

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**PROSTAT KANSERİNDE MİKRODAMAR YOĞUNLUĞU,
Ki-67 VE P53 EKSPRESYONU İLE KLİNİKOPATOLOJİK
PARAMETRELER VE HASTA PROGNOZU ARASINDAKİ
İLİŞKİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Cenk ACAR

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Tevfik Sinan SÖZEN

ANKARA-2006

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam ve uzmanlık eğitimimin tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, deneyim ve eşsiz bilgilerinden yararlandığım tez danışmanım örnek akademisyen Doç. Dr. Tevfik Sinan Sözen'e sonsuz teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlanma olanağı bulduğum ve yetişmemde değerli katkıları olan başta Gazi Üniversitesi Üroloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İbrahim Bozkırlı olmak üzere bütün öğretim üyelerine,

Çalışmalarım sırasında yanımda olan, arkadaşlık ve desteğini esirgemeyen Uzman Dr. Serhat Gürocak'a; tüm asistan, hemşire, sekreter arkadaşlarıma ve personelimize,

Manevi destekleriyle hayatım boyunca yanımda olan annem, babam ve kardeşime, bana her zaman destek veren, beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan, tüm sıkıntılarımı paylaşan eşime teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	18
4. BULGULAR	24
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇ	34
7. ÖZET	35
8. SUMMARY	36
9.KAYNAKLAR.....	37

GİRİŞ

Gelişmiş ülkelerin verilerine göre, prostat kanseri tüm erkek kanserlerinin %11'ini ve kansere bağlı erkek ölümlerinin %9' unu oluşturmaktadır [1, 2]. Artan insidansı ve klinik seyri nedeniyle prostat kanserinin tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesinde bazı prognostik bilgilere ihtiyaç duyulmaktadır. Klinik ve biyopsi bulgularını temel alarak hazırlanmış modellerde progresyon için düşük risk sınıfına giren hastalar radikal prostatektomi (RRP) için aday olmakla beraber RRP tedavisi sonrasında progresyon için yüksek riskli olduğu ön görülen hastalara cerrahi sonrası erken dönemde androjen blokajı veya diğer sekonder tedavi seçenekleri uygulanabilmektedir. İlk olarak Partin ve ark. [3] tarafından, klinik evre, parmakla rektal muayene (PRM), prostat spesifik antijen (PSA) ve biyopsiden elde edilen Gleason skorunun (GS) değerlendirilmesi ile prognostik bir algoritma oluşturulmuştur. Kattan ve ark. [4] da cerrahi öncesi benzer veriler ile oluşturdukları nomogramları mevcuttur. Daha sonra bu verilere patolojik evre ve cerrahi örneğin GS'sinin eklenmesi ile RRP sonrası hastalığın klinik progresyonunun önceden belirlenmesine çalışılmıştır [5]. Her iki algoritmada da sadece GS'nin prostat kanserinin biyolojik potansiyelini direk olarak belirlediği belirtilmektedir. Ancak bu nomogramlarda ekstraprostatik yayılımın varlığı son derece düşük duyarlılığa sahip olan PRM ile değerlendirilmektedir [3, 4]. Bu nedenle prostat kanserinde cerrahi tedavi sonrası prognozun belirlenebilmesi için yeni prognostik belirteçlere ihtiyaç vardır.

Onkogenler ve tümör baskılayıcı gen mutasyonları gibi genetik değişikliklerin neden olduğu tümör anjiogenezi ve proliferasyonunun belirlenmesi bir tümörün progresyon gösterip göstermeyeceğinin önceden bilinmesi için oldukça önemlidir. Tümör anjiogenezinin sayısal olarak hesaplanan değeri mikrodamar yoğunluğu (MDY) olarak tanımlanmaktadır. MDY, damar endoteline spesifik CD24, CD31, CD34, CD105 ve von Willebrand faktör (faktör VIII) gibi antikorlar kullanılarak immunohistokimyasal boyama yöntemleri ile tümörün oluşturduğu küçük ve kıvrıntılı damarların sayılması ile hesaplanmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, MDY'nin meme, akciğer, kolon, mide, malign melanom, prostat ve

mesane kanserlerinde ileri patolojik evre ve kötü prognozla ilişkili olduğu belirtilmektedir [6-10]. Prostat kanserinde MDY'nin prognostik bir belirteç olarak araştırıldığı çalışmalarda kullanılan farklı antikörler ve ölçüm metodları nedeniyle bu konuda kesin bir sonuca varabilmek mümkün değildir. Ancak, özellikle Faktör VIII ve CD105'in diğerlerine göre daha güçlü birer belirteç olabileceği belirtilmektedir [11-14].

Bilinen en önemli tümör baskılayıcı genlerden biri olan p53'ün mutasyonu ve/veya delesyonu ile tümör dokusundaki anjiogenez ve buna bağlı neovaskülarizasyon artmaktadır. Yapılan çalışmalarda, p53 gen mutasyonunun özellikle düşük klinik evre prostat kanserinde az görülmesine rağmen hastalığın progresyonunda önemli bir aşama olduğu belirtilmektedir [15-17].

Bu çalışmanın amacı, RRP uygulanan hastalarda prognostik belirteç olarak bilinen klinikopatolojik parametrelerle beraber CD31, CD105 ve faktör VIII antikörleri kullanılarak ölçülen MDY, proliferatif indeksi gösteren Ki-67 ve p53 mutasyon varlığının prognoza olan katkılarını araştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

PROSTAT KANSERİ:

Prostat kanseri son yıllarda erkek popülasyonunun en önemli sağlık problemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Avrupa’da her yıl 2.6 milyon yeni kanser vakası saptanmaktadır [1, 2]. Elli yaşın üzerindeki erkeklerde prostat kanseri görülme sıklığı otopsi çalışmaları ile %30 oranında bulunmuştur [18, 19]. 1980’ lerin ortalarında, prostat kanseri tanısında prostat spesifik antijen (PSA) gibi yeni tarama yöntemlerinin kullanılmaya başlanması ile biyolojik davranışı düşük, hayatı tehdit etmeyen klinik önemsiz prostat kanserlerinin teşhis edilmesi sonucunda bu hastalığın insidansında yükselme olduğu düşünülmektedir.

1. Etiyoloji

Prostat kanseri etyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Pek çok faktör tek veya beraberce etkili olabilir.

Ailesel Yatkınlık : Tüm prostat kanserlerinin yaklaşık %9’u genetik bir temele sahiptir. Herediter prostat kanser geni 1. kromozomun kısa kolunda yer almaktadır. Birinci dereceden yakınlarında prostat kanseri olanlarda genel popülasyona nazaran 2.1-2.8 kat fazla kanser tespit edilmektedir [20].

Diyet : Yağlı diyetle beslenenlerdeki seks hormonu ve androjen seviyesinin vejeteryanlara göre 1.5-2 kat fazla görülmesi yağ asitlerinin prostat kanseri oluşumuna katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

Benign Prostat Hiperplazisi(BPH) : Her iki patolojinin de (BPH, Prostat kanseri) yaşlılarda görülmesi ve androjen bağımlı olması gibi ortak noktalarına rağmen, kesin bir etkileşim tespit edilememiştir. BPH nedeniyle ameliyat edilenlerin %5-14’ ünde prostat kanseri tespit edilmesi nedeniyle prostat kanserinin teşhis edilme şansını arttırdığı düşünülmektedir.

Vazektomi : Vazektomi ve prostat kanseri arasında bir ilişki olabileceği belirtilmektedir.

Meslek: Kadmiuma maruz kalanlarda risk bulunabilmesine rağmen diğer mesleklerin önemli bir etkisi yoktur.

Enfeksiyon: Prostat enfeksiyonlarının da displastik hücre gelişiminde rolü olabileceği düşünülmektedir.

Hormonlar : Prostatın kendisi bir endokrin gland olmamakla beraber, embriyolojik gelişimi dahil hayatın her döneminde hormonlara hassastır. Prostatik hücre proliferasyonu ve gelişiminde en önemli ve etkin olan hormonlar androjenlerdir. Huggins ve Hodges'in 1941 yılında metastatik prostat kanserli hastalarda orşiektomi ve östrojen kullanımının kanseri ve metastazları geriletmesini hatta geçici olarak yok etmesini göstermesinden beri, prostat kanseri ile androjen-östrojenlerin ilişkisi bilinmektedir [21]. Dolaşımdaki androjenler normal prostat gelişiminde etkin oldukları gibi, BPH ve prostat kanserinde de etkilidirler. Karsinogenezisteki rolleri tam olarak bilinmemekle beraber malign transformasyon oluştuktan sonra hücre aktivasyonu ve bölünmesinde önemli role sahip oldukları düşünülmektedir.

2. Klinik Semptom ve Bulgular

İdrar projeksiyonunda azalma, pollaküri, dizuri ve idrar retansiyonu gibi prostatizm semptomlarıyla beraber kemik ağrıları en önemli bulgulardır. Fakat prostat kanseri için spesifik değildir. Mesane boynunun fonksiyonel yada mekanik obstrüksiyonuna bağlı olarak acil işeme (urgency), idrarı tam boşaltamama hissi ve nokturi gibi semptomlar ortaya çıkar. Kanser prostatik üretra ve trigona invazyonu sonucu hastaların %15 'inden azında hematüri gelişir ve hemospermi nadir olarak görülür [22]. Prostat ile rektum arasındaki Denonvillier's fasyası sağlam bir bariyer olmakla beraber, ileri evrede rektumun invazyonu ile konstipasyon, abdominal ağrı, rektal kanama, diyare ve rektal ağrı görülebilir. Korpus kavernoza invazyon ile priapismus gelişebilir. Tümörün trigon ve daha yukarı yayılımı ile üreter alt uçlarına invazyonu sonucunda oligüri, anüri, üremi, ödem, sıvı retansiyonu ve elektrolit

imbalansı gibi böbrek yetmezliği semptomları verir. Sırtta ve kalçada devamlı kemik ağrıları veya siyataljik ağrılar kemik metastazlarına bağlı olabilir.

3. Tanı

Parmakla rektal muayene (PRM) : Prostatta endurasyon, nodül, yüzey düzensizliği, prostat sınırlarının belirsizliği, asimetri, fiksasyon, lateral loblar arasındaki sulkusun durumu incelenmelidir. PRM’ de anormallik bulunan hastalardan %39-50’ sinde kanser tespit edilmekle beraber, pozitif prediktif değeri çok tartışmalıdır. Prostatın PRM’si normal olanlarda bu değer %2 iken, çok belirgin endurasyonu olanlarda %83’ e çıkmaktadır.

Prostat Spesifik Antijen (PSA): Prostatın duktal hücrelerinin sitoplazmasından salgılanan serin proteaz yapısında bir glikoproteindir. Seminal plazmanın likefaksiyonundan sorumludur. PSA serumda; serbest, alfa 2 makroglobuline ve alfa antikomotripsine bağlı olmak üzere 3 ayrı moleküler formda bulunmaktadır[23]. Prostat kanserinin çoğunda serum PSA miktarı yükselmekle beraber, organa sınırlı olanların %20-25’ inde, 4ng/ml’ nin altında seyreder, BPH’lı hastaların takriben %25’ inde ise 4ng/ml’ nin üzerindedir [20].

4. Görüntüleme Yöntemleri

İntravenöz Pyelografi (İVP): Böbrek fonksiyonları, mesanenin durumu, rezidüel idrar, kanserin trigon ve üreter alt uçlarına invazyonu ile oluşan üreterohidronefrozun durumunu göstermede yararlıdır. İlk evrelerde BPH’ne benzer bulgular tespit edilir.

Transrektal Ultrasonografi (TRUSG) ve Transrektal İğne Biyopsisi (TRİB): Prostat kanserlerinin %60’ ı hipoekoik, %30’ i izoekoik ve %10’u hiperekoik olabilir [20]. PSA seviyesi yüksek olan ve/veya DRM’ de patoloji tespit edilenlerde transrektal ultrason eşliğinde prostat iğne biyopsisi yapılarak prostat kanseri tanısı konulmaktadır.

Bilgisayarlı Tomografi (BT) : Serum PSA, preoperatif GS ve TRUSG yapıldıktan sonra lenf bezlerinin değerlendirilmesinde uygulanır. Ekstraprostatik yayılımının çoğu mikroskopik olduğundan BT ile tespiti mümkün değildir. Pelvik lenf nodüllerini göstermedeki etkinliği %80-90 gibi çok yüksek orandadır [22]. PSA' nın 10-20 ng/ml' nin üzerindeki her vakada ilk değerlendirmede yapılmalıdır. Küratif cerrahi tedavi sonrası lokal rekürrensi göstermede değerlidir.

Magnetik Rezonans Görüntüleme (MRG) : Lenfadenopatiler ve bölgesel anatomiyi göstermede çok başarılıdır. Ayrıca, endorektal "coil" lerin kullanılmasıyla prostat kanserinin büyüklüğü ve prostat dışına invazyonu daha iyi belirlenebilir. Bu yöntemle 5 mm' den büyük kanserleri teşhis etme şansı %60- 70 civarındadır [20]. Ayrıca, kemik sintigrafilerindeki şüpheli metastatik lezyonların ayırımında da oldukça yararlıdır.

Kemik Sintigrafisi : Radionüklid kemik sintigrafisi, methylene disphosphanate ile işaretlenmiş technetium kullanılarak yapılır. İlk değerlendirmede PSA değeri 10-20 ng/ml arasındaki hastalarda kemik metastazı şansı %2'dir. Genellikle kemik sintigrafisi PSA' nın 20 ng/ml değerinin üzerinde olduğu olgularda yapılmaktadır.

