

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PROSTAT KANSERLİ VE BENİGN PROSTAT HİPERPLAZİLİ
HASTALARDA TGF β POLİMORFİZMİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Gurbet Pınar POLAT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Pınar Aslan KOŞAR

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim
Birimi tarafından 2437-YL-10 Proje numarası ile desteklenmiştir.**

Tez No: 77

ISPARTA - 2012

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 11/01/2012

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR/ Süleyman Demirel Üniversitesi



Üye : Doç. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU/ Süleyman Demirel Üniversitesi



Üye : Yrd. Doç. Dr. Taylan OKSAY/ Süleyman Demirel Üniversitesi



ONAY : Bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Fehmi ÖZGÜNER
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince desteğini esirgemeyen Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Sayın Prof. Dr. Nurten ÖZÇELİK'e,

Danışmanlığımı üstlenen bilgisini ve tecrübesini esirgemeyen değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Pınar Aslan KOŞAR'a,

Göstermiş olduğu desteği ve önerileri için değerli hocam Sayın Doç. Dr. Nilüfer Şahin CALAPOĞLU'na,

Bilgi ve deneyimlerini paylaşan Tıbbi Biyoloji bölümü hocalarım Sayın Prof. Dr. H.Ramazan YILMAZ ve Sayın Doç. Dr. Efkan UZ'a,

Tıbbi Biyoloji bölümü asistan arkadaşlarım Sayın Arş. Gör. Ayşe YİĞİT, Sayın Arş. Gör. Dilek Aşçı ÇELİK, lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca benimle aynı kaderi paylaşan ve yanımda olan sevgili arkadaşım Gülçin YAVUZ'a,

Tıbbi Genetik Bölüm Başkanı değerli hocam Sayın Prof. Dr. Sıtkı ÖZTAŞ'a,

Tezim için gerekli hasta örneklerinin sağlanmasındaki katkılarından dolayı Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Üroloji Bölümü Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Alim KOŞAR ve asistanlarına,

Çalışmaya mali destek veren Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine,

İstatistik analizlerimde bana yardımcı olan arkadaşım Seda USLU'ya,

Eğitim hayatım boyunca maddi manevi desteğini esirgemeyen ve sabırla beni anlamaya çalışan sevgili annem Gülümser YILDIRIM, sevgili babam Hüseyin YILDIRIM ve sevgili kardeşim Fırat YILDIRIM'a,

Bu süreçte zamanından çaldığım değerli eşim Selçuk POLAT'a sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLOLAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Hücre Uyarı Sistemleri.....	3
2.1.1. Hücreler Arası Uyarı	3
2.1.1.1. Endokrin Uyarı.....	3
2.1.1.2. Parakrin Uyarı	3
2.1.1.3. Sinaptik Uyarı	3
2.1.1.4. Otokrin Uyarı	4
2.1.2. Hücre İçi Uyarı.....	5
2.1.2.1. Hücre Yüzey Reseptörü ile Yapılan Uyarı.....	5
2.1.2.1.1. Protein-Tirozin Kinaz Reseptörleri	6
2.1.2.1.2. Serin-Treonin Kinaz [Transforming Growth Factor β (TGF- β)] Reseptörleri	7
2.1.2.1.3. Protein Tirozin Fosfatazlar	7
2.2. Büyüme Faktörleri	7
2.3. Transforme Edici Büyüme Faktörü beta [TGF β (Transforming Growth Factor β)];.....	12
2.3.1. TGF β Reseptör Yapısı ve Sinyal Reseptörleri	15
2.3.2. TGF β Reseptör Sinyali.....	15
2.3.2.1. SMAD Proteinleri	17
2.3.2.2. SMAD'ların Yapısı ve Sınıflandırılması	17
2.3.3. TGF β 'nın Fonksiyonları	21
2.3.3.1. Antiproliferatif Etkisi	21
2.3.3.2. Proapoptotik Etkisi.....	21
2.3.3.3. Anti-İnflamatuar Etkisi	21
2.3.4. TGF β Kaskadındaki Değişiklikler ve Kanser	21

2.4. Kanserde Reseptör Mutasyonları	22
2.5. Kanserde Smad'ların Mutasyonu	22
2.6. Polimorfizm.....	23
2.7. Prostat Kanseri ve Benign Prostat Hiperplazisi	24
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	29
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	29
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	30
3.3. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	30
3.4. Dokudan DNA İzolasyonu.....	32
3.5. <i>TGF β C509T</i> Polimorfizminin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Yöntemi ile Çoğaltılması	33
3.5.1. Kodon Bölgesinin Çoğaltılması İçin Kullanılan Primer Dizileri.....	33
3.5.2. PCR Koşulları	33
3.5.3. PCR Ürünlerinin Kontrolü	35
3.5.4. Enzim Kesim Reaksiyonu	35
3.5.5. Bsu36I Enzim Kesim Ürünlerinin Değerlendirilmesi ve Kontrolü.....	35
3.6. Araştırmada Kullanılan İstatiksel Yöntemler.....	36
4. BULGULAR.....	37
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	48
ÖZET.....	50
ABSTRACT	51
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ.....	58

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltma</u>	<u>Açılımı</u>
AMH	Antimüllerian hormon
ARTS	Apoptoz regülatörü
bFGF	Bazik fibroblast büyüme faktörü
BMP	Kemik morfogolik protein
BPH	Benign prostat hiperplazisi
CDK	Sikline bağımlı kinaz
Co-Smadlar	R-Smad'larla birleşerek sinyal iletimine katılan SMAD'lar
CTGF	Bağ dokusu büyüme faktörü
DAXX	Fas reseptörlerine bağlanan
DHT	Dihidroksitesteron
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleozid trifosfat
DPC4	Deleted in pancreatic cancer
EGF	Epidermal büyüme faktörü
Eph A, B	Efrin reseptörleri A,B
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
HGH	İnsan büyüme hormonu
IFN	İnterferon
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
IGFBP	İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinler
IL	İnterlökin
I-Smadlar	İnhibitör SMAD'lar
KGF	Keratinosit büyüme faktörü
LAP	Latency associated protein
LDGF	Lökosit kaynaklı büyüme faktörü
LTB β	Latent TGF β bağlayan protein
Mad	Mother against decapetaplegic
MAPK	Mitojen-aktive protein kinaz
MH 1, 2	Mad homologu 1,2

NGF	Sinir büyüme faktörü
PCa	Prostat kanseri
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PDGF	Trombositlerce salınan büyüme faktörü
PI3K	Fosfoinositide-3 kinaz
PP2A	Protein fosfataz
PSA	Prostat spesifik antijen
Ras-ERK-1	Ekstraselüler regulated kinaz
RBC	Kırmızı kan hücreleri
R-Smadlar	Reseptör ile regüle edilen SMAD'lar
RTK	Reseptör tirozin kinazlar
SH2	Src homoloji domain 2
SNP	Tek nükleotid polimorfizm
TGF α, β	Transforme edici büyüme faktörü
TNF	Tümör nekroz faktörü
TβR 1, 2, 3	Transforme edici büyüme faktörü reseptör 1, 2, 3
VEGF	Vasküler endotelial büyüme faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. TGF β reseptör kompleksinin yapısı	16
Şekil 2. SMAD ailesi	18
Şekil 3. SMAD'ların yapısı	18
Şekil 4. TGF- β /SMAD yolu.....	20
Şekil 5. Testosteronun 5 α redüktaz enzimi ile dihidrotestosterona dönüşümü	27

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. <i>TGF β1 C-509T</i> polimorfizminin PCR ürününün Bsu36I enzimi ile kesildikten sonra agaroz elektroforezinde görüntüsü.....	36
---	----

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Büyüme faktörleri, kaynağı ve görevleri	11
Tablo 2. Türkiye’de 2005 yılında yapılan istatistiğe göre erkeklerde kanserlerin görülme sıklığı	25
Tablo 3. PCR karışımının hazırlanması	34
Tablo 4. PCR basamakları.....	34
Tablo 5. Enzim kesim reaksiyonu	35

1. GİRİŞ

Prostat kanseri, çoğu batı ülkelerinde erkeklerde görülen en yaygın kanser türüdür ve kanser ölümlerinde ikinci sıradadır (Ferlay 2004). Prostat kanseri tipik olarak 50 yaş üstü erkeklerin hastalığıdır (Robbins et al., 2009). Etiyolojisi az bilinmekte ve tespit edilen risk faktörleri yaş, ırk ve ailesel hikaye, anormal dijital rektal muayene ve serum prostat spesifik antijen (PSA)'in artmasıdır (Wolk 2005, Timothy et al., 2008). Prostat kanserinde bilinen prognostik faktörler kanserin klinik olarak fazı (stage), PSA, gleason score'dur (Brand et al., 2008).

Benign prostat hiperplazisi (BPH), prostat bezinin epitelyal ve stromal (düz kas) komponentlerinin proliferasyonu sonucu gelişen prostat büyümesidir. Prostat fizyolojik düzeyde androjenler varlığında, proliferasyon ve programlanmış hücre ölümü (apoptozis) arasındaki denge nedeniyle sabit hacimde kalır. Androjenler bu dengeyi epidermal büyüme faktörü (EGF), bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF), insülin benzeri büyüme faktörü ve tümör büyüme faktörü $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) aracılığı ile sağlarlar. Hem prostat kanserinde hem de BPH'da bu moleküler düzenleyici mekanizmanın hücre proliferasyonu lehine bozulması nedeniyle prostatın büyümesi ortaya çıkar (Yurdakul ve Güven 2006).

Büyüme faktörleri hücrel aktivitelere etkileyebilen proteinlerdir (Ciğer 2010). Birçok hücre tarafından sentezlenen TGF β büyüme faktörlerinden biridir. TGF β hücre bölünmesi (proliferasyon), farklılaşması, adhezyon, morfogenez, ekstraselüler matriks oluşumu ve programlı hücre ölümü gibi çeşitli hücrel süreçlerin kontrolünü sağlamaktadır. Bu büyüme faktörünün sinyalizasyon yolu birçok farklı yollar ile etkileşerek hücrenin homeostazı üzerinde etkili olmaktadır (Siegel and Massague 2003).

Karsinogenik yöntemlerde radyoterapiye yanıt hücrel ve klinik radyosensivite TGF beta 1'dir (Derynck et al., 2001). TGF β 1 tümör baskılayıcıdır, sinyal yolağının bozulması ile de onkogen özellik gösteren bifazik yapıya sahiptir. Yani normal epitel hücrelerinde TGF $\beta 1$ büyümeyi inhibe ediciyken karsinogenik yollarda TGF $\beta 1$ sinyaline direnç kazanılmasıyla tümör arttırıcı etkiye sahiptir (Saltzman 2008). TGF $\beta 1$ hücre döngüsünün kontrolünde anahtar rol oynar ve

bundan dolayı normal epitelyal hücrelerin büyümesini inhibe etmede ve farklılaşmasında, hücre döngüsünde G1 fazını baskılayarak tümör baskılamayla ilişkilidir. TGF β 1 sinyal yolunun bozulması tümör hücrelerinde TGF β 1- aracılı büyüme- inhibe edici etkileri ve TGF β 1'in aşırı üretimine sebep olur (Barrack 1997). Böylece tümöral dokularda TGF β 1 onkogenik özellikler sergileyerek kontrolsüz çoğalma, invazyon ve metastaz gibi olayların gelişmesine aracılık eder (Derynck et al., 2001). Prostat kanseri hücrelerinde *TGF β 1* geni sinyal yollarındaki bozukluğun onarımı hücre çoğalmasını durdurarak in vitro tümör büyümesini baskılayabilir (Wikstrom et al., 2001, Guo and Kyprianou 1999). Ayrıca TGF β 1 tip 1 kollajen üretimini artırır. *TGF β 1* genindeki bu değişiklikler prostat kanseri ve benign prostat hiperplazisi gelişimine sebep olabilir (Li et al., 2004).

TGF β 'nın tüm izoformları prostatta üretilir ancak TGF β 1'in üretimi en yüksek seviyededir (Toland 2004). *TGF β 1*'in çeşitli polimorfizmleri arasında, *C-509T* polimorfizmi en çok çalışılan polimorfizmlerinden biridir ve farklı kanserlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda, *TGF β 1 C-509T* polimorfizmini prostat kanseri ve benign prostat hiperplazili hastaların doku ve kanlarında incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hücre Uyarı Sistemleri

Çok hücreli organizmalardaki hücreler yer aldıkları doku içindeki organizasyonlarını, bölünme ve büyümelerini düzenlemek, fonksiyonlarını koordine etmek için birbirleriyle ilişki kurmaya ihtiyaç duyarlar. Hücre uyarı sistemleri, hücrelerin birbirleriyle ve kendi içinde koordinasyonu sağlamak üzere iki bölümde incelenebilir (Başaran 2002).

2.1.1. Hücreler Arası Uyarı

Çok hücreli organizmalarda, hücreler arası bilgi ve iletişim, çok sayıda farklı molekülle sağlanmaktadır. Sinyal molekülleri (ligand) olarak adlandırılan bu moleküller uyarı oluşturmak isteyen hücre tarafından üretilir. Salgılanan ligand, hedef hücrenin zarında, sitoplazmasında veya nükleus zarında yer alan ve reseptör olarak adlandırılan bir proteine bağlanarak istenen etkinin oluşmasını sağlar. Bu hücre dışı (ekstrasellüler) sinyallerin etkileyeceği hedef hücrenin uzaklığına bağlı olarak 4 farklı uyarı mekanizması vardır (Başaran 2002).

2.1.1.1. Endokrin Uyarı

Endokrin hücrelerin salgıladığı uyarı molekülleri (hormonlar) kendilerinden oldukça uzakta bulunan hücreleri etkiler. Bu uyarı molekülleri genellikle hedef hücrelere kan dolaşımı ile ulaşır (Başaran 2002).

2.1.1.2. Parakrin Uyarı

Hedef hücre uyarı molekülü üreten hücreye çok yakındır ve uyarı sadece salgı yapan hücrenin bitişindeki hücreleri etkiler (Başaran 2002).

2.1.1.3. Sinaptik Uyarı

Sinir sisteminde bulunan sinir hücrelerince gerçekleştirilir. Hücreler, sinaps adı verilen özel birleşme bölgelerinden nörotransmitterler salgırlar, sinaptik aralığa dökülen bu nörotransmitterler komşu hücreye uyarı iletirler (Başaran 2002).

2.1.1.4. Otokrin Uyarı

Hücreler kendi salgıladıkları maddelere kendileri cevap verirler.

Her 4 uyarı tipinde de, hedef hücreler, kendilerine ulaşan uyarı moleküllerine bağlanarak cevap oluşmasını sağlayan reseptör olarak isimlendirilen özel proteinlere sahiptir. Uyarı molekülünün hedef reseptöre bağlanması, gelen uyarıya yanıt oluşmasına neden olur. Farklı uyarı tiplerinde ortak özellik; uyarı iletimine ligand ve reseptörlerin neden olmasıdır. Aralarındaki en önemli fark ise, uyarının hedef hücreye gönderilmesindeki hız ve seçiciliktir (Güneş 2003).

