.** Anatomy of the prostate and distribution of early prostate cancer. *Semin Surg Oncol* **1995**;11:9–22.
- 256- **Bismar TA, Trpkov K.** TMPRSS2-ERG gene fusion in transition zone prostate cancer. *Mod Pathol* **2010**;23:1040–1; author reply 1041–2.
- 257- **Gleason DF** Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother Rep.* **1966**;50(3):125-8.
- 258- **Bailar JC 3rd, Mellinger GT, Gleason DF** Survival rates of patients with prostatic cancer, tumor stage, and differentiation--preliminary report. *Cancer Chemother Rep.* **1966**;50(3):129-36.
- 259- **Allsbrook WC Jr, Mangold KA, Johnson MH, Lane RB, Lane CG, Epstein JI** Interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic carcinoma: general pathologist. *Hum Pathol.* **2001** ;32(1):81-8.
- 260- **Albertsen PC, Hanley JA, Gleason DF, Barry MJ** Competing risk analysis of men aged 55 to 74 years at diagnosis managed conservatively for clinically localized prostate cancer. *JAMA.* **1998** 16;280(11):975-80.
- 261- **D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB, et al,** Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *JAMA.* **1998** Sep 16;280(11):969-74.
- 262- **Fowler JE Jr, Mills SE** Operable prostatic carcinoma: correlations among clinical stage, pathological stage, gleason histological score and early disease-free survival. *J Urol.* **1985** ;133(1):49-52.
- 263- **Freedland SJ, Aronson WJ, Presti JC Jr, Amling CL, Terris MK, Trock B, Kane CJ.** Predictors of prostate-specific antigen progression among men with seminal vesicle invasion at the time of radical prostatectomy. *Cancer.* **2004** 15;100(8):1633-8.
- 264- **Roger S.Kirby, Timothy J.Christmas, Michael K.Brawer,.** Prostate Cancer: Mosby. Second Edition **2001**.

- 265- **A-W.C. Willett**, Diet and cancer: one view at the start of the millennium, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 10 (2001) 3–8.
- 266- **B -D.M. Freedman, M. Dosemeci, K. McGlynn**, Sunlight and mortality from breast, ovarian, colon, prostate, and nonmelanoma skin cancer: a composite death certificate based case-control study, *Occup. Environ. Med.* 59 (2002) 257–262.
- 267- **C- Walker M, Aronson KJ, King W, Wilson JW, Fan W, Heaton JP, Macneily A, Nickel JC, Morales A.** Dietary patterns and risk of prostate cancer in Ontario, Canada. *Int J Cancer.* 2005
- 268- **Woolf SH, Rothemich SF.** Screening for prostate cancer: the roles of science, policy, and opinion in determining what is best for patients. *Annu Rev Med.* 1999;50:207-21.
- 269- **Oesterling JE, Jacobsen SJ, Klee GG, Pettersson K, Piironen T, Abrahamsson PA, Stenman UH, Dowell B, Lovgren T, Lilja H.** Free, complexed and total serum prostate specific antigen: the establishment of appropriate reference ranges for their concentrations and ratios. *J Urol.* 1995 ;154(3):1090-5.
- 270- **Christensson A, Bjork T, Nilsson O, Dahlen U, Matikainen MT, Cockett AT, Abrahamsson PA, Lilja H.** Serum prostate specific antigen complexed to alpha 1-antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. *J Urol.* 1993 ;150(1):100-5.
- 271- **Armigate TG, Cooper EH and Newling WWo,** The value of the measurement of serum PSA in patients with benign prostatic hyperplasia amd untreated prostate cancer. *Bro J Urol.* 62:584-589 1989
- 272- **Stenman UH, Leinonen J, Alfthan H, Rannikko S, Tuhkanen K, Alfthan O.A** complex between prostate-specific antigen and alpha 1-antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostatic cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer. *Cancer Res.* 1991 1;51(1):222-6. 206.
- 273- **Taftachi R, Ayhan A, Ekici S, Ergen A, Ozen H.** Proliferating-cell nuclear antigen (PCNA) as an independent prognostic marker in patients after prostatectomy: a comparison of PCNA and Ki-67. *BJU Int.* 2005 ;95(4):650-4.
- 274- **Ojea Calvo A, Mosteiro Cervino MJ, Dominguez Freire F, Alonso Rodrigo A, Rodriguez Iglesias B, Benavente Delgado J, Barros Rodriguez JM, Gonzalez Pineiro A.** [Prognostic factors of prostate cancer: usefulness of Ki-67 expression in preoperative biopsies] *Arch Esp Urol.* 2004 ;57(8):805-16.
- 275- **Di Lorenzo G, Autorino R, D'Armiento FP, Mignogna C, De Laurentiis M, De Sio M, D'Armiento M, Damiano R, Vecchio G, De Placido S.** Expression of protooncogene c-kit in high risk prostate cancer. *Eur J Surg Oncol.* 2004 ;30(9):987-92.