5. Patoloji

Prostat kanserlerinin %70' i prostatın periferik, %15-20' si santral, % 10-15' i transizyonel zondan gelişmektedir. Prostat kanserlerinin %98' i adenokarsinomadır ve çoğu multisentriktir. Prostat kanserlerinde birçok derecelendirme yöntemi vardır. Tümü glandüler farklılaşma, hücresel atipi ve hücre çekirdeğindeki anormalliklere dayanır. En yaygın kullanılanı Gleason derecelendirme sistemidir. Bu sisteme göre tümörde mikroskopik olarak küçük büyütmede (x40) en çok görülen dizilim şekli ve differansiyasyon derecesine göre 1 ile 5 arasında bir değer alır. Bundan sonra mikroskopi de ikinci en çok görülen dizilim şekli de aynı şekilde değerlendirilir. GS bu iki değerlerin toplanması ile ortaya çıkmaktadır (ör. 3+2=5, 4+4=8 vb.) ve 2-10

arasında bir değere ulaşır. GS ne kadar düşük ise tümör o kadar iyi differansiyedir. GS'ye göre, 2-4 iyi, 5-7 orta ve 8-10 kötü derecede diferansiye kanseri gösterir. İyi diferansiye prostat adenokarsinomları; sırt sırta vermiş, aralarında çok az stroma bulunan, glandüler hücreler çevresinde normal miyoepitelyal hücre tabakasının kaybolduğu küçük bez gruplarıdır. Minimal derecede bir nükleer anaplazi vardır. Orta derecede diferansiye kanserlerde; glandüler elemanlar daha düzensiz ve nükleer anaplazi daha belirgindir. Çevredeki normal glandüler dokular da infiltredir. Araya hücre bantlarının girdiği anormal glandüler tabakalar kalburumsu bir görünüm oluşturabilir. Kötü diferansiye kanserlerde; tam olarak glandüler formasyon oluşmamıştır. İnfiltratif bireysel hücre bantları veya solid kitleleri vardır. Nükleer anaplazi belirgindir.

6. Klinik ve Patolojik Evreleme

Prostat kanserlerinin evrelendirmesinde yaygın olarak TNM klasifikasyonu (Tablo 1) kullanılmaktadır [24]. Klinik evrelemeden kastedilen hastalığın yaygınlığının PRM, serum tümör belirleyicileri, tümör derecesi ve görüntüleme yöntemleri kullanarak belirlemeye çalışılmasıdır. TNM sistemi ile evrelemede radyolojik değerlendirmeler büyük önem taşımaktadır. Prostat bezi içerisinde kanser dokusu tespit edildikten sonra tümörün evrelendirilebilmesi için aşağıda belirtilen anatomik yapılar değerlendirilmelidir.

1. Prostat bezi içerisindeki kanser dokusunun boyutlarının ve hacminin tayini
2. Periprostatik invazyonun değerlendirilmesi
 - a. Prostat kapsülü
 - b. Ejekulatuar kanallar
 - c. Nörovasküler demetler
 - d. Seminal veziküller
 - e. Periprostatik yağ dokusu
 - f. Periprostatik, iliak ve paraaortik lenf nodları
 - g. İskelet ve diğer sistemlerdeki metastazlar

Tablo 1. TNM Evreleme Sistemi-2002

T – Primer tümör	
Tx	Primer tümörün değerlendirilemediği olgular
T0	Primer tümöre ait bulgunun olmadığı olgular
T1	Palpasyon yada görüntüleme yöntemleriyle klinik olarak saptanamayan tümör
T1a	Rezeke edilen dokunun %5 veya daha azında insidental histolojik bulgu olarak saptanan tümör
T1b	Rezeke edilen dokunun %5'inden fazlasında insidental histolojik bulgu olarak saptanan tümör
T1c	İğne biyopside saptanan tümör (örn.yüksek PSA değeri nedeniyle)
T2	Prostata sınırlı tümör ¹
T2a	Bir lobun yarısını yada daha azını tutan tümör
T2b	Bir lobun yarısından fazlasını tutan tümör, ancak lobların her ikisinde değil
T2c	Her iki lobu tutan tümör
T3	Prostat kapsülünün dışına yayılan tümör ²
T3a	Extrakapsüler yayılım (unilateral veya bilateral)
T3b	Seminal vezikül tutulumu
T4	Fikse tümör yada seminal vezikül dışında komşu yapılara invazyon gösteren tümör (mesane boynu, eksternal sfinkter, rektum, levator kaslar ve/veya pelvik duvar tutulumu)
N – Bölgesel Lenf Nodülleri³	
NX	Bölgesel lenf nodüllerinin değerlendirilemediği olgular
N0	Bölgesel lenf nodülü metastazı bulunmayan olgular
N1	Bölgesel lenf nodülü metastazı
M – Uzak Metastaz⁴	
MX	Uzak metastazın değerlendirilemediği olgular
M0	Uzak metastaz olmayan olgular
M1	Uzak metastaz
M1a	Bölgesel olmayan lenf nodülü
M1b	Kemik
M1c	Diğer bölgeler

¹ İğne biyopsisi ile tek veya her iki lobda saptanan tümörler palpasyon veya görüntüleme yöntemleri ile saptanamıyorsa T1c olarak sınıflandırılır.

² Prostat apeksi veya prostat kapsülünü aşmayan invazyon T3 olarak sınıflandırılmaz, ancak T2'dir.

³ Metastaz boyutu 0.2 cm'den büyük değilse pN1mi olarak sınıflandırılır.

⁴ Birden fazla bölgede metastaz mevcutsa en ileri kategori kullanılmalıdır.

Prostat kanserinin patolojik evrelendirmesinde de yine TNM sisteminden yararlanılmaktadır. pT, primer tümör rezeksiyonunu yada en yüksek pT kategorisini verebilecek kadar yeterli bir biyopsiyi, pN lenf nodu metastazlarını değerlendirmek için yeterli olabilecek lenf nodu diseksiyonunu ve pM ise uzak lezyonların mikroskopik incelemesini gerektirir. Patolojik evreleme tümör volümü, cerrahi sınır, kapsül yayılım, seminal vezikül tutulumu ve lenf nodu tutulumunu gösterdiğinden prognozu tayin etmede klinik evrelemeye göre çok daha güvenilirdir.

7. Tedavi

Prostat kanserinin; organa sınırlı, lokal ileri evre, metastatik ve antiandrojen (hormonal) tedaviye dirençli hastalık evreleri olmak üzere birbirini izleyen dört ana hastalık evresi bulunmaktadır. Prostat kanserinin tedavisi bu evrelere göre farklılıklar gösterir. Hastalık seyrine göre tedavi yöntemleri aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Prostat Kanseri Tedavi***Organa sınırlı prostat kanserinde tedavi seçenekleri***

Bekle gör
 Radyoterapi
 Eksternal
 Konformal
 İnterstisiyal (brakiterapi)
 Radikal prostatektomi
 Minimal invazif yaklaşımlar
 Kryoterapi
 HIFU (High Intensity Focused Ultrasound)

Lokal ileri evre prostat kanserinde tedavi seçenekleri

Bekle gör
 Cerrahi + Hormonal tedavi
 Radyasyon tedavisini + Hormonal tedavi
 Sadece hormonal tedavi
 Aralıklı hormonal tedavi

} Kombine tedavi yaklaşımları

Metastatik prostat kanserinde tedavi seçenekleri

Androjen baskılama
 Orşiektomi
 LHRH analogları
 Maksimal androjen blokajı (LHRH analogları + Antiandrojenler)

Hormonal tedaviye dirençli prostat kanserinde tedavi seçenekleri

Sitotoksik kemoterapi
 Hormonal veya kemohormonal tedavi

8. Radikal Prostatektomi

Klinik olarak prostata sınırlı (cT₁₋₂) prostat kanserlerinin küratif cerrahi tedavi seçeneğidir. Perineal prostatektomi, prostat adenokarsinomunun tedavisinde kullanılan en eski cerrahi teknik olmakla birlikte, retropubik prostatektomi ve laparoskopik prostatektomi daha fazla uygulanan yöntemlerdir. Radikal retropubik prostatektomi (RRP) ilk kez Memmelaar tarafından 1949 yılında uygulanmıştır [25]. Derin ven kompleksi anatomisinin ve cerrahi sınırlarının tanımlanması, kavernoza sinirler ve pelvik plexusun lokalizasyonunun belirlenmesi, eksternal üriner sfinkter ve innervasyonunun inkontinans üzerine olan etkilerinin gösterilmesi gibi gelişmeler sayesinde RRP'nin post-operatif komplikasyonları daha kabul edilebilir hale gelmiştir.

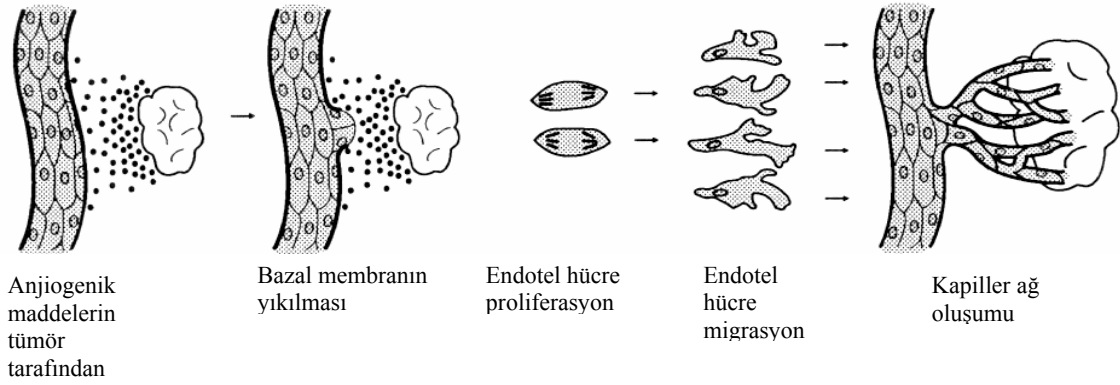
Son yıllarda, erken tanı ve evrelendirmedeki radyolojik gelişmelere rağmen, lokalize prostat kanseri nedeniyle RRP uygulanan hastaların %30-45'inde patolojik olarak ekstraprostatik yayılım(pT₃) gözlenmektedir [26, 27]. RRP sonrasında nüks açısından hastalığın takibinde önemli yöntem hiç kuşkusuz rutin PSA takibidir. RRP sonrası PSA değerinin 3-6 hafta içinde saptanamaz düzeye inmiş olması gerekir[28]. Birçok merkez RRP sonrası 3. ayda ilk PSA ölçümünü önermekteyse de PSA düzeyini ölçme sıklığı konusunda genel bir görüş birliği bulunmamaktadır. RRP sonrası hayat boyu PSA izlemi de tartışmalıdır. RRP sonrası PSA yükselmesinin %19 olguda 6-9 yıl arasında ve %4 olguda ise onuncu yıldan sonra olduğu bildirilmiştir[29]. Bu veriler, PSA izleminin uzun hastalıksız dönemden sonra bile devam etmesinin gerektiğini ortaya koymaktadır. Saptanabilir PSA değeri için genelde kabul gören eşik değer 0.2ng/ml'dir [30]. RRP sonrası saptanabilir düzeyde PSA değeri genelde güçlü bir şekilde rezidü veya nüks hastalığı işaret etmektedir. Preoperatif PSA değerinin yanısıra cerrahi sonrası PSA yükselmesinin zamanı ve paterni hastalıksız yaşam süresi ve nüks şeklini gösterebilmektedir.

9. PROGNOTİK FAKTÖRLER

Prostat kanserinin tedavisi konusundaki yaklaşımlarda tümörün farklı davranışlar sergilemesi nedeniyle zorlanılmaktadır. Hastalığın tedavisinin en uygun şekilde yapılabilmesi için prognostik faktörlerin iyi bilinmesi gerekmektedir. En güçlü prognostik faktörler TNM evrelemesi, Gleason histolojik evreleme sistemi ve serum total PSA düzeyidir. Bununla beraber klinik, biyolojik, patolojik ve moleküler daha bir çok prognostik faktör de vardır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda özellikle DNA ploidisinin, mikrodamar yoğunluğunun (MDY), Ki-67'nin ve p53'ün RRP sonrası progresyonun ve süresinin belirlenmesinde prognostik belirteçler olabileceği belirtilmektedir [11-17]. Bu faktörlerin progresyona olan katkılarını değerlendirebilmek için tümör anjiogenezinin iyi bilinmesi gerekmektedir.