Sinaptik uyarı, endokrin uyarıdan çok daha hızlıdır. Çünkü elektriksel uyarılar, sinir aksonu ucundan çok hızlı şekilde nörotransmitter madde salınmasını sağlarlar. Nörotransmitter madde de sinaps yarığına sızarak, impulslar hızlı bir şekilde iletilmesini sağlarlar. Endokrin uyarıda ise, bezden kana salınan hormon dolaşım yolu ile hedef hücrelere daha geç ulaşır. Aynı sinyal molekülü farklı hedef hücrelerde farklı cevaplar meydana getirebilir. Bunun nedeni sinyal molekülünün farklı hücrelerde farklı moleküllere bağlanmasından ileri gelmektedir. Örneğin asetilkolin, iskelet kası hücrelerinde kasılmaya neden olurken, kalp kası hücrelerinde gevşemeye neden olur. Bazı durumlarda ise, aynı sinyal molekülü farklı hücrelerde aynı tip reseptöre bağlanır. Fakat bu sefer farklı hücre içi uyarı yollarını kullanır. Örneğin; kalp kasında gevşemeye sebep olan asetilkolin, aynı reseptöre sahip salgı hücrelerinde sekresyona neden olmaktadır. Endokrin uyarı moleküllerinden tiroid hormonları ve steroid yapılı hormonlar hariç, diğer endokrin uyarı molekülleri ve sinirsel uyarı molekülleri suda çözünürler. Suda çözünen moleküller hidrofilik özelliklerinden dolayı kan içinde serbest dolaşırlar ve hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak o hücrenin içinde etkilerini oluştururlar. Suda çözünmeyen steroid yapıdaki hormonlar ise hidrofobik özellikleri nedeni ile özel taşıyıcı proteinlere bağlanmak suretiyle kanda dolaşırlar. Taşıyıcı proteinden ayrılıp, yağda çözünebilme özellikleri nedeniyle hedef hücre zarını kolayca geçerek hücre sitozolü veya nükleusunda bulunan hücre içi reseptörlere bağlanarak etkilerini gösterirler (Başaran 2002).

2.1.2. Hücre İçi Uyarı

Hücreye gelen uyarının hücre içine iletilip, burada belirli etkilerin oluşturulması özel reseptörler aracılığı ile olur (Başaran 2002).

2.1.2.1. Hücre Yüzey Reseptörü ile Yapılan Uyarı

Hücre yüzey reseptörleri polipeptid yapıda protein moleküllerinden oluşur. Her sinyal için özel bir reseptör molekül vardır. Bu sinyal moleküllerinden örneğin nörotransmitterler ve suda çözünen hormonlar hücre yüzeyindeki özel reseptörlere bağlanarak hedef hücrenin davranışını değiştiren hücre içi uyarıları oluştururlar. Hücre yüzey reseptörlerine bağlanan bu nörotransmitterler ve diğer kimyasal uyarı moleküllerine ligand adı verilir. Ligand hücreyi ilk uyarıcı maddedir, o nedenle bunlara birinci haberci de denilebilir. Bazı ligandlar kendi başlarına gerekli olayı sonlandırabildikleri gibi bazıları ikinci habercilerin oluşmasını sağlar. Ligand ve reseptörün yapısal özelliklerine göre, ligand-reseptör ilişkisi sonucu hücre içinde bazı olaylar başlatılır (Başaran 2002).

Hücrede, hücresel olayların bazılarının başlayıp devam etmesi, bu olayda görev alan hedef proteinlerin (enzim) aktifleşmesiyle gerçekleşir. Bunun için de hedef proteinlerin tirozin, serin, treonin rezidülerine fosfat bağlanması gerekir. Fosfor bağlanması protein kinazlarla sağlanır (Başaran 2002).

Kinazların başlattığı reaksiyonların sonlandırılması, bağlanan fosforun koparılmasıyla mümkündür. Hedef proteinden fosfor koparılması da protein fosfatazlar ile sağlanır (Başaran 2002).

Hücre zarını kat edip, ekstrasellüler aralık ve sitozole uzanan bölgelere sahip, birçok protein kinaz ya da protein fosfataz reseptörü mevcuttur. Bunlardan bazı protein kinazlar hücre yüzey reseptörü olarak hedef proteinleri fosforlarken, bazı hücre yüzey reseptörü olan protein fosfatazlar da hedef proteinden fosfor kopararak görev yaparlar. Bu fosforilasyon ve defosforilasyon aktivitesine sahip hücre yüzey reseptörleri ise, temelde benzer olmakla birlikte bazı farklılıklar gösterirler (Başaran 2002).

Hücre yüzey reseptörleri kullandıkları uyarı iletme mekanizmalarına göre 3 sınıfa ayrılırlar.

1. İyon kanallarına bağlı reseptörler
2. G proteinine bağlı reseptörler
3. Enzime bağlı reseptörler

İyon kanallarına bağlı reseptörler elektriğe duyarlı hücreler arasındaki hızlı sinaptik sinyal iletiminde rol oynarlar. Bu sinyal iletimine nörotransmitterler aracılık eder ve iyon kanallarının hızlıca açılıp kapanmalarını sağlar. Bunlar bağlandıkları zaman plazma membranın iyon geçirgenliğini değiştiren ve postsinaptik hücrenin duyarlılığını sağlayan bir çeşit protein formudur.

2.1.2.1.1. Protein-Tirozin Kinaz Reseptörleri

Protein tirozin kinaz reseptörler hedef proteinlerin tirozin rezidülerini fosforlarlar. Reseptörün yapısı, bir NH₂ uç bölgesi ve sitozolde uzanan COOH uç bölgesinden oluşmaktadır. COOH uç bölgesinde, protein tirozin kinaz bölgesi yer alır ve bu bölge, tirozin kinaz aktivitesine sahiptir (Başaran 2002).

Protein kinazlar, sinyal iletimi sırasında protein fosforilasyonunu/aktivasyonunu sağlarlar. Protein kinazlar membran yerleşimli ve sitoplazmik tirozin kinazlar olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Bu proteinler, katalitik özelliklerine göre (fosforilasyona uğrayan aminoasit türü) tirozin ve serin/treonin kinazlar olarak da sınıflandırılır (Pawson et al.,2002, Pawson 2002).

Membranda yerleşim gösteren proteinlere, reseptör tirozin kinazlar (RTK) denilmektedir. RTK süperailesinde 58 transmembran protein bulunmaktadır. Bu reseptörler arasında insülin reseptörü, büyüme faktörleri (EGF, VEGF, PDGF, FGF, NGF) reseptörleri ve efrin reseptörleri (EphA, EphB) yer almaktadır (Pawson 2002). RTK'lar, sitoplazmik kısımlarında aktivasyondan sorumlu bir bölge (tirozin kinaz bölgesi) içerirler. İstirahat halindeki hücrelerde, RTK'nın inaktif ve aktif konformasyonları denge halindedir (Doğan 2004). Bu reseptörler büyüme faktörleri ile bağlandıktan sonra aktif hale geçerler ve sitoplazmadaki hedef proteinleri ile etkileşerek sinyal iletimini gerçekleştirirler. RTK aktivasyonu, reseptörün kendi

kendini fosforile etmesiyle başlar. İkinci aşamada ise, bu fosforlanan bölgelere çeşitli adaptör proteinler bağlanırlar ve uyarının hücre içine iletimini sağlarlar. Adaptör proteinlerin ortak yapısal özelliği SH2 (Src-homology-2) bölgeleri içermeleridir. Bu proteinler, SH2 bölgeleri aracılığıyla reseptöre bağlanarak, RTK ile sitoplazmadaki efektör proteinleri arasında köprü görevi yapmaktadır. RTK aktivasyonunun sonlandırılmasından fosfataz grubu proteinler sorumludur. Buna göre, fizyolojik koşullarda sinyal iletimi tersinir özellik taşır ve RTK aracılı iletim kontrol altında tutulur. Karsinogenez sürecinde ise, sürekli ve kontrolsüz RTK aktivitesi söz konusudur (Blume and Hunter 2001).

2.1.2.1.2. Serin-Treonin Kinaz [Transforming Growth Factor β (TGF- β)] Reseptörleri

Serin-treonin kinaz reseptörleri, hedef proteinlerin serin ve treonin rezidülerini fosforlayan protein kinazlardır. TGF β , hücre çoğalmasında ve hücre tiplerinin farklılaşmasında gerekli olan büyüme faktörleri familyasının öncüsüdür. Bu reseptörler protein tirozin kinaz reseptörlerinden farklı olarak, sitozolik kısımda (karboksil uç bölgesi), bir protein serin/treonin kinaz bölgesine sahiptirler. Bunlarda bir ligand olan TGF β , kendi reseptörüne bağlanırken oluşan dimer, farklı TGF β reseptörlerinin bir araya gelmesiyle oluşur. O halde bu yapı heterodimer adını alır. Ligand-heterodimer kompleksi oluşuktan sonra reseptörlerin serin-treonin kinaz rezidüleri birbirlerini fosforlar ve hedefe sinyal iletimi gerçekleştirilir (Başaran 2002).

2.1.2.1.3. Protein Tirozin Fosfatazlar

Protein tirozin fosfatazlar, hücre sinyal yolunda protein tirozin kinazların başlattığı sinyalleri hedef proteinin fosfotirozin rezidülerinden fosfat gruplarını kopararak sonlandırmada rol oynarlar. Bu görevlerini hücre içinde ve hücre yüzeyinde yaparlar (Başaran 2002).

2.2. Büyüme Faktörleri

Ağırlıkları 4000-60000 dalton arasında değişen, çok az miktarları bile hücrel aktiviteyi etkileyebilen proteinlerdir. Büyüme faktörlerinin herhangi bir

hücreyi etkileyebilmesi, o hücrenin, o faktör için reseptöre sahip olup olmamasına bağlıdır. Her hücrenin farklı büyüme faktörleri için farklı sayıda reseptörü bulunur. Reseptöre bağlanma sonucu hücre içinde özgün bir cevaba neden olan bir seri sinyal ortaya çıkar. Etki, çoğunlukla tirozin kinaz uyarılarak sağlanır. Büyüme faktörlerinin o bölgedeki konsantrasyonu ve reseptöre bağlanan miktarı, elde edilecek sonucu belirler. Matriks de, büyüme faktörlerinin çözünebilirliğini değiştirerek, hücrenel aktiviteleri düzenleyecek faktör konsantrasyonunun değişmesini sağlayabilir. Ayrıca matriks, büyüme faktörlerinin bağlanıp çözülmesini ayarlayarak, ortamdaki faktörler için rezervuar görevi görür. Yine matriks, herhangi bir hücrenin, herhangi bir büyüme faktörüne vereceği yanıtı belirleyebilir (Ciğer 2010).

Büyüme faktörleri; Epidermal büyüme faktörü (EGF), Trombositlerce salınan büyüme faktörü (PDGF), Fibroblast büyüme faktörü (FGF), Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF), Transforme edici büyüme faktörü alfa ve beta (TGF α ve β) olarak sınıflandırılabilir.

Epidermal Büyüme Faktörü (Epidermal Growth Factor) (EGF); 53 aminoasitlik bir polipeptittir. Birçok dokuda bulunur ve trombosit degranülasyonu sırasında salınır. Hücrelerin çoğunda EGF' e ait reseptörler bulunur. En çok reseptör epitel hücrelerde bulunur; ancak endotel hücreler, fibroblast ve düz kas hücrelerinde de reseptörler vardır (Ciğer 2010).

Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (Platelet-Derived Growth Factor) (PDGF); Trombositlerin alfa granülleri içinde bulunur. 32000 dalton ağırlığında bir glikoprotein olan PDGF, %56 oranında benzerlik gösteren, iki disülfid bağıyla bağlanmış A ve B ünitelerden oluşur. AA, AB ve BB şekillerinde ifade edilen faktörün her üç formunun biyolojik aktiviteleri temelde benzer olup B ünitesi mitogenezi biraz daha güçlü uyarabilir. Makrofajlar, trombositler, endotel, düz kas ve tümör hücreleri PDGF benzeri büyüme faktörleri salgırlar. PDGF; makrofajlar ve polimorf nükleuslu lökositlerin kemotaksisini uyarır. Fibroblast ve düz kas hücrelerinde hem kemotaksis hem mitogenezi uyarır. PDGF, kollajen, hyalüran ve fibronektin sentezini uyarır; ayrıca kollajenaz aktivitesini artırır (Ciğer 2010).

Fibroblast Büyüme Faktörü (Fibroblast Growth Factor) (FGF); İlk kez mezankimal hücreler için mitojen olarak bulunan bu faktörün anjiogenezi uyardığı ve yara iyileşmesinde rolü olduğu gösterilmiştir. Hem asidik hem de bazik olmak üzere iki tip FGF tanımlanmıştır. Bazik FGF'ün damarlanmayı uyarıcı özelliği yaklaşık 10 kat fazladır. Endotel hücreler FGF'yi hem sentezler hem de ona yanıt verirler. Her iki tip FGF'de endotel proliferasyonu ve motiliteyi artırarak neovaskularizasyonu hızlandırır (Ciğer 2010). FGF 1, 2, 6, 8, 17 içeren FGF ligandları ve FGF reseptörlerinin prostat kanserinde aşırı üretildiği gösterilmiştir (Murphy et al., 2010).

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (Vascular Endothelial Growth Factor) (VEGF); Vasküler endotel büyüme faktörü ailesi, endotel hücreleri için özgüdür ve önemli etkilere sahiptir. Vücutta hem fizyolojik olaylarda, hem de tümör büyümesi ve metastazını da içeren patolojik pek çok hastalığın etiolojisinde yer alır. VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve plasenta büyüme faktörü olmak üzere altı üyesi vardır. VEGF, ovaryum follikülleri, korpus luteum, akciğer alveolar hücreleri, renal glomerül visseral epitel hücreleri, böbrek proksimal tübül hücreleri, adrenal korteksin tüm hücreleri, leydig hücreleri, aktive makrofajlar, arterioller çevreleyen fibroblastlar, bronşiyal ve koroid pleksus epitel hücreleri, hepatositler gibi vücutta birçok farklı hücrede sentezlenir (Ciğer 2010).

İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (İnsulin Like Growth Factor) (IGF); Esas olarak hepatosit ve fibroblastlarca sentezlenir ve fibroblast proliferasyonunu uyarmada PDGF ile birlikte çalışır. İnsülin benzeri büyüme faktörü sistemi; IGF'lerden (IGF-I ve IGF-II), IGF bağlayıcı proteinlerden (IGFBP-1-6) IGF reseptörlerinden (tip1 ve tip2 IGF reseptörü) oluşmaktadır (Huang 2010). IGF'ler, büyüme hormonunun anabolik ve mitojenik etkilerinin çoğunun ortaya çıkmasına aracı olan bir peptid ailesidir. Proinsüline yapısal olarak benzerlik gösterir. Bu nedenle her iki IGF molekülü insülin reseptörlerine düşük affinite ile bağlanır. Diğer yandan da yapısal farklılıklar insülinin IGF bağlayan proteinlere bağlanmasını önler. Protein yapıdaki IGF'ler hücre membranını geçemediklerinden etkilerini membrandaki reseptörlerine bağlanarak göstermektedirler (Keleş ve Türkeli 2005).