- 276- **Avunduk MC:** Prostatın benign ve malign olgularında NOR cisimciklerinin prognostik ve diagnostik önemi. T Klin. Tıp Bilimleri **1999**, 19:90-94
- 277- **Andriole GL, Catalona WJ.** Using PSA to screen for prostate cancer. The Washington University experience. Urol Clin North Am. **1993** ;20(4):647-51.
- 278- **Catalona WJ, Richie JP, deKernion JB, Ahmann FR, Ratliff TL, Dalkin BL, Kavoussi LR, MacFarlane MT, Southwick PC.** Comparison of prostate specific antigen concentration versus prostate specific antigen density in the early detection of prostate cancer: receiver operating characteristic curves. J Urol. **1994**;152(6 Pt 1): 2031-6.
- 279- **Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, Hudson MA, Scardino PT, Flanigan RC, deKernion JB, Ratliff TL, Kavoussi LR, Dalkin BL, 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. J Urol. **1994** ;151(5):1283-90.
- 280-Ja **Hee Suh¹·Jeong-Whan Park¹Cheol Lee¹·Kyung Chul Moon^{1,2}** ERG Immunohistochemistry and Clinicopathologic Characteristics in Korean Prostate Adenocarcinoma Patients *The Korean Journal of Pathology* **2012**; 46: 423-428
- 281- **Rouzier C, Haudebourg J, Carpentier X, et al.** Detection of the *TMPRSS2-ETS* fusion gene in prostate carcinomas: retrospective analysis of 55 formalin-fixed and paraffin-embedded samples with clinical data. Cancer Genet Cytogenet **2008**; 183: 21-7.
- 282- **Miyagi Y, Sasaki T, Fujinami K, et al.** ETS family-associated gene fusions in Japanese prostate cancer: analysis of 194 radical prostatectomy samples. Mod Pathol **2010**; 23: 1492-8.
- 283-**Jiangling J Tu*, Stephen Rohan*, Jean Kao, Naoki Kitabayashi, Susan Mathewand Yao-Tseng Chen** Gene fusions between TMPRSS2 and ETS family genes in prostate cancer: frequency antranscript variant analysis by RT-PCR and FISH on paraffin-embedded tissues, Modern Pathology (**2007**) 20, 921–928
- 284-**Andrew D. Darnel,¹ Christopher J. LaFargue,² Robin T. Vollmer,³ Jacques Corcos⁴ and Tarek A. Bismar^{1,5,6,*}** TMPRSS2-ERG fusion is frequently observed in gleason pattern 3 prostate cancer in a canadian cohort, [Cancer Biology & Therapy 8:2, 125-130; 15 January **2009**];
- 285-**Qi-Peng Sun,* Liao-Yuan Li,* Zhong Chen,†‡ Jun Pang,* Wei-Jiao Yang,* Xiang-Fu Zhou,* Jian-Guang Qiu,* Zu-Lan Su,§ Dan He,§ and Xin Gao*** Detection of *TMPRSS2-ETS* Fusions by a Multiprobe Fluorescence *in Situ* Hybridization Assay for the Early Diagnosis of Prostate Cancer, *Journal of Molecular Diagnostics*, Vol. 12, No. 5, September **2010**
- 286- **Sboner A, Demichelis F, Calza S, Pawitan Y, Setlur SR, Hoshida Y, et al.** Molecular sampling of prostate cancer: a dilemma for predicting disease progression. BMC Med Genomics **2010**;3:8.

287-**King CR, Ferrari M, Brooks JD.** Prognostic significance of prostate cancer originating from the transition zone. *Urol Oncol* **2009**;27:592–7.

288- **Shah RB, Chinnaiyan AM.** The discovery of common recurrent transmembrane protease serine 2 (TMPRSS2)-erythroblastosis virus E26 transforming sequence (ETS) gene fusions in prostate cancer: significance and clinical implications. *Adv Anat Pathol* **2009**;16: 145–53.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Cansu Abaylı
Doğum Tarihi : 24.03.1972
Medeni Durumu : Evli
Adres : Kışla mah. Seyhan Park Evleri, H Blk. Kat 11,
No: 22 ,Yüreğir/ADANA
E- posta : cabayli@mynet.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Görev Yerleri : 1999-2008: Kışla Köprülü Sağlık Ocağı
2008-2010:Türkan Gizer Toplum Sağlığı
Merkezi
2010-2014: Çukurova Üniversitesi Tıp
Fakültesi Patoloji ABD
Yabancı Dil : İngilizce
Dernek Üyelikleri : Çukurova Patoloji Derneği,
Patoloji Dernekleri Federasyonu