9.1 Tümör Anjiogenezi

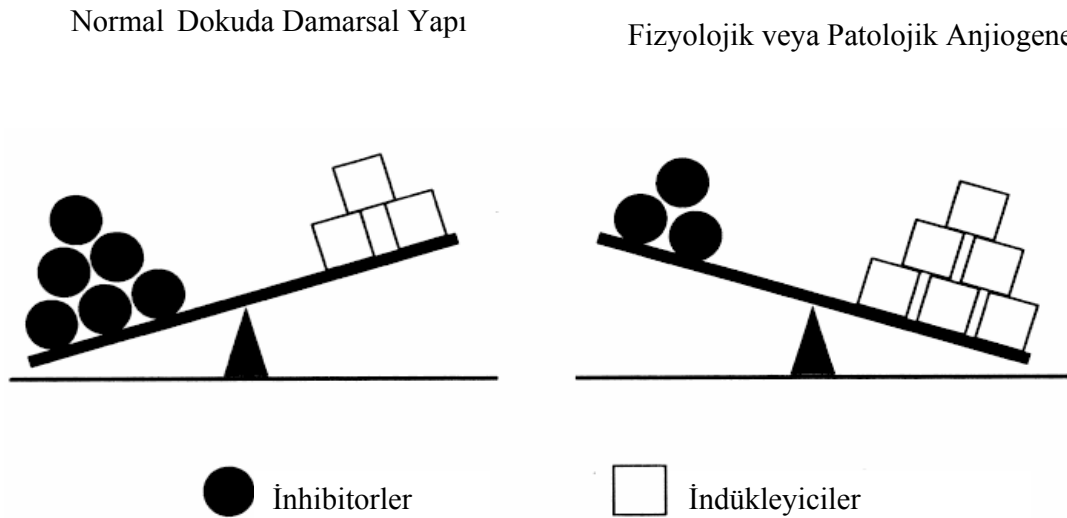
Anjiogenez, büyüme, fertilite ve yara iyileşmesi gibi normal fizyolojik olayların yanısıra diyabetik retinopati, ateroskleroz, kronik enflamasyon, kanser gibi bir çok hastalığın patogenezinde de rol oynamaktadır. Tümörler, direkt olarak anjiogenetik maddeleri salgılayabilecekleri gibi ekstrasellüler matriks içerisinde depolanmış anjiogenik bileşiklerin salınımını veya aktive edilmesini sağlayarak anjiogenezi stimüle eder [31-34]. Ayrıca tümörle ilişkili damarlanma, tümörün infiltre ettiği lenfosit, makrofaj veya mast hücreleri tarafından sekrete edilen maddelerce de sağlanabilir [31, 33, 35]. Bu olaylar, komşu epitelyal hücrenin aktivasyonu ve otonomik davranış paterni sergilemesini sağlayarak damarlanmanın artmasına sebep olur. Endotel hücrelerin aktivasyonu, bazal membran ve onu çevreleyen ekstrasellüler matriksin proteolizisine, endotelyal hücre proliferasyonuna ve migrasyonuna, anastomoz ve kan akımının sağlanabilmesi için gerekli olan tübül oluşumuna neden olmaktadır (Şekil 1). Tümörün neden olduğu anjiogenez ile genellikle kıvrıntılı, spiral şekilli ve küçük çaplı damarlar oluşmaktadır.



Şekil 1. Tümör Anjiogenezinin Fizyopatolojisi

Anjiogenezin Regülasyonu

Anjiogenez, yara iyileşmesi ve kadın üreme siklusu (ovulasyon, menstruasyon, plasenta oluşumu, laktasyon) haricinde nadiren görülmektedir [31, 33, 34]. İnsan vücudundaki tüm endotel hücrelerinin ancak % 0.01'inin herhangi bir zamanda bölünüyor olduğu tahmin edilmektedir. Bu da hücre döngüsünün santral sinir sistemi dışında ne kadar yavaş olduğunu göstermektedir [31]. İn vitro veya in vivo olarak test edildiğinde sağlıklı bireylerin bir çok hücresinin anjiogenik olmadığı görülmektedir. Anjiogenezi baskılayan bileşiklerin salgılanması ile anjiogenik indükleyicileri nötralize edilir ve düşük seviyede kalmaları sağlanır [31, 33]. Malign tümörlerin çevresinde bu dengenin neovaskülarizasyona doğru yer değiştirmesi, indükleyicilerin sekresyonlarında artış ve inhibitör yapımında azalma ile sonuçlanır (Şekil 2).



Şekil 2. Anjiogenik Fenotipin Belirlenmesinde Anjiogenezin İndükleyicileri ve İnhibitörleri Arasındaki Denge

Anjiogenezi indükleyicileri

Angiogenezi indükleyen maddelerin büyük bir kısmı tanımlanmıştır [33, 34]. Bu bileşiklerin bir çoğu tümör veya infiltre ettiği immün hücreler tarafından salınır ve endotel hücre aktivasyonuna neden olur. Vasküler endotel hücre büyüme faktörü gibi indükleyiciler, endotel hücresindeki spesifik reseptörüne bağlanarak yeni damar oluşumuna yol açan olayları başlatırken, hücre dışı matrikste bağlı ve inaktive formu ile depolanmış ve tümör tarafından salınan fibroblast büyüme faktörü gibi anjiogenik maddeler, proteolitik enzimlerin salınımına neden olurlar [32]. Ayrıca, bazal membran proteolizi sonucu oluşan hiyaluronik asit kökenli oligosakkarit parçaları da anjiogeniktir. Bu indükleyicilerin anjiogenezi dışında bir çok fizyolojik fonksiyonları da bulunmaktadır. Prostat kanserinde tanımlanmış anjiogenik büyüme faktörleri ve sitokinleri Tablo 3’de belirtilmektedir.

Tablo 3. Prostat Kanserinde Tanımlanmış Anjiogenik Büyüme Faktörleri ve Sitokinleri

	Örnekler
Prostat karsinomu	TGF- α ve β
	Fibroblast büyüme faktörü
	PDGF
	Epidermal büyüme faktörü
	Tümör nekrosis faktörü- α

TGF: Transforming büyüme faktörü, *PDGF*: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü

Anjiogenezi inhibitörleri

İnhibitörler, tümör hücrelerinin anjiogenezi indükleyicilerini salgılamasını önleyebileceği gibi, suramin gibi büyüme faktörlerinin bağlanmasını engelleyerek indükleyicilerin aktivitelerini nötralize edebilir. Ayrıca, trombospondin ve anjiostatin gibi bazı inhibitörler, endotel hücresine bağlanarak hücrenin bir çok anjiogenik faktöre karşı duyarlılığını azaltabilmektedir. Normal fizyolojide regülasyon rol oynayan bir çok endojen inhibitör bulunmaktadır (Tablo 4).

Tablo 4. Normal Fizyolojide Regulator Rol Oynayan Endojen İnhibitörler

Anjiogenez inhibitörleri
Trombospondin-1
Anjiostatin
Retinoidler
Vit D3 analogları
Laminin
Fibronektin
Prolaktin
Plazminojen
Kollajen XVIII

Anjiogenezin genetik kontrolü

Tümörler, onkogenlerin aktivasyonu yada tümör supresör genlerin inaktivasyonu gibi normal hücrelerdeki bir takım değişiklikler sonucunda oluşmaktadır. Özellikle tümör süpressör genlerden p53, retinoblastom, p27 ve von Hippel-Lindau genlerinin ürolojik malignitelerde önemli rol oynadıkları yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu genlerde oluşan mutasyonlar, trombospondin-1' in salınımında ani bir azalma ve vasküler endotelyal büyüme faktörü sekresyonunda artışa sebep olarak anjiogenik bir fenotip oluşturmaktadır [36-38]. Bununla birlikte onkogen aktivasyonu ile anjiogenez indükleyicilerinin veya matriks yıkım enzimleri yapımının artırılması, kanser hücrelerindeki anjiogenik özelliklere etki edebilir. Örneğin; bir çok tümörde ras onkogeni vasküler endotelyal büyüme faktörünün potent stimülatörüdür ve neovaskülarizasyona katkıda bulunmaktadır [39]. Pten/Akt, her-2/neu, myc ve bcl-2 prostat kanseri patogenezinde rol oynayan onkogenlerdendir.

p53 geni

p53 geni farklı organ tümörlerinde en sık mutasyonu saptanan gen olması nedeniyle, son yıllarda çalışmaların odak noktasını oluşturmaktadır [40-42]. 17. kromozomun kısa kolunda yer alan p53 geninin kodlandığı normal ("wild-type") p53 proteini, hücre siklusunda hücrenin G1 fazından S fazına geçişini önler. Hücrede

DNA hasarı oluştuğu zaman p53 protein yapımının artışıyla birlikte DNA tamirine olanak sağlamaya yönelik hücre siklüs duraklaması meydana gelmektedir. p53 gen mutasyon ve/veya delesyonu sonucu gelişen hücre siklüsündeki normal regülasyonun bozulmasının, çok sayıda tümörün patogenezinde rol oynadığı bilinmektedir [15, 41, 43-45]. Prostat kanseri olgularında yapılan çalışmalarda p53 gen mutasyonunun erken evre prostat kanserlerinde sık olmadığı, ancak p53 tümör baskılayıcı gen fonksiyon kaybının hastalığın progresyonunda önemli bir aşama olduğu belirtilmektedir [16, 17, 46, 47].

Ki-67

Çođalan hücrelerde görülen bir çekirdek proteindir. Esas olarak G₁, S, M ve G₂ fazında görülür. G₀ fazında ise yoktur. Hücre proliferasyonunun morfolojik özelliklerini iyi bir şekilde gösteren protein olup, mitotik index ve tümör derecelendirilmesinde sıklıkla kullanılır. Proliferasyon oranı ile p53 geni anomalileri arasında aynı yönde güçlü bir ilişki bulunduğu ve bunun yanında meme, prostat, kolon, akciğer, karaciğer ve gastrik karsinomlarda, bazı lenfoma ve sarkomalarda olduğu gibi artmış proliferasyon olduğu belirtilmektedir [17, 48]. Bu vakalarda Ki67 kullanılmak suretiyle yapılan immünohistokimyasal yöntemlerle kolayca tanı konulabilmekte ve prognoz hakkında fikir sahibi olunabilmektedir.

Mikrodamar yoğunluğu (MDY)

Anjiyogenez, tümör büyümesi ve metastazı için temel oluşturmaktadır ve bazı kanserlerde tümörün invazyon özelliği için belirteç olarak önerilmektedir [49]. Histolojik kesitlerin endotelial antijenler kullanılarak boyanması ile elde edilen MDY anjiogenezin sayısal ölçümüdür. Yüksek intratümöral MDY'ye sahip primer bir tümörde uzak metastaz gelişme olasılığı çok muhtemeldir. İntratümöral yeni damar oluşumu meme, akciğer, kolon, endometrium, mesane ve prostat gibi bazı kanser tiplerinde anlamlı prognostik faktör olarak görünmektedir [49, 50].

Anjiyogenezin değerlendirilmesinde von Willebrand faktör (FVIII), CD 24, CD 31, CD 34, CD 105 gibi farklı antijenler kullanılmaktadır.

von Willebrand faktör

Endotel hücreleri tarafından salınan bir proteindir ve Faktör 8 olarak da bilinir. Fizyolojik olarak trombositlerin hasarlı damar duvarına tutunmasını kolaylaştırır. Hem normal hem de tümöral dokuda boyanabilme özelliği nedeniyle panendotelyal belirteç olarak bilinir. Megakaryosit ve trombositlerle çapraz reaksiyon verdiği bilinmektedir.

CD31

Endotel hücrelerinde 110 kDa, trombositlerde ise 130 kDa ağırlığında bulunan bir glikoproteindir. Hem normal hem de kanserli dokudaki endotel hücreleri ile reaksiyona girer. Ancak, frozen inceleme ve kan örneklerinde, CD31 antikorları megakaryositler, trombositler ve nadiren plasma hücreleri ile de reaksiyona girebilir. Angiogenesis derecesinin belirlenebilmesi için CD31 antikoruna immunohistokimyasal olarak boyanabilir.

CD105

Disülfite bağlı hücre membran glikoproteindir. İki izoformu bulunmaktadır. CD105 geni 9. kromozomun kısa kolunda yer almaktadır. TGF- β reseptör kompleksi parçalarındandır. Proliferasyon, diferansiyasyon ve migrasyon gibi farklı hücre fonksiyonlarının regülasyonundan sorumlu ve anjiogenezi yöneten sitokinlerden biridir [51]. CD105, solid kanserlerde özellikle tümörün hem çevresindeki hem de içindeki kan damarlarının endotel hücrelerinden veya tümör stromasından salgılanmaktadır. Bununla birlikte, prostat ve meme kanserinde küçük ve immatür kan damarlarının anti-CD105 antikorları ile belirgin derecede boyandığı gösterilmiştir [52, 53]. Ayrıca, metastatik prostat kanser hücrelerinde salgınımının arttığına dair bilgiler de mevcuttur. Bu nedenle tümör MDY' sinin CD105 ile immunohistokimyasal boyamada artmış olarak tespiti, kötü prognoz göstergelerinden biri olarak kabul edilmektedir [53].

GEREÇ VE YÖNTEMLER

1996-2004 yılları arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim dalında prostat kanseri nedeniyle neoadjuvant ve/veya adjuvant ek bir tedavi verilmeden sadece RRP uygulanan hastalardan klinik ve patolojik verilerine ulaşılabilen 69 hastanın patoloji örnekleri retrospektif olarak değerlendirildi. Tüm hastaların yaş, tanı sırasındaki TPSA, sPSA, s/T PSA oranı, PSAD, TZPSAD, prostat hacmi ve klinik evresi gibi RRP öncesi verilerinin yanısıra gleason skoru, patolojik evresi, izlem süresi ve progresyon süresi gibi verileri kaydedildi. Hastaların klinik ve patolojik evrelendirilmesi için TNM evreleme sistemi (1992) kullanıldı[20]. Hastalarda progresyon, ölçülebilen PSA değerinin (nadir PSA) 0.2 ng/ml ve üzerinde saptanması olarak tanımlandı. Hastaların dermografik özellikleri ve tümör karakteristikleri Tablo 5, Tablo 6 ve Şekil 3’ de gösterilmektedir.