IGF-1 Reseptörü: Yapısal ve fonksiyonel olarak insülin reseptörüne benzer. IGF1 reseptörü IGF1'i insüline göre 100 kat daha fazla affinite ile bağlar (Keleş ve Türkeli 2005).

IGF-2 Reseptörü: IGF alım ve yıkımına aracılık eder. Aynı zamanda IGF-2'ye bağlanarak IGF-2'nin hücre yüzeyinden hücre içerisine girmesini sağlayarak IGF-2'nin lizozomlarda yıkımına neden olur. IGF-2 reseptörü, IGF-2'yi IGF-1'den 100 kat daha fazla affiniteyle bağlar (Keleş ve Türkeli 2005).

Normal prostat epitelyal hücreleri tip 1 IGF reseptörleri içerirler ve büyüme için IGF-1'e bağlanırlar. İn vivo ve in vitro deneyler IGF-1'in, hem androjene bağlı hem de androjen bağımsız prostat kanseri hücre hattının proliferasyonunu arttırdığını göstermektedir (Cohen et al., 1991) ve IGFBP-3, IGF-1'in büyümeyi arttırıcı etkisini azaltmaktadır (Cohen et al., 1994).

IGF-1 hücre proliferasyonunu stimüle eder, normal ve malign prostat kanserini içeren birçok doku tiplerinde hücre ölümünü inhibe etmektedir (Allen 2007).

Tablo 1. Büyüme faktörleri, kaynağı ve görevleri

Büyüme Faktörü	Kaynağı	Görevleri
Trombosit-kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)	Trombositler, makrofajlar endotel hücreleri, düz kas hücreleri	Fibroblast proliferasyonu nötrofil ve makrofaj kemotaksisi ve proliferasyonu, anjiogenez
Transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β)	Trombosit, nötrofil, lenfosit, makrofaj, birçok doku ve hücre	Fibroblast proliferasyonu, kemotaksis indirekt anjiogenez, diğer büyüme faktörlerinin etkilerine yardım
Epidermal büyüme faktörü (EGF)	Trombositler, tükürük, idrar, anne sütü, plazma	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu ve granülasyon dokusu oluşumunun uyarılması
Transforme edici büyüme faktörü alfa (TGF- α)	Aktive makrofajlar, trombosit, keratinosit, bazı dokular	EGF'ye benzer
İnterlökinler (IL-1,2)	Makrofaj, lenfosit, birçok doku ve hücre	Fibroblast proliferasyonu, kollajenaz, nötrofil kemotaksisi
Tümör nekroz faktörü (TNF)	Makrofaj, mast hücresi, T lenfositler	Fibroblast proliferasyonu
Lökosit kaynaklı büyüme faktörü (LDGF)	Makrofaj, mast hücresi T lenfositleri	Bağ dokusu hücreleri için kemoatraktan ve mitojen
Bağ dokusu büyüme faktörü (Connective tissue growth factor, CTGF)	Endotel hücreler, fibroblastlar	Bağ dokusu hücreleri için kemoatraktan ve mitojen
Fibroblast büyüme faktörleri (FGF)	Beyin, pitüiter bez, makrofaj diğer doku ve hücreler	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu, matris depolanmasını uyarır, anjiogenez, yara kontraksiyonu
Keratinosit büyüme faktörleri (Keratinocyte growth factors, KGF)	Fibroblastlar	Epitel hücre proliferasyonu
İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1)	Karaciğer, plazma, fibroblastlar	Sülfat proteoglikanlar ve kollajen sentezini, fibroblast proliferasyonunu uyarır
İnsan büyüme hormonu (Human growth hormone, HGH)	Pitüiter bez, plazma	Anabolizma, IGF-1'i uyarır
İnterferonlar (IFN)	Lenfositler, fibroblastlar	Fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezinin inhibisyonu

(Çiğer 2010).

İn vitro çalışmalar FGF ve IGF prostat büyümesini arttırdığını, TGF β ve IGFBP-3'ün prostatik epitelyal büyümeyi durdurduğunu veya apoptozisi azalttığını göstermektedir (Mullan 2006).

Transforme Edici Büyüme Faktörü α (Transforming Growth Factor α) (TGF α); Hem EGF hem de VGF (vaccinia)'ye benzer. Biyolojik etkilerini EGF reseptörlerine bağlanarak gösterir. Mezenşimal, epitelyal, endotelyal hücre büyümesini ve endotel hücre kemotaksisini uyarır (Ciğer 2010).

2.3. Transforme Edici Büyüme Faktörü β [TGF β (Transforming Growth Factor β)];

TGF β "nodal", "aktivin", BMP (kemik morfogenezik protein) ve AMH (antimüllerian hormon)'yi de kapsayan, doku homeostazının sürdürülmesi ve embriyonik gelişimin kontrolünde önemli rolleri olan geniş bir sitokin ailesinin başlıca üyesidir.

Birçok hücre tarafından sentezlenen TGF β hücre bölünmesi (proliferasyon), farklılaşması, adhezyon, morfogenez, ekstraselüler matriks oluşumu ve programlı hücre ölümü gibi çeşitli hücrel süreçlerin kontrolünü sağlamaktadır. Bu büyüme faktörünün sinyalizasyon yolu birçok farklı yollar ile etkileşerek hücrenin homeostazını sağlamaktadır (Siegel and Massague 2003, Ikeguchi 2005).

Aktivinler, hipofiz fonksiyonunun hormonal düzenleyicileri olarak tanımlanmıştır ve bundan bağımsız olarak, kurbağalarda mezodermin oluşumuna katılırlar. Kemik tamir faktörleri olarak tanımlanan kemik morfogenezik proteinleri (BMPs), Drosophila'da vücut yapısının dorsal bölümünün gelişiminde rol alan bir ajandır (Soyöz 2007).

TGF β üretimi genetik kontrol altındadır (Qi et al., 2009). TGF β hücre farklılaşmasında, embriyogenezis, damarlanma, göç ve hücre döngüsü düzenlemesinde rol alır. TGF β 1, yapısal olarak düzenleyici proteinler ile ilişkili olan bir ailenin üyesidir ve TGF β 'nın 5 izoformu vardır (TGF- β 1, 2, 3, aktivin/inhibin ve BMP).

Trombositler (20 mg/kg) ve kemikten (200 µg/kg) kaynaklanan disülfid bağları ile bağlı 12,5kDa ve 25kDa'luk iki subunitten oluşan TGF β1 en çok bulunan izoformdur (Cheifetz et al., 1992, Grainger et al.,1999). TGF β1 organizmada birçok yerde görev alan bir büyüme faktörüdür. TGF β ilk kez, yumuşak agarda sıçan fibroblastlarının koloni oluşturmasında TGF α'nın etkilerine sinerjistik etki gösteren bir faktör olarak bulunmuştur. Araştırıldığında bu sitokin ile ilgili birçok fonksiyon bulunmuş ve kıkırdak uyarıcı faktör, diferansiasyon inhibe edici faktör, dokudan deriye büyüme faktörü gibi birçok isim verilmiştir. Ama bunların hiçbiri TGF β1'in fonksiyonlarını tam olarak karşılamamaktadır (Breen et al., 1994, Rosen et al., 1998).

Urist (2002), 1965'te yaptığı bir çalışmada kıkırdak ve kemik oluşumunun demineralize kemik matrikste arttığını göstermiş ve çalışmalarıyla TGF β ailesini teşhis etmiştir. TGF β, dimerik polipeptid bir yapıya sahip büyüme faktörü ailesinin (BMP ve Aktivin) üyesidir. Tüm büyüme faktörleri, sistein rezüdüleri ile korunan bir grubu paylaşırlar ve sistein için ortak olan küme intramoleküler disülfid bağlarıdır. Hepsinin aynı prekürsör yapısı vardır. Bu yapıda hidrofobik bir sinyal sekansı, bir prodomain ve matür C-terminal domaini bulunmaktadır. Aslında vücutta bulunan epitelyal, endotelyal, hemopoietik, nöral ve konnektif doku hücreleri TGF reseptörlerine sahiptir.

TGF β; hücrelerin farklılaşması ve proliferasyonunda, embriyonik dönemde, yara iyileşmesinde ve anjiogenezis regülasyonunda önemli rol oynar. TGF β1 kondrosit, osteoblast, osteoklast ve mezenkimal prekürsör hücreler gibi iskelet sistemine spesifik hücrelerin çeşitli tiplerinin proliferasyonunu düzenlemektedir. TGF β'yı osteoblastlar üretir ve kemik matriksinde depolar. Vücutta TGF β'nın çoğu kemik tarafından üretilmekte olup, osteoblastlarda çok sayıda TGF β reseptörü bulunmaktadır (Gerard et al., 2000).

Çok fonksiyonlu peptidlerin oluşturduğu ailenin bir üyesi olan TGF β gelişimin hemen hemen her sürecinde rol alır. Normal gelişim sürecinde ve patolojik durumlarda TGF β sinyal yolağı mekanizmaları incelenmiştir. Ateroskleroz, böbrek, karaciğer, akciğerin fibrotik hastalığı ve çeşitli dokulardaki kanserlerde TGF β yapımında artış veya azalmalar meydana gelmektedir. *TGF β* gen mutasyonunda, TGF β ile ilişkili intrasellüler moleküller veya reseptörler, özellikle kanser ve

herediter hemorajik telenjektazi gibi hastalıkların patogeneğinde rol oynar (Çakı 2008).

Kromozom 19q13'de lokalize olan, 7 ekzon 6 intron içeren (Li et al., 2008), insan *TGF β1* geni hem immün hem de non-immün hücrelerde üretilen bir sitokindir (Tamizifar et al., 2008). *TGF β*'nin izoformları arasında benzerlik, en fazla C-terminal domaininde kendini gösterir (%64-82). Dokuz adet sabit sistein kalıntısı dört bağ yapar ve bunların aralarında bir disülfid bağı vardır (Verrecchia and Mauviel 2002). *TGF β1* polimorfizmi birçok hastalıkta araştırılmıştır (Tamizifar et al., 2008). *TGF β1* geninin tek nükleotid polimorfizmleri (SNPs) vardır. Bunlar; *C-509T* (rs1800469: -1348C/T), *G-800A* (rs1800468: -1639G/A), *C-988A* (rs1800820) promotor bölgede, *T+29C* (L10P, rs1982073: *Ex1-327T/C*), *G915C* (P25R, rs1800471: *Ex1-282C/G*) ekzon 1'de, *T263I* (rs1800472: *Ex5-73C/T*) ekzon 5'te bulunur. Literatüre göre; *-509T* alleli, *TGF β1* plazma seviyesinin artmasıyla *-509C* allelinden daha fazla ilişkiliyken, kodon 10'daki lösin yerine prolin geçmesine neden olan *T+29C* polimorfizmi *TGF β1* konsantrasyonunun artmasıyla sonuçlanır (Grainger et al., 1999, Kang et al., 2006, Wei et al., 2010).

Ayrıca *TGF β1* tümör oluşumunda, progresyon, infiltrasyon ve metastaz oluşumunda görevli sinyal yollarında rol oynar ve hücre siklusunda G1'den S fazına geçişte blok olabilen en önemli büyüme faktörlerinden biridir (Li et al., 2008). Hücre döngüsünün kontrolünde ve karsinojenik süreçte anahtar rol oynar (Derynck 2001). *TGF β* sinyalizasyon yolunun bozulması kanserde büyük önem taşır. *TGF β*, proapoptotik etkisiyle epitelyal hücre proliferasyonu ve inflamatuvar cevabını baskılayarak tümör supresör gen gibi davranır. Ayrıca tümöral dokularda onkogenik özellikler sergileyerek, kontrolsüz proliferasyon, metaplazi, displazi, aplazi, metastaz gibi olayların gerçekleşmesine de aracılık eder (Vural 2010).

Prostat kanserinde *TGF β1* hücre büyümesini inhibe eder ve tip 1 kollajenin üretimini arttırır (Collins et al., 1996, Klingler et al., 1999).

2.3.1. TGF β Reseptör Yapısı ve Sinyal Reseptörleri

TGF β ailesi üyeleri serin/treonin kinaz aktivitesine sahip reseptörlere bağlanarak hücrel hareketlerini başlatırlar. Serin/treonin kinazlar tip 1 ve tip 2 reseptör olarak iki alt familyaya ayrılırlar. Reseptör bağlama yöntemleri üzerine moleküler ağırlıklarına dayanarak ayırt edilirler. Tip 1 reseptör 500 aminoasitten oluşur ve 55 kDa moleküler ağırlığında, Tip 2 reseptör ise 570 aminoasitten oluşur ve 70 kDa moleküler ağırlığındadır. Farklı türlerin oluşturduğu her alt familya farklı ligandlı yapısal ve fonksiyonel benzerliklerine göre gruplandırılan üyeler içerebilirler (Rich et al., 2001).

TGF β reseptörleri kısa ekstrasellüler bölgeleri olan, bir tek transmembran bölgesi ve kinaz aktiviteli daha uzun sitoplazmik bölgeden oluşan glikoproteinlerdir. Tip 1 ve tip 2 reseptörlerin her ikisi de serin/treonin kinazların canonical sekanslarıyla uyumlu bir kinaz bölgesine sahiptir ve reseptör tipleri yapısal olarak ayırt edilebilir. Örneğin, tip 1 reseptörü daha kısa ekstrasellüler domaine sahiptir ve bir GS domaini kinaz bölgesine doğrudan komşudur. Bu 30 aminoasit bölgesi TTSGSGSG sekansında glisin (G), serin (S), treonin (T) bölgesi içerirler.

TGF β sinyalizasyonunda tip 1 ve tip 2 reseptörler en önemli reseptörler olmasına rağmen, aksesuar reseptör olarak adlandırılır (Rich et al., 2001).

Endoglin ve betaglikan olarak da adlandırılan TGF β tip 3 reseptörleri (T β RIII) TGF β 'nin ilk iki tip reseptörlerine bağlanmasını kolaylaştırır. TGF β , tip 2 reseptörün membran dışı bölgesine, sonra da tip 1 reseptörüne bağlanır (Vural 2010).