İmmünohistokimyasal inceleme

69 hastanın %10’luk formol ile tespit edilen dokularından hazırlanan parafin bloklarından yapılan kesitler hematoksilen-eozin ile boyanarak Gleason derecelendirme sistemine göre değerlendirildi. Bu hastaların patoloji örneklerinde p53, Ki-67 ekspresyonları ve anjiogenezin belirlenmesi için kullanılan MDY (CD31, CD105 ve Faktör VIII ile) immünohistokimyasal yöntemle araştırıldı. Boyamada streptavidin- biotin indirek üçlü metodu kullanıldı. Tümöre ait parafin bloktan 4 mikron kalınlığında kesitler polilizinli camlara alındıktan sonra etüvde deparafinize edildi. Ksilol ve alkolle muamele edildikten sonra endojen peroksidazı bloke etmek için %3 lük hidrojen peroksit kullanıldı. Non-immünprotein bloklama solüsyonunda bekletilen kesitlere daha sonra primer antikor damlatılarak (p53; BP53-12, NovoCastra, Ki-67, Ab-2 Clone MB67 NeoMarkers; CD31/ PECAM Ab-1,NeoMarkers, CD105/Endoglin/TGF-beta1/3 Receptor Ab-2 Clone 105Co2,NeoMarkers, Factor VIII Related antigen Clone F8/86,NeoMarkers) oda sıcaklığında 2 saat bekletildi. Avidin-biotin kompleksi uygulanmasını takiben renk vererek görüntüyü sağlamak amacı ile AEC kullanıldı. Pozitif kontrol olarak p53 için meme karsinomu, CD 105, Faktör VIII ve CD 31 için piyojenik granülom ve Ki-67 için tonsil kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak primer antikor yerine PBS

uygulandı. Tümör kesitlerinde immunohistokimyasal yöntemle değerlendirilen Faktör VIII, CD31, CD105 ile pozitif boyanan damar yapıları, p53 ve Ki-67 ekspresyonları Şekil 4, 5, 6,7 ve 8’de gösterilmiştir.

MDY, Weidner ve ark. [10, 55] tarafından tanımlanan ışık mikroskobu ile sayım metoduna göre hesaplandı. Bu metoda göre, küçük büyütme (x40-x100 büyütme) ile tespit edilen en fazla mikrodamar sayısının bulunduğu tümör alanındaki (hot spot) mikrodamar sayısının x200 büyütmede sayılması ile hesaplandı.

Her olguda p53 ve Ki-67 immünreaktivite yüzdesi 100 hücrede pozitif boyanmış hücre sayısı olarak hesaplandı. p53 nükleer aktivitesi gösteren tümör hücreleri %5’den daha fazla ise pozitif olarak kabul edildi. Nükleer Ki-67 boyanma yüzdesi negatif, %1-10 arası ve %10’dan fazla olarak gruplandırıldı. Gözlem içi farkı ortadan kaldırmak için her bir vaka önceki sonuçlar bilinmeden ikinci kez aynı patolog tarafından değerlendirildi.

İstatistik

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS Windows version 10.0 (SPSS Inc., Chicago,IL) bilgisayar paket programı kullanıldı. Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma ve yüzde (%) olarak sunuldu. Hastalık progresyonuna göre verilerin analizinde Student’s t test ve ki-kare testleri kullanılırken, hastalık progresyonuna etki eden faktörlerin değerlendirilmesi için çok değişkenli cox regresyon analizi ve progresyonsuz sağkalıma etki eden faktörlerin analizi için Kaplan-Meier sağkalım analizi uygulandı. Veriler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi için Pearson ve Spearman korelasyon katsayıları kullanıldı. Anlamlılık düzeyi olarak $p<0.05$ kabul edildi.

Tablo 5. Hastaların Klinik ve Patolojik TNM Evreleme Sistemine Göre Dağılımları

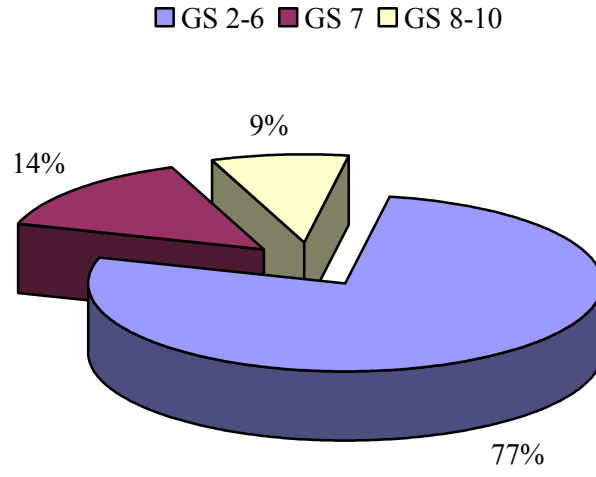
Klinik Evre			Patolojik Evre		
Evre	Hasta Sayısı	Yüzde (%)	Evre	Hasta Sayısı	Yüzde (%)
T1b	1	1,4	T2a	9	13,0
T1c	41	59,4	T2b	13	18,8
T2a	22	31,9	T2c	12	17,4
T2b	2	2,9	T3a	24	34,8
T2c	3	4,3	T3b [*]	7	10,1
			T3c [*]	4	5,8

^{*}TNM-1992 evreleme sistemine göre, pT3b çift taraflı ekstrakapsüler yayılımı; pT3c ise seminal vezikül tutulumunu gösterir.

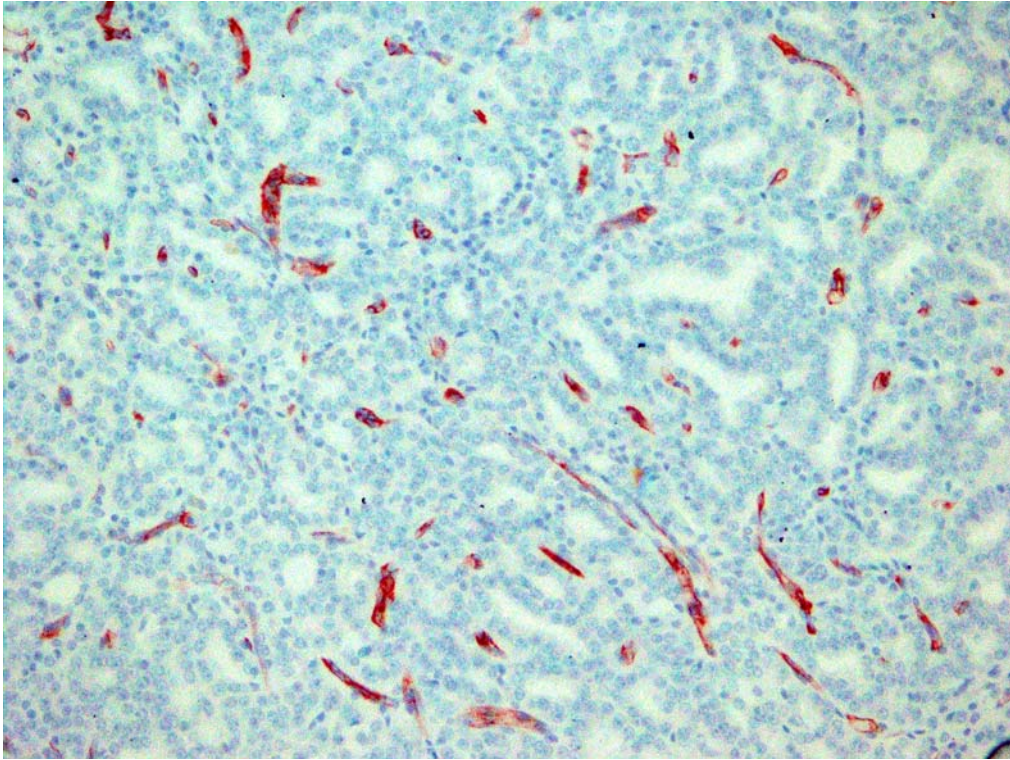
Tablo 6. Hastaların Dermografik Özellikleri

Dermografik Özellikler	Ortalama±SD
Yaş	62,5±7,5
PSA	10,5±12,9
Hacim	40,9±15,9
FPSA	1,5±1,9
s/T PSA (%)	15,2±7,7
TZ Hacim	17,6±9,1
PSAD	0,3±0,3
TZPSAD	0,7±0,7
İzlem Süresi (ay)	37,1±16,7

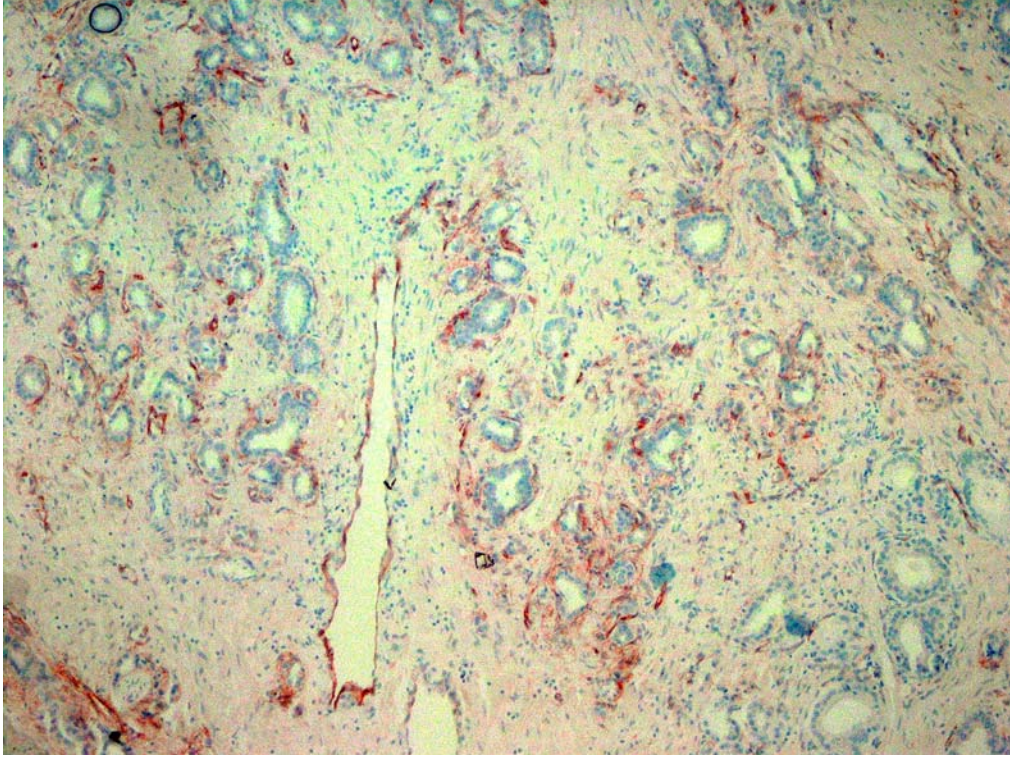
SD: Standart Sapma



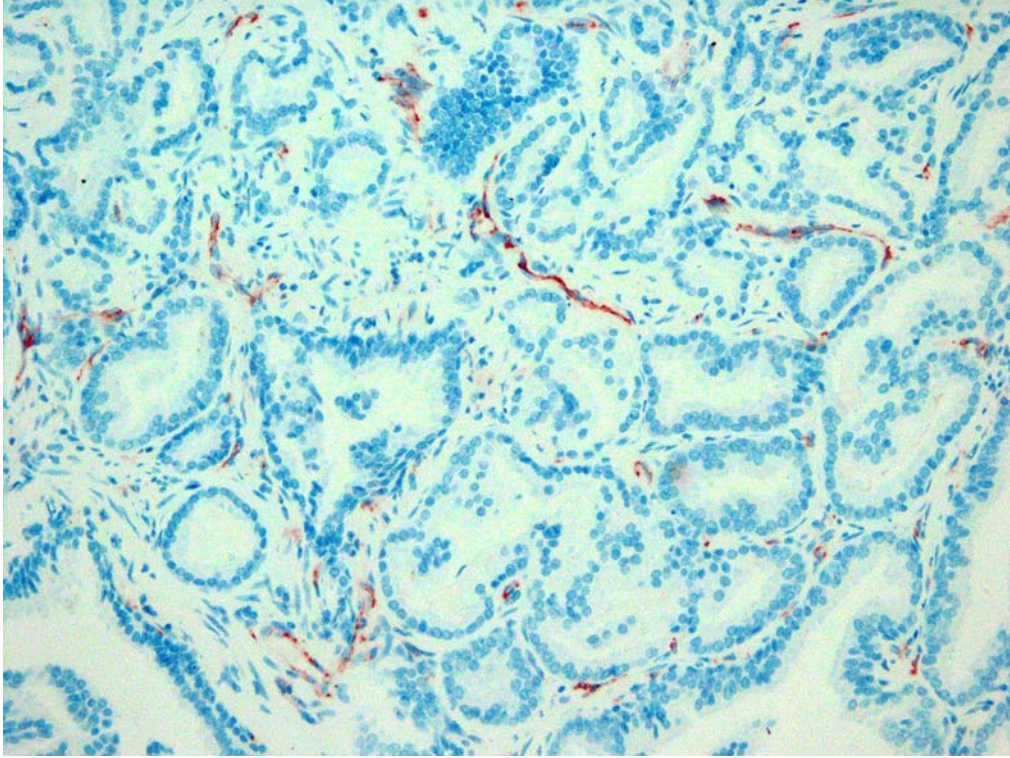
Şekil 3. Hastaların Gleason Skor Dağılımı



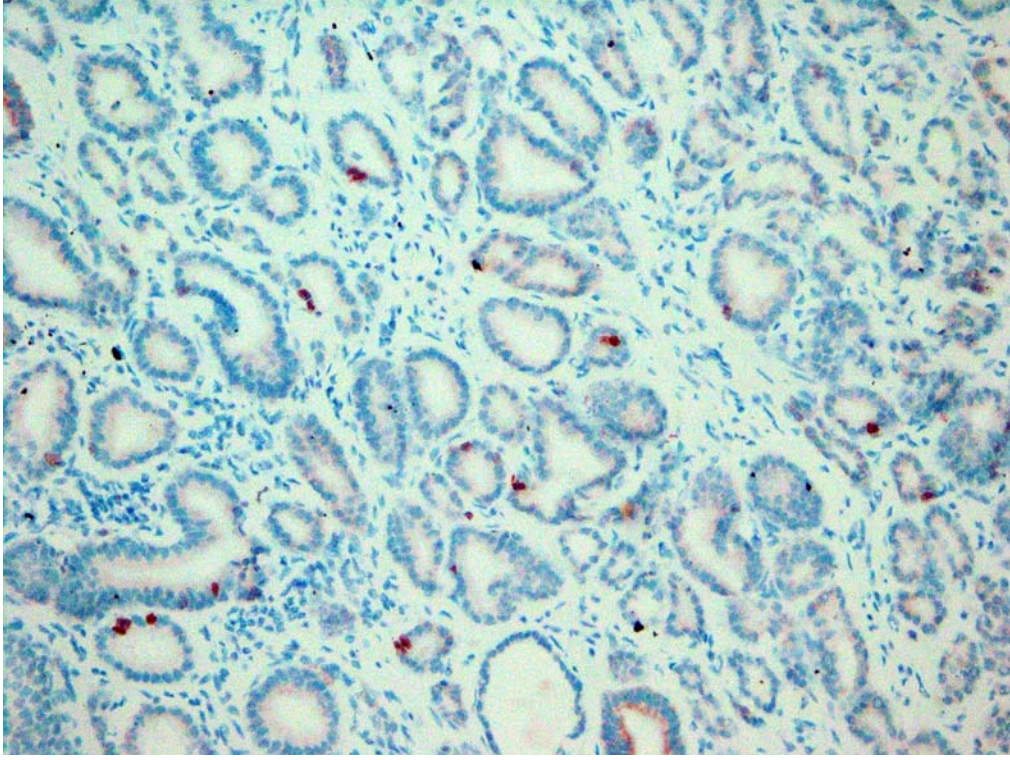
Şekil 4. Prostatik Adenokanserde Faktör VIII ile Pozitif Boyanan Damar Yapıları (AEC x200)



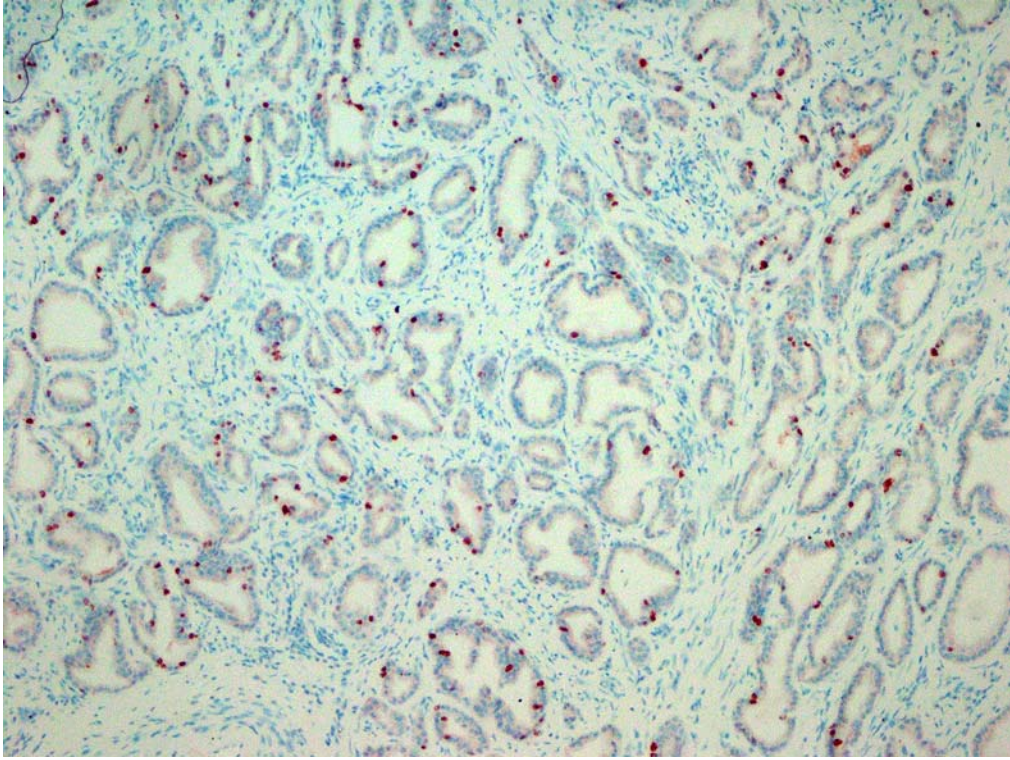
Şekil 5. Prostatik Adenokanserde CD31 ile Pozitif Boyanan Damar Yapıları (AEC x100)



Şekil 6. Prostatik Adenokanserde CD105 ile Pozitif Boyanan Damar Yapıları (AEC x100)



Şekil 7. Prostatik Adenokanser Tümör Hücrelerinde p53 Ekspresyonu (AEC x100)



Şekil 8. Prostatik Adenokanser Tümör Hücrelerinde Ki-67 Ekspresyonu (AEC x100)

BULGULAR

Ortalama takip süreleri 37 (17-106) ay olan 69 hastanın 17 (%24,6)' sinde takipleri sırasında progresyon saptandı. Progresyon gösteren hastalarda ortalama progresyona kadar geçen süre 11 (1-42) aydı. Prostat kanseri prognostik faktörlerinden MDY'nin Faktör VIII, CD31 ve CD105 ile ölçülen ortanca değerleri, Ki67 boyanma yüzdeleri ve p53'ün hastalara göre dağılımları Tablo 7'de görülmektedir.

Progresyon gösteren hastaların patolojik evre dağılımı progresyon göstermeyenlere göre daha ileriydi ($p<0,001$). Progresyon gösteren hastaların, 15 (%88,3)'nin pT3 tümör evresine sahip olduğu ve gleason skorlarına göre 9 (%53)'ünün GS 7 ve üzerinde, geri kalanların ise GS 2-6 olduğu gözlemlendi. Progresyon göstermeyen hastalarla gösterenlerin tüm verileri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı tek parametrenin TZPSAD olduğu saptandı ($p=0.01$). Hastalık progresyonuna göre klinikopatolojik parametreler ve prognostik belirteçlerin karşılaştırılması Tablo 8'de gösterilmiştir.

Faktör VIII, CD31 ve CD105 değerlerinin, Ki-67 boyanma yüzdesi ve p53 protein ekspresyon pozitifliğinin klinik ve patolojik evreye göre dağılımları incelendiğinde evrenin artması ile bu faktörlerin artmadığı görülmektedir ($p>0.05$) (Tablo 9). Ayrıca, MDY değerlerinin ortancalarının alınması ile belirlenen kestirim değerleri, Ki-67 boyanma yüzdesi ve p53 protein ekspresyon pozitifliği karşılaştırıldığında progresyon gösteren hastalar ile göstermeyenler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemektedir (Tablo 10).

Çok değişkenli cox regresyon analizine göre patolojik evre, Gleason skoru ve TZPSAD'nin progresyonsuz sağkalım için bağımsız birer risk faktörü oldukları saptandı (Tablo 11).

Kaplan-Meier analizinde ise, yüksek patolojik evre (pT3 hastalar) ve yüksek gleason skorunun (GS 8-10) hastalarda progresyona kadar geçen süreyi istatistiksel olarak anlamlı derecede kısalttığı gözlemlendi ($p=0.003$, $p<0.001$, sırasıyla) (Şekil 9 ve Şekil 10).

Tablo 7. Hastaların Prognostik Belirteç Değerleri

		Ortanca	Minimum	Maksimum
MDY	FVIII	13	2	42
	CD31	30	10	80
	CD105	18	6	80
Ki67	Boyanma	(-)	%1-10	>%10
	Yüzdesi			
	Hasta Sayısı (%)	10 (14,5)	44 (63,8)	15(21,7)
P53		yok	var	
	Hasta Sayısı (%)	66(95,7)	3(4,3)	

Tablo 8. Hastalık Progresyonuna Göre Klinikopatolojik Parametreler ve MDY Değerlerinin Karşılaştırılması

	<i>Progresyon Göstermeyen Hastalar (n=52) Ort±SD</i>	<i>Progresyon Gösteren Hastalar (n=17) Ort±SD</i>	<i>p değeri</i>
Yaş	62.2 ± 7.3	63.4 ± 8.3	0.58
PSA	9.1 ± 13	14.7 ± 11.8	0.12
fPSA	1.32 ± 1.97	1.85 ± 1.47	0.31
s/T PSA oranı (%)	15.8 ± 8.3	13 ± 5.2	0.19
Total prostat volümü	41.4 ± 15.8	39.5 ± 16.7	0.67
Transizyonel zon volümü	18.1 ± 9.1	16 ± 8.9	0.42
PSAD	0.23 ± 0.31	0.38 ± 0.26	0.09
TZPSAD	0.59 ± 0.67	1.09 ± 0.7	0.01
FVIII	15.3 ± 7.6	17.2 ± 8.1	0.38
CD31	33 ± 15.4	32.1 ± 14.7	0.83
CD105	20.4 ± 14.2	19.8± 17.7	0.90

Tablo 9. Prognostik Belirteçlerin Klinik ve Patolojik Evrelere Göre Dağılımı

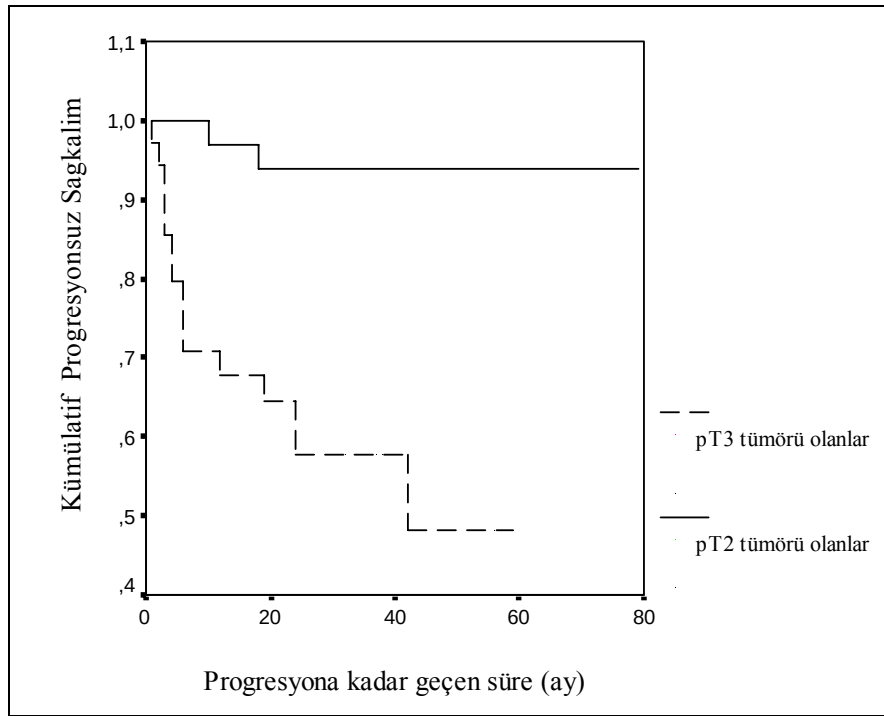
Evre		n (%)	FVIII (MDY) (Ort)	CD31 (MDY) (Ort.)	CD105 (MDY) (Ort.)	Ki67 (+) Hasta Sayısı	p53 (+) Hasta Sayısı
Klinik Evre (TNM-1992)	T1b	1 (1,4)	15,0	24	28,0	1	0
	T1c	41 (54,9)	16,7	32,3	18,7	37	1
	T2a	22 (31,9)	14,8	34,4	23,6	18	0
	T2b	2 (2,9)	14,5	24,5	11,0	1	1
	T2c	3 (4,3)	13,0	35	21,0	2	1
Patolojik Evre (TNM-1992)	T2a	9 (13,0)	13,0	24,8	21,8	8	0
	T2b	13 (18,8)	17,3	33,8	15,8	10	0
	T2c	12 (17,4)	14,3	31,4	22,8	10	0
	T3a	24 (34,8)	16,3	35,1	19,5	22	1
	T3b	7 (10,1)	15,4	29,7	16,7	5	2
	T3c	4 (5,8)	17,7	43,5	37,0	4	0

Tablo 10. Hastalık Progresyonuna Göre Prognostik Belirteçlerin Kestirim Değerleri Kullanılarak Karşılaştırılması