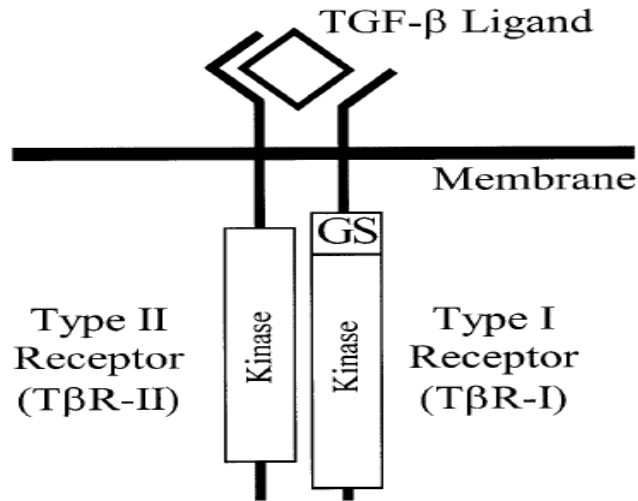
Prostat kanseri hücrelerinde, TGF β 1 sinyal yolunda bazı defektler vardır ve bu yolun yenilenmesi hücre proliferasyonunu inhibe eden in vitro tümör büyüme faktörleri baskılayabilir (Wikstrom et al., 2001, Guo and Kyprianou 1999).

2.3.2. TGF β Reseptör Sinyali

Hücrede inaktif pro-peptid şeklinde sentezlenen TGF β , latent TGF β -bağlayan proteinler (LTB β) ile kompleks oluşturarak latent (inaktif) TGF β formunda salgılanır. Pro-peptidin N-terminalinde "latency associated protein" (LAP)

olarak adlandırılan bir dizi bulunur. Latent TGF β 'nin yapısından LTBP ve LAP proteinlerinin serin proteazlar aracılığı ile uzaklaştırılması (veya LAP'ın konformasyonel değişimi) sonucu aktif TGF β oluşur. TGF β sinyalizasyon yolunun aktivasyonu, ligandın reseptörlerine bağlanması ile başlatılır (Massague 1998).

Bir kaskad şeklinde ilerleyen TGF β sinyalizasyon yolunun aktivasyonu, ligandın tip 2 reseptöre bağlanması ile başlatılır. TGF β tarafından kompleks oluşması, reseptörlere bağlanmaya ihtiyaç duyar çünkü tip 1 reseptör, tip 2 reseptör yokluğunda liganda bağlanamaz. TGF β , tip 2 reseptörün membran dışı bölgesine, sonra da tip 1 reseptörüne bağlanır. Böylece aktiflenmiş T β RI sitozolde bulunan Smad proteinleri fosforiller. Oluşan ligand/reseptör kompleksi ikişer T β RI ve T β RII içeren bir heterotetramer komplekstir (Rich et al., 2001).



Şekil 1. TGF β reseptör kompleksinin yapısı (Rich J.N et al., 2001)

Tip 2 reseptörün tip 1 reseptörü fosforlamasıyla, tip 1 ve tip 2 reseptör kompleksleri başlatılır. Tip 2 reseptör çeşitli serin ve treonin rezidüleri üzerinde otofosforlanır. Tip 2 reseptör aktivitesi için Ser213 ve Ser409'un fosforilasyonu gerekir. Ser416'nın fosforilasyonu ise reseptör kinaz aktivitesine engel olmaktadır. Tip 2 reseptör aktiflendiğinde ve iki reseptör yakınlaşmayı bitirdiğinde, tip 1 reseptörün GS bölgesindeki serinler fosforlanır. Tip 2 reseptör tek başına sinyal iletmede yetersizken, tip 1 reseptörün fosforilasyonu intrasellüler sinyal kaskadını başlatmak için yeterlidir. Ayrıca Ser165'in fosforilasyonu TGF β sinyalizasyonunu

düzenleyebilir çünkü bu rezidünün mutasyonu TGF β indüklenme yollarını farklı etkiler (Rich et al., 2001).

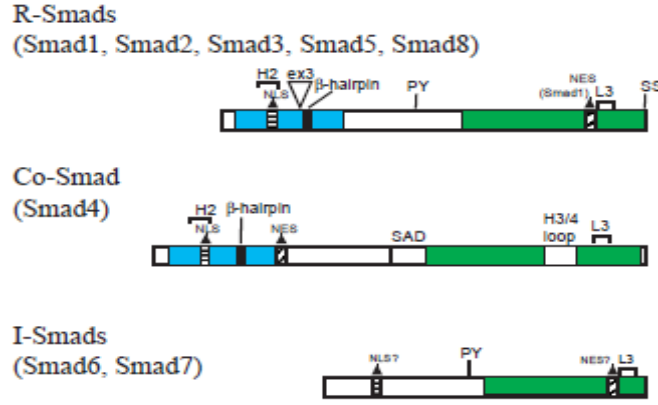
2.3.2.1. SMAD Proteinleri

Smadlar, insan genlerinin transkripsiyonunda TGF β 'nın artması için gerekli olarak bilinmesine rağmen, ilk olarak omurgasızlardan orjin almıştır. Örneğin, Mad (mother against decapentaplegic) *Drosophila*'da teşhis edilmiştir. Mad homoloğu *C.elegans*'da tanımlanmış ve sma-2, sma-3, sma-4 olarak adlandırılmıştır. Smalar ve Mad önemli homolojiye sahiptirler. Daha sonra omurgalılarda homologları teşhis edilmiş TGF β sinyalizasyonunda fonksiyonları bulunmuş ve böylece Smadlar olarak adlandırılmıştır (Rich et al., 2001).

2.3.2.2. SMAD'ların Yapısı ve Sınıflandırılması

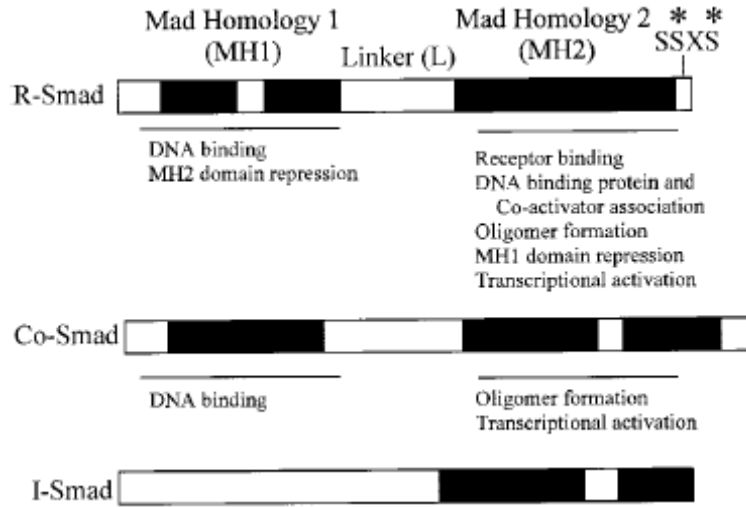
Moleküler ağırlıklarına göre 42-60 kDa aralığında en az 9 farklı SMAD vardır (Rich et al., 2001). Yapısal ve fonksiyonel olarak SMAD'lar üç ayrı alt gruba ayrılırlar:

- Reseptör ile regüle edilen SMAD'lar (R-Smadlar); TGF β ailesi reseptör kinazlarının direkt substratlarıdır.
- Common-partner SMAD'lar (Co-Smadlar); R-Smadlarla birleşerek sinyal iletimine katılan SMAD'lar.
- İnhibitör SMAD'lar (I-Smadlar); Diğer iki grubun sinyal fonksiyonunu inhibe eden antagonist SMAD'lardır (Itoh et al., 2000).



Şekil 2. SMAD ailesi. Smadların 3 alt familyası. MH1 bölgesi mavi, MH2 bölgesi yeşille gösterilmiştir. MH2 yapısında α -heliks 2, L3 Loop, H3\4 loop, b-saç tokası yapısı ve Smad2’de ekzon 3 yapısı, NLS, NES motifleri ve R-Smadlarda SSXS motifi ile fosforillenmiş serin rezidüleri (Moustakas 2001).

R-Smad ve Co-Smadlar MH1 ve MH2 bölgelerinden oluşan, prolinden zengin bağlantı bölgeleriyle birleşmiş, Mad homoloji domainine sahiptirler (Rich et al., 2001).



Şekil 3. SMAD’ların yapısı
(Rich J.N et al., 2001)

MH1 ve MH2 bölgelerinin her ikisi de Smad moleküllerinin aktivitesi için önemli fonksiyonlara sahiptir. MH1 bölgesi, DNA’nın bağlanmasına izin verirken (Kim, 1997), MH2 bölgesi hetero ve homo-oligomerlerin dönüşümüne izin verir (Hata et al., 1997, Meersseman et al., 1997, Zhang et al., 1997). MH2 bölgesi Co-

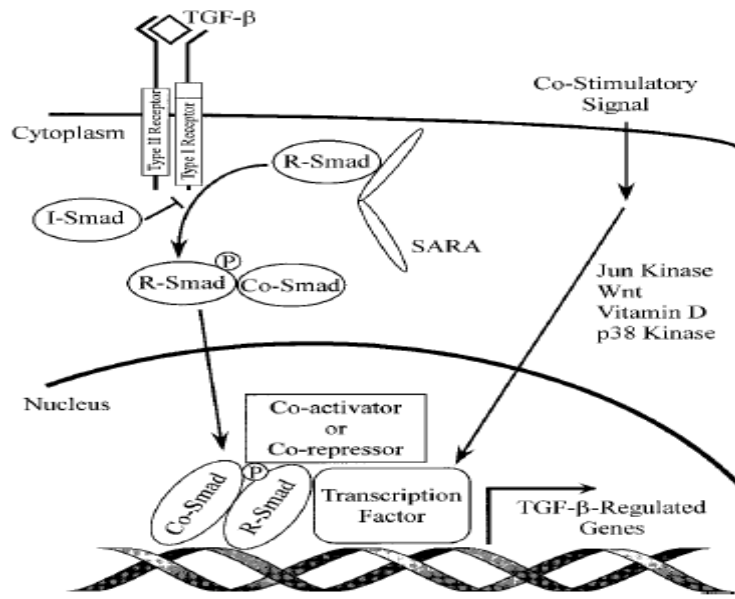
Smad'lerde transkripsiyonu arttırmada efektör bölge olarak rol oynar (Baker and Harland, 1996, Liu et al., 1996).

R-Smad, Smad 1, 2, 3, 5, 8 olmak üzere 5 çeşittir. RSmad olarak adlandırılan Smad 2 ve 3 TGF β , Smad1, 5 ve 8 ise BMP ve AMH'nin sinyalizasyon yolunda yer almakta ve ligand/reseptör kompleksleri tarafından fosforillenerek aktiflenmektedir (Baker and Hardland 1996, Chen et al., 1996, Eppert et al., 1996, Graff et al., 1996, Nako et al., Zhang et al., 1996). Smad4 (Co-Smad) RSmad proteinlerinin etkisi ile fosforillenmektedir. Smad proteinlerinden Smad6 ve Smad7 Smad-reseptör veya Smad-Smad etkileşimlerini inhibe ederek, TGF β yolunun kontrolüne katılırlar. Smad proteinlerinin yapısında bir bağlaç bölge tarafından birleştirilen iki globüler bölge bulunmaktadır. N-terminalindeki MH1 bölgesi 5'-AGAC-3' nükleotid dizisini tanıyarak DNA'ya bağlanır (Rich et al., 2001, Vural 2010). Bağlaç bölgesinde ubiquitin ligazın bağlandığı ve fosforilasyon yerleri bulunmaktadır. Bu bölge ayrıca diğer sinyalizasyon yolların TGF β yolu ile kesiştiği noktadır. C-terminalindeki MH2 bölgesi Smad reseptör, Smad-Smad ve Smad-transkripsiyon faktör etkileşimlerine aracılık eder. MH2 bölgesinde aktif T β RI tarafından fosforile edilen, Ser-X-Ser aminoasit dizisi bulunmaktadır. Ser-X-Ser motifin fosforilasyonu sonrası RSmadlar Smad4'ün MH2 bölgesine bağlanırlar. RSmad/Smad4 kompleksin oluşması ile TGF β yolunun sitoplazmik kolu sonlandırılır ve kompleks nukleusa aktarılarak TGF β yolunun nukleer kolu başlatılmış olur. RSmad/Smad4 kompleksi nukleoporinlerin aracılığı ile sitozolden nukleusa aktarılır. Nukleusta RSmad/Smad4 kompleksi 300-400'e yakın genin promotor bölgesine bağlanarak transkripsiyonu regüle eder. RSmad/Smad4 kompleksin DNA'ya bağlanması çeşitli kofaktörler tarafından kolaylaştırılır ve kontrol edilir. Bu kofaktörler, komplekse çeşitli koaktivatör ve korepresörlerin bağlanmasını da kolaylaştırarak transkripsiyonun regulasyonunu sağlar. Öte yandan, Smad/Smad/DNA etkileşimini kontrol eden kofaktörlerin aktivasyonu veya ekspresyonu TGF β -Smad dışında birçok sinyalizasyon yolu tarafından kontrol edilir (Vural 2010).

Böylece TGF β -Smad yolu hücredeki diğer sinyalizasyon yolları ile karşılıklı etkileşime girer. TGF β -Smad yolundaki sinyal iletisinin durdurulması defosforilasyon ya da ubiquitinizasyon mekanizmaları ile gerçekleştirilir. TGF β ,

reseptörlerinden ayrılınca, RSmad proteinleri hızla defosforile edilerek inaktive olur ve sitozole aktarılır. Defosforilasyon mekanizmasına ek olarak, RSmad'ların bağlaç bölgesine ubiquitin ligaz enzimin etkisi ile ubiquitin bağlanır. Ubikitin bağlanmış RSmadlar ise proteozomal yıkılıma uğrar. RSmadların ubiquitinizasyonu, hücrede TGF β 'ya olan cevabın derecesini ve süresini kontrol eder (Vural 2010).

Son yıllarda TGF β yoluna Smad proteinlerinin aracılık etmediği birçok başka sinyalizasyon yolu ile etkileştiği öne sürülmüştür. Bu yollar arasında Ras-ERK-1 (extracellular regulated kinase), MAPK (mitogen-activated protein kinase), PI3K (phosphoinositide-3 kinase)-Akt, PP2A (protein phosphatase) ve Rho-proteinleri yer almaktadır (Vural 2010).



Şekil 4. TGF- β /SMAD yolu
(Rich J.N et al., 2001)

TGF- β ailesi üyesi kendi tip 2 reseptörüne bağlanır. Tip 2 reseptör ile tip 1 reseptör birleşir bu da reseptör kompleksin oluşumuna yol açar ve tip 1 reseptörün fosforilasyonu gerçekleşir. Aktif hale geçmiş olan tip 1 reseptör, reseptör ile düzenlenen SMAD'ları (R-SMAD) fosforile eder, fosforlanmış bu proteinler Smad4 ile birleşirler ve hücre çekirdeğine taşınırlar. Hücre çekirdeği içinde SMAD

kompleksi, DNA bağlanma proteini ile birleşir ve bu kompleks hedef gendeki özel bölgelere bağlanarak transkripsiyonu aktive eder.