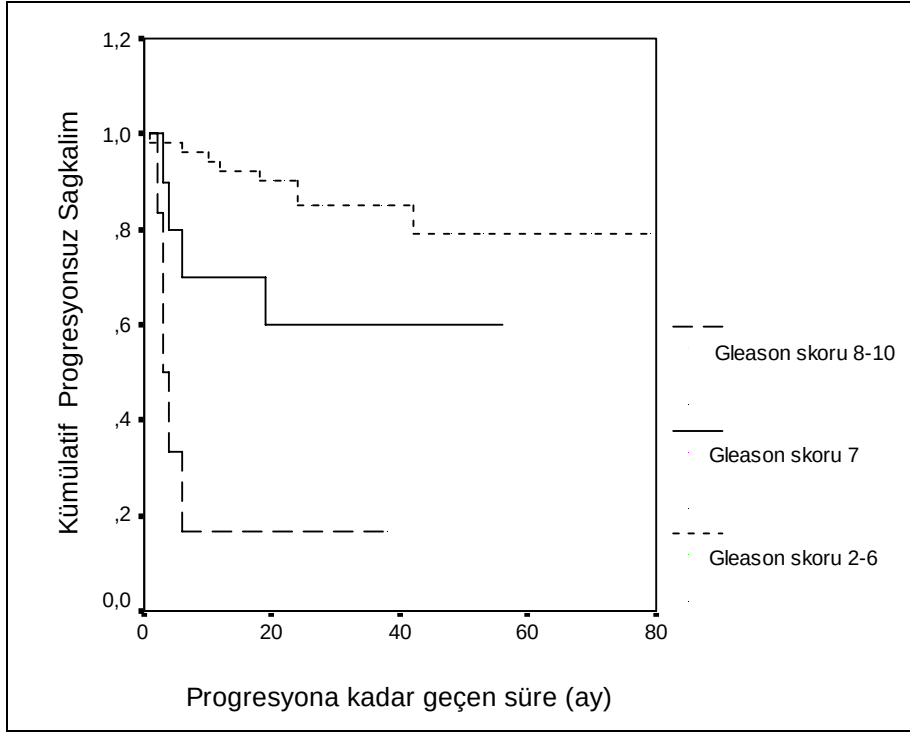
		Progresyon Göstermeyen Hastalar	Progresyon Gösteren Hastalar	p Değeri
Kestirim değerleri		n (%)	n (%)	
FVIII	<13	27 (51.9)	6 (35.3)	0.23
	≥13	25 (48.1)	11 (64.7)	
CD31	<30	25 (48.1)	7 (41.2)	0.62
	≥30	27 (51.9)	10 (58.8)	
CD105	<18	24 (46.2)	10 (58.8)	0.36
	≥18	28 (53.8)	7 (41.2)	
Ki67	Negatif	7 (13.5)	3 (17.6)	0.87
	%1-10	34 (65.4)	10 (58.8)	
	>%10	11 (21.2)	4 (23.5)	
P53	Negatif	50 (96.2)	16 (94.1)	0.72
	Pozitif	2 (3.8)	1 (5.9)	

Tablo 11. Klinikopatolojik Parametrelerin Çok Değişkenli Cox Regresyon Analizi İle Progresyonsuz Sağ Kalıma Olan Etkilerinin Değerlendirilmesi

Klinikopatolojik Parametreler	Progresyonsuz Sağkalım	
	p Değeri	OR (%95 C.I.)
PSA	0.850	0.96 (0.67-1.3)
s/TPSA (%)	0.727	0.96 (0.8-1.2)
PSAD	0.380	0.1 (0.1-6)
TZPSAD	0.01	2.1 (1.2-3.8)
Klinik evre	0.976	1 (0.3-3.5)
Patolojik evre	0.003	11.6 (2.3-59)
Gleason skoru	0.001	6 (2-17.7)
FVIII	0.289	1 (0.95-1.1)
CD31	0.121	0.9 (0.9-1)
CD105	0.390	1 (0.97-1)
Ki67	0.528	0.97 (0.88-1)
P53	0.678	0.86 (0.75-1.4)



Şekil 9. Tümör Patolojik Evrelerine Göre Progresyona Kadar Geçen Sürenin Kaplan Meier Analizi



Şekil 10. Gleason Skorlarına Göre Progresyona Kadar Geçen Sürenin Kaplan Meier Analizi

TARTIŞMA

Son yıllarda, erken tanı ve evrelendirmedeki radyolojik gelişmelere rağmen, lokalize prostat kanseri nedeniyle RRP uygulanan hastaların %30-45'inde patolojik olarak ekstraprostatik yayılım (pT₃) gözlenmektedir [26, 27]. Bu nedenle, kısa sürede progresyon gösterecek yüksek riskli hasta gruplarının önceden belirlenmesi ve uygun takip protokolünün oluşturulması önemlidir. Bu hastalarda cerrahi sonrası izlem politikası ve sonrasında seçilecek sekonder tedavi alternatifleri hala tartışmalıdır. Bu amaçla, Partin ve Kattan nomogramları kullanılmakta olup, sınırlı sayıdaki klinikopatolojik veri ile prostat kanserinin prognozu belirlenmeye çalışılmaktadır [3-5]. Yapılan çalışmalarda, bu prognostik belirteçlere ilave olarak DNA ploidi, MDY, Ki-67 indeksi ve p53 geni mutasyonu gibi tümöre ait histopatolojik özelliklerin de hastalık progresyonunun önceden belirlenmesinde faydalı olabileceği belirtilmektedir [56-60] .

Prostat kanserli dokuda MDY'nin benign dokuya kıyasla daha yüksek olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [61, 62]. Weidner ve ark.[55], prostat kanserli hastalarda progresyona kadar geçen süreye MDY'nin etkisini değerlendirdikleri çalışmalarının çok değişkenli analizinde, MDY'nin progresyonu belirlemede önemli bir faktör olduğu ve Gleason skorunun prognoza ek bir katkı sağlamadığı belirtilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmaların bir kısmında MDY'nin prostat kanseri için potansiyel bir prognostik belirteç olduğu görüşü benimsenmesine rağmen, tümörün heterojenitesi, değerlendirmenin objektif olmaması, farklı antikor ve immunohistokimyasal yöntemlerin kullanılması gibi nedenlere bağlı olarak birçok çalışmada prognozun önceden belirlenmesi için bağımsız bir risk faktörü olmadığı vurgulanmaktadır [63-65].

MDY'nin hesaplanmasında kullanılan antikorlardan hangisinin en iyi prognostik belirteç olduğu konusu tartışmalıdır. Wikström ve ark.[53], TUR- prostatektomi sonrası prostat kanseri saptanan ve dikkatli izlem protokolü uygulanan 72 hastanın tümör dokularında Faktör VIII ve CD105 antikorları ile ölçülen MDY değerlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, Faktör VIII ile boyanan damar sayısını 113 (85-160) saptarken CD105 ile 28 (19-57) olarak bulmuştur. Ayrıca, hastaların sadece

%34'ünde tümör dokularının her iki antikor ile boyandığı gözlenmiştir. Bunun nedeni CD105'in sadece yeni oluşan, perisiti bulunmayan ve anjiogenezi devam eden küçük damarları boyaması ile açıklanabilir. Klinikopatolojik verilerle her iki antikor ile hesaplanan MDY değerleri karşılaştırıldığında, CD 105'in ileri GS, lokal tümör evresi ve tanıda metastaz varlığı ile, Faktör 8'in ise sadece ileri GS ile ilişkili olduğu saptanmıştır. CD 105 ile hesaplanan MDY'nun özellikle GS 5-7 olan hasta grubunda progresyonsuz sağkalım için prognostik bir faktör olduğu vurgulanmıştır.

MDY'nun hesaplanmasında birçok farklı ölçüm metodu kullanılmıştır. Offersen ve ark. [66], metastatik prostat kanseri saptanan 51 hastanın TUR-prostatektomi materyallerinde CD34, Faktör VIII antikorları ve iki farklı ölçüm metodu kullanılarak hesaplanan MDY değerlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, CD 34'ün her iki metodla yapılan ölçümlerinde istatistiksel fark bulunamaz iken, Faktör VIII ile hesaplanan MDY'leri arasında anlamlı fark saptamışlardır. Ayrıca, CD34'ün Faktör VIII'e göre daha iyi bir prognostik belirteç olduğunu belirtmişlerdir. Gettman ve ark. [13, 67] ise, RRP sonrası patolojik evreleri T2 ve T3 olan hasta gruplarının tümör dokularından Faktör VIII antikoruna ile boyanan ve bilgisayar yardımlı dijital görüntülerden yararlanılarak iki farklı metod ile ölçülen MDY değerlerini klinikopatolojik verilerle karşılaştırmışlardır. pT2 hasta grubunda preoperatif PSA değeri, pT3 hasta grubunda ise DNA ploidi, GS, preoperatif PSA değeri ve seminal vezikül tutulumunun progresyon için en iyi belirteçler olduğu vurgulanmıştır. Her iki grup hasta için MDY'nin prognoza etkisi saptanamamıştır. Ayrıca, ölçümler arası güvenilirliğin de oldukça düşük olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [68].

Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda, genelde RRP sonrası progresyonun önceden belirlenmesi için kullanılan bu prognostik belirteçlerin, ilk tanı biyopsi materyalleri de kullanılarak progresyon üzerine olan etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Rogatsch ve ark. [69], RRP yapılan 36 hastanın tanı biyopsileri ve RRP örnek patolojilerinde CD31 antikoruna kullanılarak ölçülen MDY'lerini karşılaştırdıklarında, hem biyopsi hem de prostatektomi materyallerindeki MDY'lerin birbirleri ile uyumlu olduğunu ve bu sayede ilk tanı biyopsisi kullanılarak patolojik evrenin öngörülebileceğini belirtmişlerdir. Bunun dışında, MDY'nin tümör patolojileri dışında daha non-invaziv yöntemlerle belirlenmesini amaçlayan çalışmalar da mevcuttur. Bunlardan en ilgi çekici olanı Schlemmer ve ark. [70], RRP yapılan 28

hastada dinamik kontrast manyetik rezonans (MR) inceleme ile MDY'yi belirlemeyi amaçladıkları ve bu değerleri CD31 ile boyanmış MDY ile karşılaştırdıkları çalışmalarıdır. Bu çalışmanın sonucunda, dinamik kontrast MR inceleme ile mikroskopik ölçümün birbiriyle korele olduğu, MR inceleme ile edinilecek verilerin alınacak biyopsiyi yönlendirebileceği ve hastaların prognozu hakkında bilgi verebileceği vurgulanmaktadır.

Bizim çalışmamızda, progresyon gösteren ve göstermeyen hastaların Faktör VIII, CD31 ve CD105 antikorları kullanılarak hesaplanan MDY değerleri karşılaştırıldığında herhangi bir istatistiksel farkın bulunmadığı gözlemlendi. Bu prognostik belirteçlerin progresyon için bağımsız değişken olarak bulunamamalarının sebebi muhtemelen progresyon gösteren hasta sayımızın azlığı, tümör dokusunun heterojenitesi ve ölçümler arası güvenilirliğin düşük olması ile ilişkili olabilir.

p53 tümör baskılayıcı gen mutasyonları ürolojik kanserler de dahil olmak üzere bir çok kanserde en sık karşılaşılan genetik defektir. Bu mutasyon ve/veya delesyonlar, tek sarmal polimorfizm analizi, DNA dizin analizleri ve çalışmaların büyük bir kısmında uygulanabilirliği nedeni ile sık kullanılan inaktif/mutant p53 proteinlerinin immünohistokimyasal boyaması gibi çok çeşitli yöntemlerle tespit edilebilmektedir. Kuczyk ve ark. [71] yaptıkları bir çalışmada, prostat kanseri nedeni ile RRP yapılan 76 hastada immünohistokimyasal yöntem ile saptanan p53 gen mutasyonunun progresyonsuz sağkalıma olan etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada, p53 boyanma yüzdesi %20'nin üzerinde olan hastalar p53 aşırı ekspresyonu pozitif olarak kabul edilmiş ve p53 aşırı ekspresyonu olan hastaların diğerlerine göre tümör progresyonu nedeni ile daha erken öldükleri saptanmıştır. Tümör histolojik derecesi, tümör evresi ve p53 aşırı ekspresyonu progresyon gösterenler ile göstermeyenler arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmakla beraber çok değişkenli analiz de progresyonsuz sağkalımda sadece p53 aşırı ekspresyonu bağımsız risk faktörü olarak belirtilmektedir. Bauer ve ark. [56] yaptıkları çalışmalarında ise, 159 RRP olgusu p53 ekspresyonu yönünden incelendiğinde tümör patolojik evresi ve GS arttıkça p53 ekspresyonunun arttığını ve yine prognoz için tek bağımsız risk faktörü olduğu belirtilmiştir. p53 tümör baskılayıcı gen mutasyonun diğer genetik moleküler prognostik faktörler ile

karşılaştırıldığı çalışmalar da mevcuttur. Deliveliotis ve ark. [57], RRP uygulanan 84 hastanın patoloji örneklerinde akım sitometrisi ile ölçülen DNA ploidi ve p53 ekspresyonunu değerlendirdikleri çalışmalarında, GS, PSA ve tümör evresi ile birlikte DNA anöploidisi ve p53 ekspresyonunun bağımsız prognostik faktörler olduğu belirtilmektedir. Diğer bir çalışmada ise Her2/neu, bcl-2 onkogenleri ile birlikte p53 tümör baskılayıcı gen mutasyonlarının RRP sonrası progresyonun belirlenmesinde etkileri değerlendirildiğinde, Her2/neu'nin özellikle erken evre prostat kanserinde ekspresyonunun artmış olduğu belirtilmektedir. Bu veri, bu onkogenin lokal karsinogenezin ilk basamaklarına katıldığını düşündürmektedir. Bcl-2 onkogeni ve p53 ekspresyonun düşük evre hastalarda daha az bulunması, kanser gelişiminin erken dönemlerinde sekonder görev yaptıkları anlamına gelmektedir. Sonuç olarak, p53 ekspresyonunun ilerlemiş evre hastalarda saptandığı ve tümör progresyonu için önemli bir risk faktörü olduğu vurgulanmıştır [72]. Bizim çalışmamızda patolojik evreye göre hastaların yaklaşık yarısı ileri evre (pT3) tümöre sahip olmalarına rağmen, sadece 3 (%4.3) hastada p53 protein ekspresyonunun gösterilmesi, hastaların %77'sinin iyi diferansiye (GS 2-6) tümörünün olması ile açıklanabilir.