2.3.3. TGF β 'nın Fonksiyonları

2.3.3.1. Antiproliferatif Etkisi

Normal hücrelerde proliferasyonu baskılar ve farklılaşmayı hızlandırır. Epitelyal ve hematopoetik hücrelerde TGF β antiproliferatif etkilidir ve hücre siklusunu G1 fazında durdurur (Siegel and Massague 2003). Hücre siklusunun ilerlemesi için gerekli olan sikline bağımlı kinazların (CDK) inhibitörleri olan p21 ve p15 proteinlerinin sentezini aktifleştirir (Pardali et al., 2000, Seoane et al., 2001).

2.3.3.2. Proapoptotik Etkisi

Henüz aydınlatılmamış bir mekanizma ile apoptozu indükler. Prostat karsinomu hücrelerinde TGF β 'nın başlattığı apoptoz sürecine ARTS (apoptoz regülatörü) ve DAXX (fas reseptörlerine bağlanan) proteinlerinin de katıldığı bildirilmiştir (Vural 2010).

2.3.3.3. Anti-İnflamatuar Etkisi

TGF β bilinen en güçlü immün-supresif moleküllerden biridir. TGF β immün sistemin efektör T ve sitostatik T hücrelerini baskılayarak düzenleyici T-reg hücrelerini ise aktifleyerek immün ve inflamatuvar cevabı baskılamaktadır (Li et al., 2006).

2.3.4. TGF β Kaskadındaki Değişiklikler ve Kanser

TGF β 'nın kanserde bifazik karmaşık bir rolü vardır. Kanser gelişiminin erken evresinde tümör supresör gibi davranırken karsinogenezisin geç fazında tümör geliştirici olarak davranmaktadır. Örneğin; çoğu tümörler immün sistem fonksiyonunu baskılama, ekstrasellüler matrisde TGF β 'nın üretimini uyararak anjiyogenezisin artmasını yönünde bir etkiye sahiptir (Rich et al., 2001).

TGF β yolunun komponentleri 3 ana hedefleri olan TGF β reseptörleri, Smad'lar ve hedef genler ile kanseri değiştirebilir.

2.4. Kanserde Reseptör Mutasyonları

Kanser çeşitlerinin çoğu TGF β reseptöründe mutasyonlara sahiptir. Özellikle tip 2 reseptör mutasyonu en yaygın olanıdır. (Rich et al., 2001) Tip 2 reseptör geninde meydana gelen delesyon veya duplikasyonlar, reseptörün inaktivasyonuna veya kinaz özelliğinin kaybına neden olurlar. Tip 2 reseptör mutasyonları ve yanlış eşleştirme tamir defektli tümörler arasındaki ilişki reseptör defektleri için olası mekanizmayı gösterir. Kolon, mide, akciğer, karaciğer, safra kesesi, over kanserlerinde tip 2 reseptör mutasyonları sık görölmektedir (Rich et al., 2001, Vural 2010). Tip 2 reseptör poliadenin tekrarlarından oluşan bir kodlama bölgesine sahiptir ve burada mutasyonlar sıklıkla çerçeve kayması (frameshift) mutasyonları ve reseptör bozulması sonucu oluşur (Rich et al., 2001).

Tip 1 reseptör geninde oluşan çerçeve kayması ve yanlış anlamlı (missense) mutasyonlara over, özafagus, baş/boyun kanserlerinde sık rastlanılmaktadır. Ayrıca her iki reseptör genin promotör bölgesindeki mutasyonlar prostat, mesane, akciğer ve mide kanserlerinde görülür (Vural 2010).

2.5. Kanserde Smad'ların Mutasyonu

TGF β yolundaki kilit rollerine rağmen kanserde RSmad genlerinde mutasyonlara daha az rastlanır (Vural, 2010). İnsan Smad4'e dahil olan DPC4 (deleted in pancreatic cancer 4) geni pankreatik karsinomada çoğunlukla mutasyona uğrayan veya silinen bir gendir. Smad4 metastatik kolon kanserlerinde ve kolorektal kanserlerde sıklıkla mutasyona uğramaktadır. Ayrıca, Smad2 kolorektal tümörlerde genellikle değişmektedir ve son fare modellerinde Smad3 kaybı % 100 sıklıkta metastatik kolon kanserini geliştirmektedir (Rich et al., 2001). Smad6 ve Smad7 genlerinin artmış ekspresyonu da endometrium ve tiroid kanserine neden olabilmektedir (Cerutti et al., 2003, Dowdy et al., 2005).

2.6. Polimorfizm

İnsanlardaki kalıtsal genetik kusurlar (mutasyonlar), kimyasalları aktive eden ve detoksifiye eden enzimlerin yapısını ve ifade edilme düzeyini (karsinojen metabolizmasını) etkileyen kişisel genetik farklılıklar ve DNA hasarının onarım kapasitesini etkileyen polimorfik/genetik değişiklikler, kanser riskini arttırabilen başlıca genetik faktörlerdir.

Polimorfizmlere mutasyonlardan daha sık rastlanır. Toplumda %1'den daha yüksek sıklıkta bulunan genetik çeşitlilik tipi ya da gen seçenekleri polimorfizm olarak tanımlanır. Genomda binlerce aday polimorfik genin bulunması ve genomunda bu farklılıkları taşıyan kişilerin kanser gelişimine olan duyarlılıklarının etkilenebilecek olması pek çok araştırmacıyı bu çalışma alanına sürüklemektedir.

Evrimsel süreçte, tüm türlerin farklılaşmasından ve bir türün üyeleri arasındaki farklılıklardan genetik çeşitlilik sorumludur. Polimorfizm, genlerde genetik çeşitliliğe yol açan bu değişikliklerden birisidir. Genomdaki nükleotid tekrar sayısı değişiklikleri çoğunlukla tek nükleotid polimorfizmi olmak üzere ikili, üçlü olabilmektedir. Nadir olarak da kromozom düzeyinde bazı yapısal düzenlenmeler şeklinde genetik polimorfizmler görülmektedir (Ekmekçi ve ark., 2008).

TGF-β1 geninin promotor bölgede lokalize olan 3 varyasyonu tespit edilmiştir bunlar;

-988C/A (rs1800820), -800 G/A (rs1800468) ve -509 C/T (rs1800469)'dir (He 2010, Qi et al., 2009).

TGF β1 geni polimorfizmine çeşitli kanser türlerinde ve bazı hastalıklarda bakıldığında, çalışmalar doğrultusunda şu sonuçlar elde edilmiştir:

TGF β1 geni polimorfizminde 167 gastrik kanserli hasta 193 kontrol grubundan oluşan bir çalışmada, *TGF β1 C-509T* ve *TGF β1 T869C* polimorfizmini Çin popülasyonunda kritik risk faktörü olabileceğini söylemişlerdir (Li et al., 2008).

İranlı ülseratif kolitli 155 hasta ve 139 kontrol grubunun katıldığı bir çalışmada *TGF β1 -509C/T* polimorfizmi istatistiksel olarak anlamlı değilken, aynı

hastalarda *TGF β1 -800G/A* polimorfizmi anlamlı bulunmuştur (Tamizifar et al., 2008).

Başka bir çalışmada 157 kolorektal kanserli hastalarda, 117 kişiden oluşan kontrollerle karşılaştırıldığında; *TGF β1 -509T/C* ve *VEGF 936T/C* polimorfizmine rastlanmazken, aynı hasta gruplarında *EGF 61A/G* polimorfizmini istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır (Wu et al., 2009). Aksine Chung et al. (2006) *C-509T* polimorfizminin Kore populasyonunda kolorektal kanser riskini azaltabileceğini söylemişlerdir.

Çin populasyonunda hepatoselüler karsinomalı 575 hastada ve 299 kontrol grubunda yapılan diğer bir çalışmada *TGF β1 -509C/T* polimorfizmi, kanserin gelişimi ve artmış kansere yakalanma riski ile ilişkili bulunmamıştır (Qi et al., 2009).

Primer nefrotik sendromdaki tubulointestinal hasarında *TGF β1 -509C/T* polimorfizminin araştırıldığı bir çalışmada 98 hasta ve 128 kontrol grubu yer almaktadır. T alleli ve CT+TT genotip sıklığı primer nefrotik sendromlu hastalarda kontrolden daha yüksek bulunmuştur (Li et al., 2010).

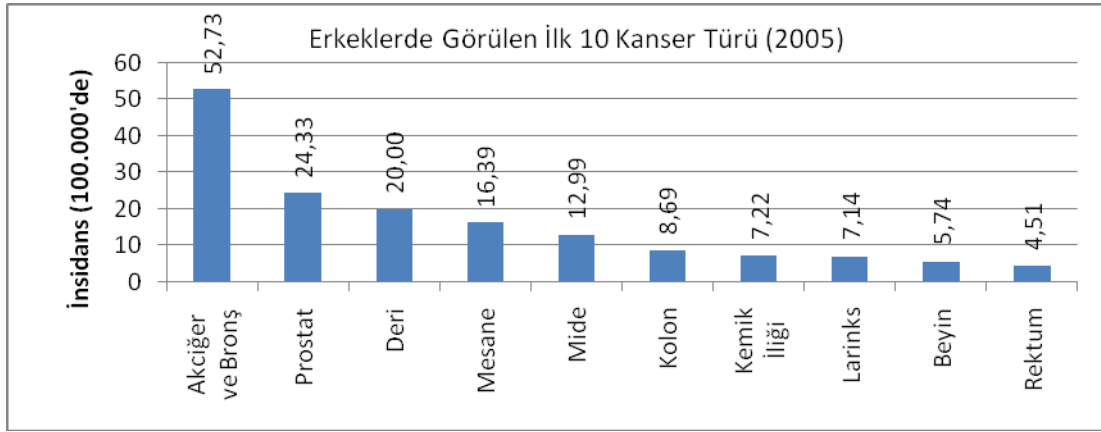
Wei et al. (2007)'un yaptığı çalışma 108 nazofaringeal karsinomalı hasta ve 120 kontrol grubundan oluşmaktadır. *TGF β1 -509C/T* ve *869 T/C* olmak üzere 2 polimorfizmi Çin populasyonunda araştırmışlardır. *-509T* ve *869C* allelleri taşıyıcıları, taşıyıcı olmayanlarla karşılaştırıldığında hastalarda anlamlı yüksek bulunmuştur. Genotip analizine bakıldığında da yine *-509T/869C* haplotipi hastalarda yüksek bulunmuştur.

2.7. Prostat Kanseri ve Benign Prostat Hiperplazisi

Prostat adenokarsinomu erkeklerde en sık görülen kanser türüdür ve kanser ölümlerinde 2. sıradadır. Prostat kanseri tipik olarak 50 yaş üstü erkeklerin hastalığıdır. (Robbins et al., 2009). Genç erkeklerde nadirdir ve görülme sıklığı yaşla birlikte artar (Sculz 2005). Histolojik olarak 30 yaşından önce prostat kanseri asla görülmez ve 80 yaşından sonra da erkeklerin %90'ında prostat kanserinin yayılması artar (Paolone 2010). Ancak artmış riske sahip erkeklerde, prostat kanseri taramasına 40 yaşında başlanması önerilir. Yaşa göre uyarlanmış prostat kanseri sıklığı Birleşik

Devletlerde 100000’de 69’dur. Ellili yaşlardaki erkeklerde %20 olan görülme sıklığı, 70-80 yaşları arasında yaklaşık %70’e çıkar. Hastalığın görülme sıklığında ırksal farklılıklar da vardır. Örneğin Asyalılarda nadirdir. Yaş, ırk, aile öyküsü, hormon düzeyleri ve çevresel etkiler prostat kanserine neden olabilmektedir. Hastalık Birleşik Devletlerde zencilerde çok daha sıktır ve mortalitesi oldukça yüksektir (Robbins et al., 2009). 2005 yılında Sağlık Bakanlığı’nın yaptığı araştırmaya göre Türkiye’de de erkeklerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada prostat kanseri görülmektedir.

Tablo 2. Türkiye’de 2005 yılında yapılan istatistiğe göre erkeklerde kanserlerin görülme sıklığı



<http://www.saglik.gov.tr/TR/belge/1-7179/kanser-istatistikleri.html>

Prostat kanserinin genetiği ve moleküler patogenezi üzerinde çalışılmıştır. Amerikalı beyaz erkeklerin yaklaşık %10’unda prostat kanseri gelişimi, prostat kanser yatkınlık genlerinin germ-line kalıtımına bağlanmıştır. Bu ailesel olguların üçte birinde prostat kanseri ile ilgili genler kromozom 1q24-25’de (*HPC1* geni) ve X kromozomunda belirlenmiştir (Robbins et al., 2009, Anafarta ve ark., 2007). Birinci dereceden bir akrabasında prostat kanseri olan erkeklerde risk, ailesel öyküsü olmayanlara göre 2 kat fazla iken, iki akrabasında prostat kanseri olanlarda 5 kat fazladır (Robbins et al., 2009). Ailesinde meme kanseri olanların da prostat kanserine yakalanma riskinin fazla olduğu belirtilmiştir. Erken yaşlardaki kanserlerde ailesel etkinin fazla olduğu, ileri yaşlarda ise sporadik geliştiği belirtilmektedir. Bu nedenle prostat kanserinde aile hikayesi olan erkeklerde PSA (prostat spesifik antijen) taramalarına erken başlanması (40-45 yaş) önerilmektedir (Anafarta ve ark., 2007).

Ayrıca, kromozom 8p, 10q, 13q, 16q'da prostat karsinogenezinde erken dönemde kaybolan kanser baskılayıcı genler saptanmıştır (Robbins et al., 2009).

Yağlı diyetle beslenenlerde cinsiyet hormonu oluşumu fazla olduğundan sirkülasyonda dolaşan androjen seviyesi de yükselmektedir. Bu durum prostat kanser etiyojisinde önemli yer tutmaktadır. Yağdan zengin diyet hem in vivo hem in vitro ortamda prostat kanser etiyojisinde etkilidir (Anafarta ve ark., 2007).

Yüksek kalsiyum düzeyi de artmış prostat kanseriyle ilişkilidir. Güçlü bir antioksidan olan likopen ve selenyum prostat kanserinden koruyucu etkiye sahiptir. Selenyum düzeyinin yüksek olması prostat kanseri gelişme riskini yaklaşık yarı yarıya azaltmaktadır. Bir diğer antioksidan E vitamini hücre zarlarını serbest radikal hasarına karşı korur. E vitamini prostat kanseri hücrelerinde proapoptotik ve antiproliferatif etkiye sahiptir (Anafarta ve ark., 2007).

Yeni tarama yöntemleri biyolojik davranışı zayıf, hayatı tehdit etmeyen sessiz prostat kanserlerinin, klinik prostat kanserlerine erişmeden teşhise imkan verdiği için, son on yılda bu hastalığın insidansında yükselme olmuştur. Amerika'da erkeklerde en sık görülen kanser prostat kanseridir ve 2004 yılında 230110 yeni prostat kanser vakası ve 29900 bu kansere bağlı ölüm beklenmektedir. Avrupa'da, prostat kanseri erkek malignitelerinin %11'ini, erkek ölümlerinin de %9'unu oluşturmaktadır. Japonya'da ise kanser ölümleri içerisinde 7. sırada yer almaktadır (Anafarta ve ark., 2007).

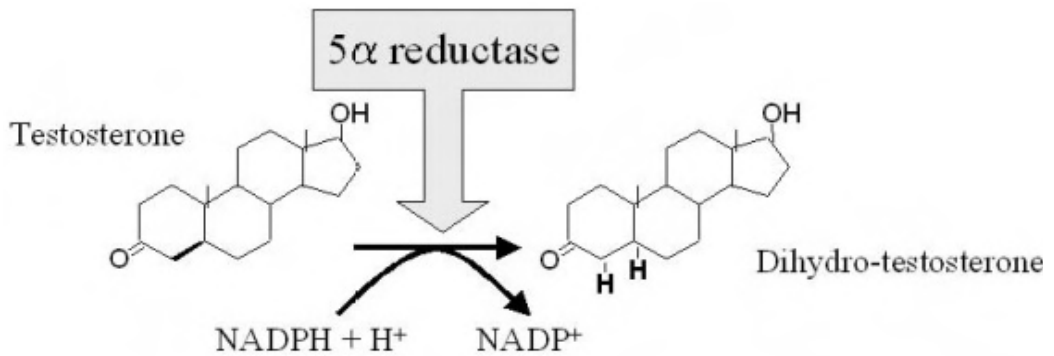
Prostat kanserinin biyolojik davranışı çok farklı olup, pek çoğu yavaş ilerleyen sessiz kanserlerdir. Sosyoekonomik durumu kötü ve kırsal alanda yaşayanlar genellikle ileri evrede doktora başvurdukları için, lokalize prostat kanseri oranı sosyoekonomik durumu iyi olan ve şehirde yaşayanlara göre daha az görülmektedir (Anafarta ve ark., 2007).

Benign prostat hiperplazisi ile prostat kanseri arasındaki ilişki araştırıldığında, her iki patolojinin de yaşlılarda görülmesi ve androjene bağımlı olması gibi ortak yönlerinin olmasına karşın kesin bir etkileşim tespit edilmemiştir.

Prostat, her türlü hormondan etkilenmekle beraber androjenler, prostatik hücre proliferasyonu ve gelişiminde en önemli hormondur. Serum testosteron seviyeleri kişiden kişiye değişiklik göstermekte, ayrıca serum testosteron seviyesiyle prostat kanseri gelişme riski arasında bir ilişki bulunmamaktadır. Ancak bazı çalışmalarda kanser tanısı alanlarda serum testosteron seviyesinin düşük olması kötü prognostik faktör olarak belirtilmektedir. Yaşlanmayla birlikte serum testosteron seviyesi azalırken prostat kanseri insidansı da artmaktadır.

Benign prostat hiperplazisi; prostatik stromal ve epitelyal hücrelerde, periüretal bölgede oldukça iyi sınırlı büyük nodüllerin oluşumu ile sonuçlanan hiperplazi ile karakterizedir. Elli yaş üzeri erkeklerde oldukça sık görülen bir hastalıktır. Yeterince büyük olduğunda nodüller üretral kanalı basıya uğratıp daraltarak kısmen veya bazen tam üretra obstrüksiyonuna neden olmaktadır (Robbins et al., 2009).

Histolojik nodüler hiperplazi bulguları, 40 yaşındaki erkeklerin yaklaşık %20'sinde izlenebilir, bu sıklık 60 yaş için %70 ve 70 yaş için %90'a çıkmaktadır. BPH oldukça önemli bir sorun olup Birleşik Devletlerdeki 50 yaş üstü beyaz erkeklerin yaklaşık %30'unda orta şiddette veya şiddetli semptomlara neden olmaktadır. BPH oluşumunun, androjenlerin etkisine bağlı olduğu yönündeki bulgular oldukça kuvvetlidir. Örneğin, prepubertal kastrasyon, nodüler hiperplazi BPH gelişimini engellemektedir (Robbins et al., 2009).



Şekil 5. Testosteronun 5α redüktaz enzimi ile dihidrotestosterona dönüşümü (Sculz 2005).

Epidemiyolojik çalışmalarda klinik BPH için değişik risk faktörleri bildirilmesine rağmen, standart bir tanımlamanın yapılamamış olması nedeni ile sonuçlar şüpheli karşılanmaktadır (Robbins et al., 2009). Ancak çalışmalar ile iki faktörün kesin olarak gerekliliği ortaya konulmuştur. Bunlar yaş ve testosteron hormonudur (Griffiths 1998). Ayrıca östrojen hormonu BPH gelişiminde testosteron hormonuyla sinerjistik rol oynar (Mullan 2006).

Bazı çalışmalarda ailesel ve genetik faktörlerin rol oynadığı iddia edilmiştir. Erken yaşta fazla miktarda doku rezeksiyonu yapılan hastaların birinci derece akrabalarında prostat ameliyatı olma riski kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Etnik faktörler, prostat kanserinin aksine klinik BPH'da siyah ve beyaz ırklarda aynı oranlarda seyretmektedir.

Testosteronun bir metaboliti olan dihidrotestesteron (DHT), prostatik büyümenin en iyi aracısıdır. Dolaşımdaki testosterondan 5 α -redüktaz tip 2 enziminin etkisiyle prostatta sentezlenir. 5 α -redüktaz tip 2 enzimi en çok DHT sentezinin ana bölgesi olan stromal hücrelerde bulunur. Sentezlenen DHT otokrin yolla stromal hücreleri veya parakrin yolla epitelyal hücreleri etkiler. Her iki hücre türünde, DHT nükleer androjen reseptörlerine bağlanır ve epitelyal ve stromal hücreler için mitojenik etkili büyüme faktörlerinin transkripsiyonunu uyarır. Testosteron da androjen reseptörlerine bağlanabilir ve büyümeyi uyarabilir, androjen reseptöründen daha yavaş ayrıldığı için DHT 10 kat daha fazla etkili olmaktadır (Robbins et al.,2009).

Serum testosteron düzeylerinde yaşla birlikte azalma olurken, prostatik DHT düzeyleri ve androjen reseptör sayısı yaşla birlikte artmaktadır. Ayrıca 5 α -redüktaz enzim eksikliği olan psödohermafroditlerde prostat kanserine rastlanmaz. Etnik gruplar arasında prostat kanseri insidansında değişiklikler görülmesi, DHT seviyesiyle ilgili olabilir. Örneğin, Japonlarda 5 α -redüktaz aktivitesi azalmış olarak saptanmaktadır (Anafarta ve ark., 2007).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Prostat kanseri tanısıyla TUR-P (prostatın transüretal rezeksiyonu) yapılan 20 PCa'lı ve tanısı patolojik olarak kanıtlanmış 35 BPH'lı hastaların kan ve doku örnekleri Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Üroloji Servisinden Haziran 2010-2011 tarihleri arasında alınmıştır. Kanlar 2cc alınmış ve EDTA'lı tüplerde +4°C'de saklanmıştır. Doku örnekleri ise yaklaşık 25 mg alınarak steril şişelerde -20°C'de saklanmıştır.

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

- PCR tüpü (Corning 3745)
- Eppendorf Tüpü (Corning 3622)
- Mavi Pipet Ucu (Boeco 1-200-80-2)
- Sarı Pipet Ucu (Boeco 1-110-81-1)
- DNA Saklama Kutusu (Biosigma N40.4111)
- Tüp Sporu (LP N40.4005)
- UV spektrofotometre (Shimadzu UV 1700, Japan)
- Mikrosantrifüj (Heraus Biofuge D-37520, Germany)
- Otoklav (Hirayama HVE-50 Japan)
- Etüv (Binder, Türkiye)
- Buzdolabı (Arçelik-8188 NF, Türkiye)
- Derin Dondurucu (Beko 8460 T, Türkiye)
- Kar Makinası (Hoshizaki FM-120EE, EU)
- Bidistile Su Cihazı (Millipore Simlicity 185, France)
- Su Banyosu (Termal Labaratuvar Aletleri 820-3, Türkiye)
- Laminar Hava Kabini (ESCO, Türkiye)
- Vorteks (Nüve NM 110, Türkiye)
- Termal Cyclor (Peqlab Primus 96, Germany)
- Hassas Terazi (Shimadzu AX200, Japan)
- Mikrodalga Fırın (Beko MD 1505, China)
- Manyetik Karıştırıcı (IKA RH-KT/C, Brazil)

- Elektroforez Tankı (Scie-plas V-GEL, UK)
- Elektroforez Güç Kaynağı (Consort EV215, Belgium)
- Translüminatör (Ultra Lum. Inc., Türkiye)
- PCR cihazı

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- EDTA (Sigma E-5134)
- Etanol (Riedel-de Haen 32221)
- Etidyum Bromid (Sigma E-1510)
- Pure Gene Blood Core Kit B (Qiagene 1042606)
- Pure Link Genomik DNA Kit (İnvitrogen K1820-02)
- Taq DNA Polimeraz (Fermentas FE-EP0402)
- Agaroz (Serva 11380)
- dNTP Mix (Promega U1515)
- 10xPCR Buffer (Fermantes EP0402)
- Bidistile Su (Sigma W-3500)
- Molecular weight marker DNA (Promega G 2101)
- Restriksiyon enzimi Bsu36I (Promega R682A)
- TGF β 1 için;

Forward primer: 5' CAG-ACT-CTA-GAG-ACT-GTC-AG 3'

Reverse primer: 5' AGA-ACG-GAA-GGA-GAG-TCA-GG 3'

3.3. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

1. 1.5 ml'lik ependorf tüplere RBC (red blood cell) lysis solüsyonundan 900 μ l eklendi.
2. +4°C'de saklanan kanlar 10 dakika oda sıcaklığında bekletilen tüplerden alınan 300 μ l kan örneği üzerine konuldu.
3. Tüpler oda sıcaklığında vişne çürüğü rengi olana kadar 3-4 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sırasında tüpler en az iki kez alt üst edildi.

4. 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı ve beyaz kan hücrelerinin dibeye çökmesi sağlandı.
5. Yaklaşık 10 µl pellet kalana kadar süpernatant atıldı ve tüpler kurutma kağıdına ters çevrilerek kalan süpernatantın akması sağlandı.
6. Dipte kalan pelletin dağılması için şiddetli vorteks yapıldı.
7. Tüplere 300 µl cell lysis solüsyonu eklendi.
8. Hücreleri lizis etmek için pipetaj yapıldı ya da 10 saniye şiddetli vorteks yapıldı.
9. Tüplere 100 µl protein precipitation solüsyonu ilave edildi. Kırmızı taneler kaybolana kadar şiddetli vorteks yapıldı.
10. 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı.
11. Başka temiz ependorflara 300 µl izopropanol eklendi ve ağızları kapatılarak bekletildi.
12. Dipteki protein çökeltisinin karışmamasına özen gösterilerek süpernatant alındı ve izopropanolün bulunduğu ependorf tüplere eklendi.
13. DNA görülür hale gelene kadar yaklaşık 50 kez alt üst edildi. Tüpler 13000 rpm'de 1 dakika santrifüjlendi. Süpernatant atıldı ve tüpler kurutma kağıdına ters çevrilerek kalan sıvının akması sağlandı.
14. 300 µl %70'lik alkol tüplere eklendi ve birkaç kez alt üst edilerek DNA'nın yıkanması sağlandı. Tüpler 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
15. Süpernatant atıldı ve tüpler kurutma kağıdına ters çevrilerek kalan sıvının akması sağlandı. Açık havada yaklaşık 5 dakika kurutmaya bırakılıp alkol buharlaştırıldı.
16. Tüplere 50-200 µl DNA hidratasyon solüsyonu eklenip çalkalanarak elle çözünmesi sağlandı. Ağızları parafilmle kapatılıp etiketlendikten sonra 1 gece oda ısısında inkübe edildi ve +4°C'de saklandı.

3.4. Dokudan DNA İzolasyonu

1. PCa'lı ve BPH'lı dokular bistüriyle kıyma haline getirildikten sonra steril mikrosantrifüj tüplere yerleştirildi.
2. Tüplere 180 µl pure link genomic digestion buffer ve 20 µl proteinaz K eklendi.
3. Lizis tamamlanana kadar 55°C'de su banyosunda 1 gece inkübasyona bırakıldı ve ara ara vortekslendi.
4. Lizat maksimum hızda oda sıcaklığında 4 dakika santrifüjlendi.
5. Süpernatant yeni steril mikrosantrifüj tüpe transfer edildi. Lizata 20 µl RNase A eklenip vortekslendi. Oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildi.
6. 200 µl pure link genomic lysis/binding buffer eklenip vortekslendi.
7. Lizata 200 µl %96-100'lük etanol eklenip 5 saniye vortekslendi.
8. Pure link spin column'a mikrosantrifüj tüpteki lizat aktarıldı. 13000 rpm'de 2 dakika santrifüjlendi.
9. Collection tüp içinden spin column çıkarılıp yeni collection tüpe yerleştirildi. Daha sonra DNA yıkama aşamasına geçildi.
10. Yıkama buffer I'den 500 µl spin column'a eklendi. Oda sıcaklığında 13000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.
11. Collection tüp tekrar çıkarılıp atıldı ve yeni collection tüpe spin column yerleştirildi. 500 µl yıkama buffer II, spin column'a eklenip maksimum hızda 3 dakika oda sıcaklığında tekrar santrifüjlendi.
12. Spin column steril 1.5 µl ependorf tüpe yerleştirilerek 100 µl purelink genomic elution buffer, spin column'a ilave edildi. 1 dakika oda sıcaklığında inkübe sonrasında maksimum hızda 2 dakika oda sıcaklığında santrifüj yapıldı ve DNA'nın ependorf tüpe geçmesi sağlandı. Tüplerin ağzı parafilmlelenerek etiketlenerek +4°C'de saklandı.

3.5. *TGF β C509T* Polimorfizminin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Yöntemi ile Çoğaltılması

3.5.1. Kodon Bölgesinin Çoğaltılması İçin Kullanılan Primer Dizileri

C-509T polimorfizminin gözleendiği bölgenin çoğaltılmasında kullanılan primerlerin nükleotid dizisi aşağıda verildiği şekildedir. Primerler uluslararası yayınlarda doğrulanmıştır.

Forward primer: 5'CAG-ACT-CTA-GAG-ACT-GTC-AG 3'

Reverse primer: 5'AGA-ACG-GAA-GGA-GAG-TCA-GG 3'

3.5.2. PCR Koşulları

Toplam PCR hacmi 20 µl olacak şekilde tablo 3'teki bileşenler sırası ile 0.5 ml'lik tüplere ilave edildi. PCR karışımının hazırlanma işlemlerinin hepsi buz üzerinde soğukta ve steril kabin içerisinde yapıldı.

Forward primer: Primer 38,6 nmol hacminde ticari olarak temin edilmiştir. Üzerine 386 µl dH₂O eklenerek 100 pmol stok primer elde edildi. 90 µl dH₂O üzerine 10 µl stok primerden eklenerek 10pmol/ µl primer hazırlandı.