Ki-67 bir nükleer protein olup hücre döngüsü sırasında oluşmaktadır. Ki-67 antijenine karşı oluşan monoklonal antikorun immünohistokimyasal olarak boyanması bir çok kanserde biyolojik agresiflik ve prognoz ile ilişkili bulunmuştur [73]. Bettencourt ve ark. [74], 180 RRP patolojik örneğinde Ki-67 proliferatif indeksini değerlendirdikleri çalışmalarında, bilinen prognostik belirteçlerden olan patolojik evre ve GS ile beraber Ki-67'nin de progresyonsuz sağkalımda bağımsız risk faktörü olduğu belirtilmektedir. Sebo ve ark. [75] yaptıkları çalışmada ise; GS, preoperatif PSA ve klinik evrenin bulunduğu kanser progresyon modeline perinöral invazyon ve Ki-67 proliferasyon indeksinin de eklenmesi ile prostat kanserinde prognozun daha güvenilir biçimde öngörülebileceği vurgulanmaktadır. Prostat kanserinin doğal seyrinin anlaşılması açısından özellikle TUR-prostatektomi materyalinde kanser saptanan ancak RRP uygulanmayan hastaların patoloji örneklerinin incelendiği bir çalışmada, klinik evre ve GS'nin değil, sadece Ki-67 proliferatif indeksinin progresyona bağlı ölüm için bağımsız bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir [17]. Başka bir çalışmada, Ki-67'in radyoterapi sonrası progresyonun

belirlenmesinde prognostik bir belirteç olduğu, TUR-prostatektomi veya iğne biyopsisi ile tanı konulan hasta gruplarında eşit derecede değerli bir faktör olduğu vurgulanmaktadır [48]. Bizim çalışmamızda, proliferasyon belirteci olarak Ki-67'nin proliferasyon indeksi değil, boyanma yüzdesi kullanılmıştır ve hastalar boyanma yüzdesine göre negatif, %1-10 ve >%10 olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Progresyon gösteren 10 (%58) hastanın ve pT3 tümör evresi olan 22 (%62.9) hastanın Ki-67 boyanma yüzdeleri %1-10 olarak saptanmıştır. Ancak Ki-67'nin prognozun belirlenmesine ek bir katkı sağlamadığı gözlenmiştir.

Son yıllarda bizim çalışmamızda da olduğu gibi prostat kanserinin anjiogenez, proliferasyon ve genetik özelliklerinin beraber değerlendirildiği çalışmalar planlanarak, bu konu da kesin bir yargıya varılmak istenmektedir [61, 63]. Ancak bu çalışmalarda da farklı sonuçlar elde edilmektedir. Bizim çalışmamızda MDY'nin aynı hasta grubunda farklı antikörler kullanılarak boyanması ile Faktör VIII, CD31 ve CD105'in, Ki-67 boyanma yüzdesinin ve p 53 ekspresyonunun prognoz üzerine etkileri karşılaştırılmıştır. Bu prognostik belirteçler birbirleri ile ilişkili olmalarına rağmen tümör evresi ve GS dahil hiçbir klinikopatolojik parametre ile ilişkileri bulunamamıştır. Ayrıca yapılan çok değişkenli cox regresyon analizinde patolojik evre, GS ve TZPSAD'nin progresyonun belirlenmesinde bağımsız risk faktörü olduğu ve progresyonsuz sağkalımı belirleyen faktörlerin patolojik evre ve GS olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, RRP sonrası progresyonun önceden belirlenmesinde Faktör VIII, CD 31 ve CD 105 antikörleri kullanılarak hesaplanan MDY, Ki-67 boyanma yüzdesi ve p53 protein ekspresyonunun patolojik evre ve GS'ye üstünlüklerinin olmadığı görülmüştür.

SONUÇ

Lokalize prostat kanseri nedeniyle RRP uygulanan hastaların %30-45'inde patolojik olarak ekstraprostatik yayılım (pT₃) gözlenmektedir. Bu nedenle, kısa sürede progresyon gösterecek yüksek riskli hasta gruplarının önceden belirlenmesi ve uygun takip protokolünün oluşturulması önemlidir. Bu amaçla, Partin ve Kattan nomogramları kullanılmakta olup, sınırlı sayıdaki klinikopatolojik veri ile prostat kanserinin prognozu belirlenmeye çalışılmaktadır [3-5]. Yapılan çalışmalarda, bu prognostik belirteçlere ilave olarak DNA ploidi, MDY, Ki-67 indeksi ve p53 geni mutasyonu gibi tümöre ait histopatolojik özelliklerin de hastalık progresyonunun önceden belirlenmesinde faydalı olabileceği belirtilmektedir[56-60] . Son yıllarda yapılan çalışmaların bir kısmında MDY'nin prostat kanseri için potansiyel bir prognostik belirteç olduğu görüşü benimsenmesine rağmen, tümörün heterojenitesi, değerlendirmenin objektif olmaması, farklı antikor ve immunohistokimyasal yöntemlerin kullanılması gibi nedenlere bağlı olarak birçok çalışmada prognozun önceden belirlenmesi için bağımsız bir risk faktörü olmadığı vurgulanmaktadır [63-65]. Bizim çalışmamızda da, progresyon gösteren ve göstermeyen hastaların Faktör 8, CD31 ve CD 105 antikorları kullanılarak hesaplanan MDY değerleri karşılaştırıldığında herhangi bir istatistiksel farkın bulunmadığı gözlemlendi.

Son yıllarda bizim çalışmamızda da olduğu gibi prostat kanserinin anjiogenez, proliferasyon ve genetik özelliklerinin beraber değerlendirildiği çalışmalar planlanarak, bu konu da kesin bir yargıya varılmak istenmektedir [61, 63]. Ancak bu çalışmalarda da farklı sonuçlar elde edilmektedir. Bizim çalışmamızda MDY'nin aynı hasta grubunda farklı antikorlar kullanılarak boyanması ile Faktör VIII, CD31 ve CD105'in, Ki-67 boyanma yüzdesinin ve p 53 ekspresyonunun prognoz üzerine etkileri karşılaştırılmıştır. Bu prognostik belirteçler birbirleri ile ilişkili olmalarına rağmen tümör evresi ve GS dahil hiçbir klinikopatolojik parametre ile ilişkileri bulunamamıştır. Ayrıca yapılan çok değişkenli cox regresyon analizinde, patolojik evre, GS ve TZPSAD'nin progresyonun belirlenmesinde bağımsız risk faktörü olduğu ve progresyonsuz sağkalımı etkileyen faktörlerin patolojik evre ve GS olduğu saptanmıştır.

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, lokalize prostat kanseri nedeniyle radikal retropubik prostatektomi(RRP) uygulanan hastalarda, klinikopatolojik parametrelerle beraber mikrodamar yoğunluğu (MDY), Ki-67 pozitifliği ve p53 mutasyon varlığının prognostik değerini araştırmaktır.

Kliniğimizde, lokalize prostat kanseri nedeniyle sadece RRP uygulanan hastalardan klinik ve patolojik verilerine ulaşılabilen 69 hastanın patoloji örnekleri retrospektif olarak değerlendirildi. X200 büyütmede her bir Faktör VIII, CD31, CD105 pozitif hücre kümelerinin en yoğun olduğu alan MDY sayımı için seçildi. p53 nükleer aktivitesi gösteren tümör hücreleri %5'den daha fazla ise pozitif olarak kabul edildi. Nükleer Ki-67 boyanma yüzdesi negatif, %1-10 arası ve %10'dan fazla olarak gruplandırıldı.

Hastaların ortalama takip süresi 37 (17-106) aydı. 17 (%24,6) hastada takipleri sırasında progresyon saptandı. Progresyon gösteren hastaların patolojik evre dağılımı progresyon göstermeyenlere göre daha ileri idi($p=0,01$). Transizyonel zon PSA dansitesinin (TZPSAD) progresyon göstermeyen hastalarda gösterenlere oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük değerlere sahip olduğu saptandı($p=0,01$). Çok değişkenli cox regresyon analizine göre patolojik evre, Gleason skoru ve TZPSAD'nin progresyonsuz sağkalım için bağımsız birer risk faktörü oldukları saptandı. Kaplan-Meier analizinde ise, yüksek patolojik evre (pT3) ve yüksek gleason skorunun (GS 8-10) hastalarda progresyona kadar geçen süreyi istatistiksel olarak anlamlı derecede kısalttığı gözlemlendi ($p=0,003, p<0,001$, sırasıyla).

Sonuç olarak, RRP sonrası progresyonun önceden belirlenmesinde MDY, Ki-67 boyanma yüzdesi ve p53 protein ekspresyonun, patolojik evre ve GS gibi prognostik belirteçlerle karşılaştırıldığında ek bir katkı sağlamadığı görülmüştür.

SUMMARY

We investigated the prognostic value of microvessel density (MVD), Ki-67 staining intensity and existence of p53 mutation together with clinicopathologic parameters in patients who underwent radical retropubic prostatectomy (RRP) due to the localized prostate cancer.

In our clinic, pathological specimens of 69 patients who have clinical and pathological datas were evaluated from the patient groups who underwent RRP only, retrospectively. The area with the greatest density of each of CD31, Factor VIII and CD105 positive cell clusters were chosen separately for counting MVD in X200 magnification. Greater than 5% of the tumor cells which demonstrated p53 nuclear reactivity were graded as positive. The percentage of nuclear Ki67 staining was grouped as negative, 1-10% and more than 10%.

Mean follow-up of the patients was 37 (17-106) months. Disease progression was determined in 17 (24.6%) patients during follow-up. Distribution of pathological stage in progressive patients was more advanced than non-progressive counterpart ($p=0,01$). Transitional zone PSA density (TZPSAD) of non-progressive patients was statistically lower than progressive patients ($p=0.01$). Multivariate cox regression analysis revealed pathologic stage, Gleason score (GS) and TZPSAD as the independent predictor of progression free survival. Kaplan Meier analysis revealed higher pathologic stage and GS was significantly shortened the time to progression ($p=0.003, p<0.001$, respectively).

As a conclusion, MVD, percentage of Ki-67 staining and p53 protein expression do not add any predictive value in regard to progression after RRP compared with prognostic markers as pathologic stage and GS.

KAYNAKLAR

1. Bray, F., Sankila, R., Ferlay, J., Parkin, D., *Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 1995*. Eur J Cancer, 2002. **38**: p. 99-166.
2. Black, R., Bray, F., Ferlay, J., Parkin, D., *Cancer incidence and mortality in the European Union: cancer registry data and estimates of national incidence for 1990*. Eur J Cancer, 1997. **33**: p. 1075-1107.
3. Partin, A., Kattan, M., Subong, E., et al., *Combination of prostate-specific antigen, clinical stage, and Gleason score to predict pathologic stage of localized prostate cancer: a multi-institutional update*. JAMA 1997. **277**: p. 1445-1451.
4. Kattan, M., Eastham, J., Stapleton, A., et al. , *A preoperative nomogram for disease recurrence following radical prostatectomy for prostate cancer*. J Natl Cancer Inst, 1998. **90**: p. 766-771.
5. Kattan, M., Wheller, T., Scardino, P. , *Post-operative nomogram for disease recurrence after radical prostatectomy for prostate cancer* J Clin Oncol, 1999. **17**: p. 1499 - 1507
6. Craft, P., Harris, A. , *Clinical prognostic significance of tumour angiogenesis*. Ann. Oncol., 1994. **5**: p. 305.
7. Macchiarini, P., Fantanini, G., Hardin, M. J., Squartini, F. and Angeletti, C. A. , *Relation of neovascularisation to metastasis of non-small-cell lung cancer*. Lancet, 1992. **340**: p. 145.
8. Takebayashi, Y., Aklyama, S., Yamada, K., et al. , *Angiogenesis as an unfavorable prognostic factor in human colorectal carcinoma*. Cancer, 1996. **78**: p. 226.
9. Tanigawa, N., Amaya, H., Matsumura, M., et al. , *Extent of tumor vascularization correlates with prognosis and hematogenous metastasis in gastric carcinomas*. . Cancer Res., 1996. **56**: p. 2671.
10. Weidner, N., Semple, J. P., Welch, W. R. and Folkman, J. , *Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma*. New Engl. J. Med., 1991. **324**: p. 1.
11. Brawer, M., *Quantitative Microvessel Density A Staging and Prognostic Marker for Human Prostatic Carcinoma*. Cancer 1996. **78**: p. 345-349.
12. Fonsatti, E., Altomonte, M., Nicotra, M., et al., *Endoglin (CD105): a powerful therapeutic target on tumor-associated angiogenetic blood vessels*. Oncogene 2003. **22**: p. 6557-6563.
13. Gettman, M., Pacelli, A., Slezak, J., et al., *Role of Microvessel Density in Predicting Recurrence in Pathologic Stage T3 Prostatic Adenocarcinoma*. UROLOGY, 1999. **54**: p. 479-485.
14. Josefsson, A., Wikström, P., Granfors, T., et al., *Prostate Cancer Tumor Size, Vascular Density and Proliferation as Prognostic Markers in GS 6 and GS7 Prostate Tumors in Patients with Long Follow-Up and Non-Curative Treatment*. Eur Urol 2005. **48**: p. 577-583.
15. Harris, C., Hollstein, M. , *Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene*. N Engl J Med, 1993. **28**: p. 1318-1327.

16. Shurbaji MS, K.J., Thurmond TS., *Immunohistochemical detection of p53 protein as a prognostic indicator in prostate cancer*. Hum Pathol, 1995. **26**: p. 106-109.
17. Stattin P, B.A., Karlberg L, Nordgren H, Damber JE., *p53 immunoreactivity as prognostic marker for cancer-specific survival in prostate cancer*. Eur Urol 1996. **30**: p. 65-72.
18. Holund, B., *Latent prostate cancer in a consecutive autopsy series*. . Scand J Urol Nephrol, 1980. **14**: p. 29-35.
19. Franks, L., *Etiology, Epidemiology and pathology of prostate cancer*. . Cancer 1973. **32**: p. 1092-1095.
20. Anafarta, K., Göğüş, O., Bedük, Y., Arıkan, N. , *Prostat kanseri*. 1st ed. Ürogenital tümörler. 1998, Ankara: Güneş Kitapevi. 726-751.
21. Huggins C, S.W., *Bilateral adrenalectomy in prostatic cancer* Ann Surg., 1945. **122**: p. 1031-1041.
22. Tanagho, A., McAninch J., *Neoplasms of prostate*. 14th ed. Smith's General Urology. 1995, Newyork: Appleton&Lange Simon&Schuster Comp. 392-433
23. İnci, O., *Prostat Kanserinde prognostik etmenler*. 1st ed. Üroloji 2004, ed. A. Erözenci, Ataus, S. . 2004, İstanbul: Ayhan Matbaa. 145-150.
24. Sobin, L., Wittekind, Ch., *TNM Classification of Malignant Tumours*. 6th ed. 2002, NewYork: Wiley-Liss.
25. Memmelaar, J., *Total prostatovezicectomy-retropubic approach*. J Urol 1949. **62**: p. 340-348.
26. Noldus J, G.M., Haese A, Henke RP, Hammerer P, Huland H. , *Stage migration in clinically localized prostate cancer*. Eur Urol, 2000. **38**: p. 74-78.
27. Amling CL, B.M., Bergstrahl EJ, Seay TM, Slezak J, Zincke H. , *Long-term hazard of progression after radical prostatectomy for clinically localized prostate cancer: continued risk of biochemical failure after 5 years*. . J Urol, 2000(164): p. 101-105.
28. Fichtner, J., *The management of prostate cancer in patients with a rising prostate specific antigen level*. BJU International, 2000. **86**: p. 181-190.
29. Pound, C., Partin,A., Epstein, J.,Walsh, P., *Prostate specific antigen following anatomical radical retropubic prostatectomy: patterns of recurrence and cancer control*. . Urol Clin North Am 1997. **24**: p. 395-406.
30. Moul, J., *Prostate specific antigen only progression of prostate cancer*. J Urol, 2000. **163**: p. 1632-1642.
31. Bouck, N., Stellmach, V. and Hsu, S. C. , *How tumors become angiogenic*. Adv. Cancer Res., 1996. **69**: p. 135.
32. Folkman, J., Klagsbrun, M., Sasse, J., Wadzinski, M., Ingber, D. and Vlodavsky, I., *A heparin-binding angiogenic protein-basic fibroblast growth factor-is stored within basement membrane*. Amer. J. Path, 1988. **130**: p. 393.
33. Hanahan, D.a.F., J., *Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis*. Cell, 1996. **86**: p. 353.
34. Polverini, P.J., *The pathophysiology of angiogenesis*. . Crit. Rev.Oral Biol. Med., 1995. **6**: p. 230.

35. Sunderkotter, C., Goebeler, M., Schulze-Osthoff, K., Bhardwaj, R. and Sorg, C. , *Macrophage-derived angiogenesis factors*. Pharm. Ther., 1991. **51** p. 195.
36. Wizigmann-Voos, S., Breier, G., Risau, W. and Plate, K. M., *Up-regulation of vascular endothelial growth factor and its receptors in von Hippel-Lindau disease-associated and sporadic hemangioblastomas*. Cancer Res., 1995. **55**: p. 1358.
37. Siemeister, G., Weindel, K., Mohrs, K., Barleon, B., Marring-Baren, G. and Maime, D. , *Reversion of deregulated expression of vascular endothelial growth factor in human renal carcinoma cells by von Hippel-Lindau tumor suppressor protein*. Cancer Res., 1996. **56**: p. 2299.
38. Dawson, D.W., Tolsma, S. S., Volpert, O. V., Polverini, P. V. and Bouck, N. P., *Retinoblastoma gene expression alters angiogenic phenotype*. Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 1995. **36**: p. 88.
39. Rak, J., Mitsuhashi, Y., Bayko, L., Filmus, J., Shirasawa, S., Sasazuki, T. and Kerbel, R. S., *Mutant ras oncogenes upregulate VEGF, VPF expression: implications for induction and inhibition of tumor angiogenesis*. Cancer Res., 1995. **55**: p. 4575.
40. Greenblatt, M., Bennett, W., Hollstein, M., Harris, C. and ;. *Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis*. Cancer Res, 1994: p. 4855-4878.
41. Nagao T, K.F., Sato T, Nagato Y, Kondo Y. , *Immunohistochemical detection of aberrant p53 expression in hepatocellular carcinoma: correlation with cell proliferative activity indices, including mitotic index and MIB-1 immunostaining*. . Hum Pathol, 1995. **26**: p. 326-333.
42. Kuczyk MA, S., J., Hervatin C, Arndt H, Derendorf L, Thon WF, et al., *Detection of p53 tumor-suppressor-gene protein in bladder tumors and prostate cancer: possible clinical implications*. . World J Urol 1994. **12**(345-351).
43. Heidenberg HB, B.J., McLeod DG, Moul JW, Srivastava S., *The role of the p53 tumor suppressor gene in prostate cancer: a possible biomarker?* Urology, 1996. **48**: p. 971-979.
44. Hollstein M, S.D., Vogelstein B, Harris CC., *p53 mutations human cancers*. . Science 1991. **253**: p. 49-53.
45. Wick, M., *Oncogene analysis in diagnostic pathology: a current perspective [editorial]*. Am J Clin Pathol 1992. **97**(5 Suppl 1): p. S1-3.
46. Harriss DR, S.J., *Apoptosis and the prostate*. Br J Urol 1995. **75** (Suppl1): p. 27-33.
47. Ittmann M, W.R., Heller P, Dave A, Provet J, Krolewski J. . *Alterations in the p53 and mdm-2 genes are infrequent in clinically localized, stage B prostate adenocarcinomas*. Am J Pathol, 1994. **145**: p. 287-293.
48. Cowen, D., Troncso P., Khoo,V.,et al, *Ki-67 Staining Is an Independent Correlate of Biochemical Failure in Prostate Cancer Treated with Radiotherapy* Clin Cancer Res, 2002. **8**: p. 1148-1154.
49. Halvorsen OJ, H.S., Hoiseter PA, et al. , *Independent prognostic importance of microvessel density in clinically localized prostate cancer*. Anticancer Research, 2000. **20**: p. 3791-3800.

50. Jones A, F.C., *Angiogenesis in urological malignancy: Prognostic indicator and therapeutic target.* . BJU International, 1999. **83**: p. 535-556.
51. Gougos, A., Letarte, M. and . *Identification of a human endothelial cell antigen with monoclonal antibody 44G4 produced against a pre-B leukemic cell line.* J. Immunol, 1988. **141**: p. 1925-1933.
52. Wang, J., Kumar, S., Pye, D., van Agthoven, AJ., Krupinski, J., Hunter, RD., *A monoclonal antibody detects heterogeneity in vascular endothelium of tumours and normal tissues.* Int. J. Cancer, 1993. **54**: p. 363-370.
53. Wikstrom, P., Lissbrant, IF., Stattin, P., Egevad, L., Bergh A., *Endoglin (CD105) is expressed on immature blood vessels and is a marker for survival in prostate cancer* Prostate, 2002. **51**: p. 268-275.
54. Taylor, C.R., Shi, S.R., Chaiwun, B.,et al., *Strategies for improving the immunohistochemical staining of various intranuclear prognostic markers in formalin-paraffin sections: Androgen receptor, estrogen receptor, progesterone receptor, p53 protein, proliferating cell nuclear antigen, and Ki-67 antigen revealed by antigen retrieval techniques.* . Hum Pathol, 1994. **25**: p. 263-270.
55. Weidner, N., Carroll, P., Flax, J.,et al., *Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma.* . Am. J. Pathol., 1993. **143**: p. 401-409.
56. Bauer, J., Sesterhenn, I.,Mostofi, K.,, *p53 Nuclear Protein Expression is an Independent Prognostic Marker in Clinically Localized Prostate Cancer Patients Undergoing Radical Prostatectomy.* Clin Cancer Res, 1995. **1**: p. 1295-1300.
57. Deliveliotis, C., Skolarikos, A.,Karayannis, A., et al., *The prognostic value of p53 and DNA ploidy following radical prostatectomy.* World J Urol 2003. **21**: p. 171-176.
58. Inoue, T., Segawa, T., Shiraishi, T., et al., *Androgen Receptor, Ki67, And P53 Expression in Radical Prostatectomy Specimens Predict Treatment Failure in Japanese Population.* Urology 2005. **66**: p. 332-337.
59. Lissbrant, I., Stattin,P.,Damber,J., et al., *Vascular Density Is a Predictor of Cancer-Specific Survival in Prostatic Carcinoma.* Prostate 1997. **33**: p. 38-45.
60. Offersen, B., Borre,M., Overgaard,J., *Quantification of angiogenesis as a prognostic marker in human carcinomas: a critical evaluation of histopathological methods for estimation of vascular density.* Eur J Cancer 2003. **39** p. 881-890.
61. Strohmeyer, D., Rossing, C., Strauss, F., et al., *Tumor angiogenesis is associated with progression after radical prostatectomy in pT2/pT3 prostate cancer.* Prostate 2000. **42**: p. 26-33.
62. Vartanian, R., Weidner, N., *Endothelial cell proliferation in prostatic carcinoma and prostatic hyperplasia: correlation with Gleason's score, microvessel density, and epithelial cell proliferation.* Lab. Invest., 1995. **73**: p. 844-850.

63. Krupski, T., Petroni, G.R., Frierson, H.F., et al., *Microvessel density, p53, retinoblastoma, and chromogranin A immunohistochemistry as predictors of disease-specific survival following radical prostatectomy for carcinoma of the prostate*. Urology 2000. **55**: p. 743-749.
64. Moul, J.D., *Angiogenesis, p 53, bcl -2 and Ki-67 in the progression of prostate cancer after radical prostatectomy*. Eur Urol, 1999. **35**: p. 399-407.
65. Rubin, M.A., Buyyounouski, M., Bagiella, E., et al., *Microvessel density in prostate cancer: lack of correlation with tumor grade, pathologic stage, and clinical outcome*. Urology, 1999. **53**: p. 542-547.
66. Offersen, B., Borre, M., Sorensen, F., et al., *Comparison of methods of microvascular staining and quantification in prostate carcinoma: Relevance to prognosis*. APMIS, 2002. **110**: p. 177-185.
67. Gettman, M., Bergstralh, E., Blute, M., et al., *Prediction Of Patient Outcome In Pathologic Stage T2 Adenocarcinoma Of The Prostate: Lack Of Significance For Microvessel Density Analysis* Urology, 1998. **51**: p. 79-85.
68. Offersen, B., Borre, M., Overgaard, J., *Immunohistochemical determination of tumor angiogenesis measured by the maximal microvessel density in human prostate cancer*. APMIS 1998. **106**: p. 463-469.
69. Rogatsch, H., Hittmair, A., Reissigl, A., et al., *Microvessel Density in Core Biopsies of Prostatic Adenocarcinoma: A Stage Predictor?*. J Pathol., 1997. **182**: p. 205-210.
70. Schlemmer, H., Merkle, J., Grobholz, R., et al., *Can pre-operative contrast-enhanced dynamic MR imaging for prostate cancer predict microvessel density in prostatectomy specimens?* Eur Radiol, 2004. **14**: p. 309-317.
71. Kuczyk, M., Serth J, Bokemeyer, C., et al., *The prognostic value aof p53 for long-term and recurrence-free survival following radical prostatectomy* Eur J Cancer, 1997. **34**: p. 679-686.
72. Fonseca, G., Srougi, M., Moreira Leite K., et al., *The role of HER2/neu, BCL2, p53 genes and proliferating cell nuclear protein as molecular prognostic parameters in localized prostate carcinoma*. Sao Paulo Med J, 2004. **122**: p. 124-27.
73. Brown, D.C., Gatter, K. C. , *Monoclonal antibody Ki-67: its use in histopathology*. Histopathology, 1990. **17**: p. 489.
74. Bettencourt, M.C., Bauer, J., Sesterhenn, I. A., et al., *Ki-67 Expression is a Prognostic Marker of Prostate Cancer Recurrence after Radical Prostatectomy*. J Urol, 1996. **156**: p. 1064-1068.
75. Sebo, T., Cheville, J., Riehle, D., et al., *Perineural Invasion and MIB-1 Positivity in Addition to Gleason Score Are Significant Preoperative Predictors of Progression After Radical Retropubic Prostatectomy for Prostate Cancer*. Am J Surg Pathol, 2002. **26**: p. 431-439.