Reverse primer: Primer 35,2 nmol hacminde ticari olarak temin edilmiştir. Üzerine 352 µl dH₂O eklenerek 100 pmol stok primer elde edildi. 90 µl dH₂O üzerine 10 µl stok primerden eklenerek 10pmol/ µl primer hazırlandı.

Tabloda 3'te bir hasta için PCR master miks için hesaplama verilmiştir. Olası pipetaj hataları için 10 numunelik PCR için 12 numune master miks hazırlanmıştır.

Tablo 3. PCR karışımının hazırlanması

	1x
DNA (30-100 ng)	5 µl
Forward primer	1 µl
Reverse primer	1 µl
Buffer (10x)	2,5 µl
dNTP mix	1 µl
MgCl ₂	1 µl
Taq DNA polimeraz (5U/µl)	0,2 µl
dH ₂ O	13,3 µl
	Toplam 25 µl

Her bir dNTP'den 50 µl alınarak üzerine 800 µl dH₂O eklenerek dNTP karışımı hazırlandı.

Taq polimeraz eklendikten sonra hiç vakit kaybetmeden tüp içine konulan bileşenlerin iyice karışması için pipetaj yapıldı. 0,2 ml'lik PCR tüplerine 20 µl reaksiyon karışımı dağıtılarak, her bir tüpe 5 µl DNA ilave edildi ve yeniden pipetleme yapıldı. Tüpler hızlı santrifüj yapıldıktan sonra PCR cihazına yerleştirildi. PCR basamakları tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. PCR basamakları

Initialization step (İlk denatürasyon)	95°C	3 dakika	
Denaturation step Denatürasyon	95°C	1 dakika	35 döngü
Annealing step (Primer Bağlanması)	62.5°C	45 saniye	
Extension step (Sentez, uzama)	72°C	1 dakika	
Final elongation (Son uzama)	72°C	10 dakika	

3.5.3. PCR Ürünlerinin Kontrolü

PCR ürünlerinin olup olmadığını kontrol etmek amacıyla PCR tüpünden alınan 10 µl örnek 2 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak agaroz jelde 120 voltta 45 dakika yürütüldü. Süre sonunda jeldeki bantlar UV ışık altında görüntülenerek fotoğraflandı. Bant paterni gözlenen örnekler için enzim kesimi yapıldı. PCR ürünü oluşumu gözlenmeyenlerde yeniden PCR yapıldı. Bazı kuyucuklarda ise DNA gözlenemediğinden ilgili numuneler için yeniden DNA izolasyonu ve PCR yapıldı.

3.5.4. Enzim Kesim Reaksiyonu

PCR ürünlerinde, *C-509T* polimorfizm bölgesinin Bsu36I enzimi kullanılarak kesimi yapıldı (Tablo 4).

Tablo 5. Enzim kesim reaksiyonu

7,3 µl	dH ₂ O
2 µl	RE 10X Buffer
0,2 µl	Asetilenmiş BSA
0,5 µl	Bsu36I
Toplam:10 µl	

Enzim kesimi için toplam hasta sayısı kadar tüpte hazırlanan Bsu36I enzim kesim reaksiyonu vortekslendi ve ardından hızlı santrifüj yapıldı. Her bir tüpe 10'ar µl dağıtıldı, üzerine hastaların her birinden alınan kan ve doku örneklerinden elde edilen 10 µl PCR ürünü DNA eklendi ve hızlı santrifüjlenerek etüvde 37°C'de 3-4 saat inkübe edildi.

3.5.5. Bsu36I Enzim Kesim Ürünlerinin Değerlendirilmesi ve Kontrolü

- %3'lük agaroz jel hazırlandı.
- Bsu36I kesim enzimi ile kesilen PCR ürününden 10 µl ve yükleme tamponundan 2 µl alınarak karıştırılıp %3'lük agaroz jeldeki kuyulara yükleme yapıldı.
- Kesim ürünleri, DNA moleküler marker (50 bp marker) ile birlikte yürütüldü.

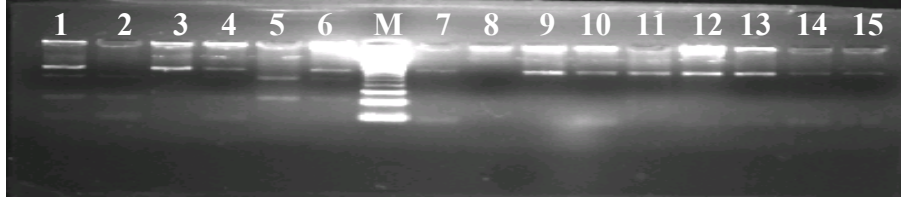
- Yürütme sonrası jel üzerindeki bantlar, translüminatör cihazında değerlendirildi ve fotoğraflandı.

Bsu36I enzim kesim ürünü;

CC 230, 106 bp yabancı tip,

CT 336, 230, 106 bp heterozigot mutant,

TT 336 bp homozigot polimorfik uzunluğundaki bantlar agaroz jel elektroforezde gösterilerek elde edilmiştir.



Resim 1. *TGF β 1 C-509T* polimorfizminin PCR ürününün Bsu36I enzimi ile kesildikten sonra agaroz elektroforezinde görüntüsü. 1, 4 ve 6 numara heterozigot mutant, 2 ve 5 yabancı tip, 3 numaralı hasta ise homozigot polimorfik. M marker (50 bp), 7-15 PCR ürünü

3.6. Araştırmada Kullanılan İstatiksel Yöntemler

Bu çalışmanın istatistiksel analizi, SPSS 13.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

Genotip ve allelerin görülme sıklığının gruplararası farklılıklarının değerlendirilmesinde Ki kare, McNemar, Kruskal Wallis ve Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Prostat kanserli hastaların kayıtlarına bakıldığında, genelinin gleason score'u 3+3, bir hastanın 4+4 ve diğer bir hastanın da 4+5'ti.

Sağlık durumu

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid PCa	20	36,4	36,4	36,4
BPH	35	63,6	63,6	100,0
Total	55	100,0	100,0	

Kan örneklerindeki genotip dağılımı

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid CC	15	27,3	27,3	27,3
TT	11	20,0	20,0	47,3
CT	29	52,7	52,7	100,0
Total	55	100,0	100,0	

Doku örneklerindeki genotip dağılımı

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid CC	11	20,0	20,0	20,0
TT	6	10,9	10,9	30,9
CT	38	69,1	69,1	100,0
Total	55	100,0	100,0	

PCa'lı ve BPH'lı hastaların yaş dağılımı

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 46,00	1	1,8	1,8	1,8
50,00	1	1,8	1,8	3,6
54,00	1	1,8	1,8	5,5
55,00	1	1,8	1,8	7,3
56,00	3	5,5	5,5	12,7
58,00	2	3,6	3,6	16,4
59,00	4	7,3	7,3	23,6
63,00	1	1,8	1,8	25,5
65,00	1	1,8	1,8	27,3
66,00	6	10,9	10,9	38,2
67,00	2	3,6	3,6	41,8
68,00	3	5,5	5,5	47,3
69,00	5	9,1	9,1	56,4
70,00	4	7,3	7,3	63,6
71,00	2	3,6	3,6	67,3
73,00	5	9,1	9,1	76,4
76,00	3	5,5	5,5	81,8
77,00	1	1,8	1,8	83,6
79,00	1	1,8	1,8	85,5
81,00	1	1,8	1,8	87,3
82,00	2	3,6	3,6	90,9
83,00	4	7,3	7,3	98,2
85,00	1	1,8	1,8	100,0
Total	55	100,0	100,0	

Dokuda belirlenen genotiple yaş arasındaki ilişki

	Doku	N	Mean Rank
Yaş	CC	11	32,50
	TT	6	22,75
	CT	38	27,53
	Total	55	

	Yaş
Kruskal Wallis Test	1,552
Df	2
Asymp. Sig.	,460

PCa'lı ve BPH'lı hastaların tamamının dokuda belirlenen genotiple yaş arasındaki ilişkiye bakıldığında istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır ($p>0,05$).

Kanda belirlenen genotiple yaş arasındaki ilişki

Kan		N	Mean Rank
Yaş	CC	15	32,07
	TT	11	28,77
	CT	29	25,60
	Total	55	

	Yaş
Kruskal Wallis Test	1,648
Df	2
Asymp. Sig.	,439

PCa'lı ve BPH'lı hastaların tamamının kanda belirlenen genotiple yaş arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır ($p>0,05$).

BPH'lı hastaların doku genotip dağılımı ile yaş arasındaki ilişki

Doku BPH		N	Mean Rank
YaşBPH	CC	7	23,36
	TT	4	13,50
	CT	24	17,19
	Total	35	

	Yaş BPH
Kruskal Wallis Test	2,850
Df	2
Asymp. Sig.	,241

BPH'lı hastaların dokudaki genotip dağılımıyla yaş arasında istatistiksel olarak ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$).

PCa'lı hastaların doku genotip dağılımı ile yaş arasındaki ilişki

Doku PCa	N	Mean Rank
YaşPCa CC	4	9,75
TT	2	10,25
CT	14	10,75
Total	20	

	Yaş PCa
Kruskal	
Wallis Test	,093
Df	2
Asymp. Sig.	,954

PCa'lı hastaların dokudaki genotip dağılımıyla yaş arasında istatistiksel olarak ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$).

BPH'lı hastaların kan genotipi ile yaş arasındaki ilişki

Kan BPH	N	Mean Rank
YaşBPH CC	9	21,00
TT	7	19,57
CT	19	16,00
Total	35	

	Yaş BPH
Kruskal	
Wallis Test	1,668
Df	2
Asymp. Sig.	,434

BPH'lı hastaların kan genotip dağılımıyla yaş arasında istatistiksel olarak farklılık yoktur ($p>0,05$).

PCa'lı hastaların kan genotip dağılımı ile yaş arasındaki ilişki

Kan PCa	N	Mean Rank
YaşPCa CC	6	11,92
TT	4	9,63
CT	10	10,00
Total	20	

	Yaş PCa
Kruskal Wallis Test	,506
Df	2
Asymp. Sig.	,776

PCa'lı hastaların kan genotip dağılımıyla yaş arasında istatistiksel olarak farklılık yoktur ($p>0,05$).

PCa'lı hastalarla BPH'lı hastaların yaşları arasındaki ilişki

Sağlık durumu	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Yaş PCa	20	28,50	570,00
BPH	35	27,71	970,00
Total	55		

	Yaş
Mann-Whitney U	340,000
Wilcoxon W	970,000
Z	-,175
Asymp. Sig. (2-tailed)	,861

Gruplar arasında yaş bakımından farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$).

Kanda genotip dağılımının hastalık üzerine etkisi

Sağlık Durumu	Kan			Total	
	CC	TT	CT		
PCa	Count	6	4	10	20
	Expected Count	5,5	4,0	10,5	20,0
	% within sağlık durumu	30,0%	20,0%	50,0%	100,0%
	% within kan	40,0%	36,4%	34,5%	36,4%
BPH	Count	9	7	19	35
	Expected Count	9,5	7,0	18,5	35,0
	% within sağlık durumu	25,7%	20,0%	54,3%	100,0%
	% within kan	60,0%	63,6%	65,5%	63,6%
Total	Count	15	11	29	55
	Expected Count	15,0	11,0	29,0	55,0
	% within sağlık durumu	27,3%	20,0%	52,7%	100,0%
	% within kan	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

	Value	Df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	,130	2	,937
Likelihood Ratio	,129	2	,937
Linear-by-Linear Association	,125	1	,724
N of Valid Cases	55		

Kanda genotip dağılımının hastalık üzerine etkisi istatistiksel olarak bulunamamıştır ($p > 0,05$).

Dokuda genotip dağılımının hastalık üzerine etkisi

			Doku			Total
			CC	TT	CT	
Sağlık durumu	PCa	Count	4	2	14	20
		Expected Count	4,0	2,2	13,8	20,0
	% within sağlık durumu	20,0%	10,0%	70,0%	100,0%	
	% within doku	36,4%	33,3%	36,8%	36,4%	
BPH		Count	7	4	24	35
		Expected Count	7,0	3,8	24,2	35,0
	% within sağlık durumu	20,0%	11,4%	68,6%	100,0%	
	% within doku	63,6%	66,7%	63,2%	63,6%	
Total		Count	11	6	38	55
		Expected Count	11,0	6,0	38,0	55,0
	% within sağlık durumu	20,0%	10,9%	69,1%	100,0%	
	% within doku	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

	Value	Df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	,028	2	,986
Likelihood Ratio	,028	2	,986
Linear-by-Linear Association	,004	1	,950
N of Valid Cases	55		

Dokuda genotip dağılımının hastalık üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$).

BPH' lı hastaların doku ve kan genotip dağılımının karşılaştırılması

		Kan BPH		Toplam
		Hasta	Normal	
Doku BPH	Hasta	25	3	28
	Normal	1	6	7
Toplam		26	9	35

	Value	Df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	16,490	1	,000		
Continuity Correction(a)	12,798	1	,000		
Likelihood Ratio	15,094	1	,000		
Fisher's Exact Test				,000	,000
Linear-by-Linear Association	16,019	1	,000		
McNemar Test				,625	
N of Valid Cases	35				

McNemar testine göre BPH'lı hastaların doku ve kanlarında tespit edilen genotipler birbirleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

PCa'lı hastaların doku ve kan genotip dağılımının karşılaştırılması

		Kan PCa		Total
		Hasta	Normal	
Doku PCa	Hasta	14	2	16
	Normal	0	4	4
Total		14	6	20

	Value	Df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	11,667(b)	1	,001		
Continuity Correction(a)	7,872	1	,005		
Likelihood Ratio	12,378	1	,000		
Fisher's Exact Test				,003	,003
Linear-by-Linear Association	11,083	1	,001		
McNemar Test				,500(c)	
N of Valid Cases	20				

McNemar testine göre PCa'lı hastaların dokularında belirlenen genotipler yine aynı hastaların kanlarında belirlenen genotipler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

5. TARTIŞMA

Bir sitokin olan TGF β 1, hücre proliferasyonunu ve apoptosisi artırır. Meme kanseri, kolorektal kanser, gastrik kanser, karaciğer kanseri, akciğer kanseri, prostat kanseri ve diğer kanserleri de içeren çeşitli kanserlerde anahtar rol alır (Qi et al., 2009). *TGF β 1*'in farklı polimorfizmleri arasında, *C-509T* polimorfizmi en çok çalışılan polimorfizmlerinden biridir ve farklı kanserlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Prostat kanserli 351 hasta ve benign prostat hiperplazili 221 hastanın, 303 kontrol grubu ile karşılaştırıldığı bir çalışmada, *TGF β 1* geni kodon 10 T/C polimorfizminde belirlenen TC veya TT genotipinin, PCa riskini 1.62 kat ve BPH riskini 1.51 kat daha arttırdığı bulunmuştur (Li et al., 2004). Aynı kodonda İran popülasyonunda yapılan diğer bir çalışmada TT genotipli erkekler CC genotipli erkeklerle karşılaştırıldığında, 1.67 kat daha fazla PCa riskine sahip ve bunların da TC/TT genotipli olanlarının 1.14 kat daha fazla PCa riski taşıdığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada TT genotipli erkekler, CC genotipli erkeklerle karşılaştırıldığında, BPH riskinin 1.54 kat arttığı, bunların TC/TT genotipli olanlarında ise riskin 1.06 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Omrani et al., 2009).

Faria et al. (2007) *TGF β 1* geni Leu10Pro ve Arg25Pro polimorfizmini, 83 prostat kanserli, 92 BPH'lı hasta ve 132 kontrol grubunda araştırmıştır. Leu10Pro genotip sıklığına bakıldığında; C alleli bulunması durumunda PCa görülme riskinin 2.6 kat, BPH gelişiminin 3.6 kat arttığını gözlemişlerdir. Arg25Pro genotip sıklığına bakıldığında ise anlamlı fark tespit etmemişlerdir.

Wei et al. (2010) 16166 kanser hastası ve 19126 kontrol grubundan oluşan meta analiz çalışmasında *TGF β 1* geninin 29. nükleotitte T/C polimorfizmini araştırmışlardır. T/C değişimi lösin aminoasiti yerine prolin aminoasiti oluşur. Çalışmada yabancı tip TT homozigotları, CC veya CT genotipleriyle karşılaştırıldığında farklı organlarda kanser riskini incelemişlerdir. Hastaları Afrikalı, Asyalı ve Avrupalı olmak üzere 3 etnik grupta toplamışlardır. *TGF β 1 T29C* kolorektal kanser, gastrik kanser, akciğer kanseri ve karaciğer kanseri ile ilişkisini istatistiksel olarak saptamamışlardır. Aksine *TGF β 1 T29C* gastrik kanseri

riskini koruyucu etkilerinden dolayı azaltabileceği ile ilişkilendirmişlerdir ancak ilişki anlamlı bulunmamıştır. Bununla birlikte kanser tipi ve etnik kökene bakıldığında, prostat kanseri riskini Asyalılarda anlamlı arttırdığı görülmüştür. Bu ilişki de prostat kanseri için dominant alleller taşıyan modellerde görülmüştür.

İn vivo ve in vitro çalışmalar TGF β 1'in aşırı ekspresyonunun tümör yayılımıyla ilişkili olduğunu göstermektedir. Toland et al. (2004) *TGF β 1* geninin; *T+29C* ve *C-509T* olmak üzere iki polimorfizmini 492 prostat kanserli hasta ve aynı sayıdaki kontrol grubunda gleason score göz önünde bulundurularak değerlendirmişlerdir. Genotip dağılımına bakıldığında *C-509T* polimorfizmi için, TT genotipine sahip olanların 2.4 kat daha fazla geç faz prostat kanseri riskine sahip olabileceklerini; *T+29C* polimorfizmi için, CC genotipine sahip olanların hem geç faz prostat kanseri riskini hem de total prostat kanseri riskini arttırdığı yönünde istatistiksel olarak anlamlılık saptamamışlardır. Analize, yaş ve sigara içme durumu dahil edildiğinde yine *C-509T* polimorfizminin istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlenmiştir. Meyer et al. (2009) da 445 PCa'lı hasta ve 457 kontrol grubunda *TGF β 1 T29C* polimorfizmini çalışmışlardır ve Toland et al.'un sonuçları ile paralellik tespit etmişlerdir.

TGF β 1 C-509T polimorfizminin araştırıldığı başka bir çalışmada 653 prostat kanserli hasta, 1476 kontrol yer almaktadır. TGF β 1 polimorfizmiyle prostat kanseri riski arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamışlardır. Ancak, yüksek grade'li prostat kanserinde TT genotipinin Non-hispanic beyaz erkeklerde hispanic erkeklere göre koruyucu bir etki olabileceğini istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır. Irksal farklılıkların ve yüksek tümör grade'inin polimorfizmde etkili olabileceğini sonucuna varmışlardır (Brand et al., 2008).

TGF β 1 -800 G/A, -509 C/T, Ex1-327 C/T (L10P), Ex1-282 C/G (P25R), Ex5-73 C/T (T263I) polimorfizmleri, Non-hispanic beyaz ırk ve Afrika Amerikalı 1320 prostat kanserli hasta ve 1842 kontrol grubunda araştırılmıştır. TGF β 1 polimorfizminin, hem genotip dağılımında hem de haplotip dağılımında prostat kanseriyle istatistiksel olarak ilişkisinin olmadığını belirtmişlerdir (Kang et al., 2007).

Yapılan farklı çalışmalarda *TGF β 1 -509T* polimorfizminin TGF β 1'in serum seviyesini arttırdığı (Dunning et al., 2003, Grainger et al., 1999, Yamada et al., 1998, Yokoda et al., 2000), *TGF β 1 -800A* polimorfizminin ise TGF β 1 serum seviyesini azalttığını göstermişlerdir (Grainger et al., 1999).

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Promotor bölgede yer alan *TGF β1* geni *C-509T* polimorfizmi 20 PCa ve 35 BPH'lı hasta grubunda çalışılmıştır. Araştırmamızda PCa'lı ve BPH'lı hastaların yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$).

Çalışmamızın sonucunda hem dokuda belirlenen hem de kanda belirlenen genotiple yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Her hasta grubu için ayrı ayrı bakıldığında, BPH'lı hastaların dokuda belirlenen genotipleri ile yaş arasında, kanda belirlenen genotiple yaş arasında ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$). PCa'lı hastaların dokuda belirlenen genotipleri ile yaş arasında, kanda belirlenen genotipleri ile yaş arasında ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$). Doku ve kan örneklerindeki genotip dağılımının hastalık üzerine etkisine bakıldığında, hastalık üzerine etkisi istatistiksel olarak gözlenmemiştir ($p>0,05$). Elde edilen sonuçlar polimorfizmin prostat dokusunda BPH ve kanser oluşumu ile bir ilgisinin olmadığını düşündürmektedir.

BPH'lı ve PCa'lı hastaların ayrı ayrı doku ve kanları karşılaştırılmak istendiğinde CC genotipi (normal) ile CT genotipi (heterozigot) tek grupta değerlendirmeye alındı ve TT (hasta) genotipiyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir fark bulunamadı. Çünkü TT genotipli hastaların sayısının az olmasının istatistiksel anlamlılığını etkilediğini düşünmekteyiz. Çalışmadaki her iki grupta da kan ve dokuda genotip farklılığının olmaması, bu bireylerde hastalığın ortaya çıkmasında farklı etkenlerin rol oynadığını düşündürmektedir.

Çalışmayla ilgili literatür araştırıldığında BPH ve PCa'lı hastaların sadece kanlarında ilgili polimorfizm bölgesinin incelendiği tespit edilmiştir. Kişinin kendi dokusuyla kanındaki DNA'yı karşılaştırmak dünya ve Türk popülasyonunda daha önce çalışılmamıştır. Bu sebeple çalışma gruplarımızın hem kan hem de doku örneklerinde ilk kez ilgili polimorfizm paralel olarak çalışılmıştır. Çalışmada hastaların kanlarından elde edilen genomik DNA kanserli ve BPH'lı dokulardan elde edilen DNA ile karşılaştırılmıştır. Böylece hastalığa genomik DNA'da oluşan polimorfik değişimlerin sebep olduğu gösterilmiştir. Dokudan elde edilen DNA'larda

tespit edilen tümör kaynaklı olduğu düşünölen polimorfik değişikliklerin genomik DNA'dan kaynaklandığı belirlenmiştir.

BPH'lı dört hastanın ve PCa'lı iki hastanın kanında TT homozigot hasta genotipi tespit edilirken dokudaki genotipi CT heterozigottu. Hastanın *TGF β1 C-509T* polimorfizmini doğuştan taşıması ileride kansere yakalanma ihtimalinin yüksek olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, *TGF β1 C-509T* polimorfizmi ile prostat kanseri ve benign prostat hiperplazisi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Bu kişilerde hastalığın ortaya çıkma nedeninin sadece *TGF β1 C-509T* polimorfizminden kaynaklanmayıp TGF reseptörleri ve SMAD'ların çalışma mekanizmasındaki bozukluğun da hasara neden olabileceği düşünmekteyiz. İleriki çalışmalarımızda grupları oluşturan hasta sayılarını arttırmayı ve *TGF β1 C-509T* bölge polimorfizmleri yanı sıra TGF reseptör ve SMAD'ları da incelemeyi planlamaktayız.

ÖZET

Prostat Kanseri ve Benign Prostat Hiperplazili Hastalarda TGF β Polimorfizminin Değerlendirilmesi

Prostat adenokarsinomu erkeklerde en sık görülen kanser türüdür ve kanser ölümlerinde 2. sıradadır. Prostat kanseri (PCa) tipik olarak 50 yaş üstü erkeklerin hastalığıdır. Benign prostat hiperplazisi (BPH) ise prostatik stromal ve epitelyal hücrelerde, periüretral bölgede oldukça iyi sınırlı büyük nodüllerin oluşumu ile sonuçlanan hiperplazi ile karakterizedir.

Büyüme faktörlerinden biri olan TGF β 'nın tüm izoformları prostatta üretilirken TGF $\beta 1$ 'in üretimi en yüksek seviyededir. *TGF $\beta 1$* geni polimorfizmleri arasında farklı kanserlerle ilişkili olduğu düşünülen *C-509T* polimorfizmi en çok çalışılan polimorfizmlerden biridir.

Çalışmamızda, PCa'lı ve BPH'lı hastalarda *TGF $\beta 1$ C-509T* polimorfizmini araştırmayı amaçladık. Yaşları 46 ile 85 arasında değişen 20 PCa'lı ve 35 BPH'lı hastanın doku ve kan örnekleri toplanarak, PCR-RFLP tekniği ile değerlendirildi.

Çalışmamızın sonucunda her iki grup hastanın dokularında ve kanlarında belirlenen genotiple yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Her grup içerisinde doku ve kan örnekleri arasında polimorfizm açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p>0,05$). Son olarak polimorfik genotip PCa ile BPH grupları arasında da anlamlı bir fark ortaya koymamıştır ($p>0,05$).

Elde edilen sonuçlar *TGF $\beta 1$ C-509T* polimorfizminin prostat dokusunda BPH ve kanser oluşumu ile bir ilgisinin olmadığını dolayısıyla bu hastalıkların ortaya çıkmasında farklı etkenlerin rol oynadığını düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Prostat Kanseri, Benign Prostat Hiperplazi, TGF β , Polimorfizm

ABSTRACT

Evaluation of TGF β Gene Polymorphism in Prostate Cancer and Benign Prostatic Hyperplasia Patients

Adenocarcinoma of the prostate is the most common form of cancer in men and the second leading cause of cancer death. Cancer of the prostate (PCa) is typically a disease of men over age 50. Benign prostatic hyperplasia (BPH) is characterized by hyperplasia of prostatic stromal and epithelial cells, resulting in the formation of large, fairly discrete nodules in the periurethral region of the prostate.

All isoforms of TGF β are expressed in prostate cells, but TGF β 1 is expressed at the highest level. One of the most studied *TGF β 1* gene polymorphism is *C-509T* polymorphism which is associated with various types of cancer.

We aimed to investigate *TGF β 1 C-509T* polymorphism in PCa and BPH patients. Prostatic and blood tissues of 20 PCa and 35 BPH patients aging 46 to 85, were taken and evaluated via PCR-RFLP technique.

There is no statistically significant difference was found related to age of patients of polymorphic genotype ($p > 0,05$). When normal and polymorphic phenotypes evaluated no statistical difference was found between blood and tissue samples within groups ($p > 0,05$). There was no statistical difference of *C-509T* polymorphism between PCa and BPH patients ($p > 0,05$).

The results suggest that *TGF β 1 C-509T* polymorphism of prostate tissue is not associated with BPH or occurrence of cancer. So there may be different causes for the emergence of PCa and BPH.

Key words: Prostate Cancer, Benign Prostatic Hyperplasia, TGF β , Polymorphism

KAYNAKLAR

Allen N, Key TJ, Appleby PN, Travis RC, Roddam AW, Rinaldi S et al. Serum insulin-like growth factor (IGF)-1 and IGF-binding protein-3 concentrations and prostate cancer risk: result from the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2007; 16: 6.

Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N, Temel Üroloji. 3. Baskı, Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri, 2007; 740-742, 855-856.

Baker J, Harland RM. A novel mesoderm inducer, Madr2, functions in the activin signal transduction pathway. *Genes Dev*, 1996; 10: 1880–1889.

Barrack ER. TGF β in prostate cancer: a growth inhibitor that can enhance tumorigenicity. *Prostate*, 1997; 31: 61–70.

Başaran A, Tıbbi Biyoloji Ders Kitabı. Eskişehir, Güneş & Nobel Tıp Kitapevleri, 2002; 159-164.

Blume-Jensen P, Hunter T. Oncogenic kinase signaling. *Nature*, 2001; 411:355-64.

Brand CT, Bermejo C, Canby-Hagino E, Troyer DA, Baillargeon J, Thompson MI et al. Association of polymorphisms in TGF β 1 and prostate cancer prognosis. *The Journal of Urology*, 2008; 179: 754-758.

Breen EC, Ignatz RA, McCabe L, Stein JL, Stein GS, JB Lian. TGF β alters growth and differentiation related gene expression in proliferating osteoblasts in vitro preventing development of the mature bone phenotype. *J Cell Physiol*, 1994; 160: 323–335.

Cerutti JM, Ebina KN, Matsuo SE, Martins L, Maciel RM, Kimura ET. Expression of Smad4 and Smad7 in human thyroid follicular carcinoma cell lines. *J Endocrinol Invest*, 2003; 26: 516-21.

Cheifetz S, Bellon T, Cales C, Vera S, Bernabeu C, Massague J et al., Endoglin is a component of the transforming growth factor- β receptor system in human endothelial cells. *J Biol Chem*, 1992; 267: 19027–19030.

Chen Y, Lebrun JJ, Vale W. Regulation of transforming growth factor beta- and activin-induced transcription by mammalian Mad proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996; 93: 12992–12997.

Chung SJ, Kim JS, Jung HC, Song IS. Transforming growth factor- β 1-509T reduces risk of colorectal cancer, but not adenoma in Koreans. *Cancer Sci*, 2007; 98 (3) 401-404.

Çiğer S, Yara iyileşmesi ve büyüme faktörleri. *Derleme* (Erişim tarihi: 3 Nisan 2010).

Cohen P, Peehl DM, Lamson G, Rosenfeld RG, Insulin-like growth factors (IGFs), IGF receptors, and IGF-binding proteins in primary cultures of prostate epithelial cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 1991; 73: 401-7.

Cohen P, Peehl DM, Rosenfeld RG, The IGF axis in the prostate. *Horm Metab Res*, 1994; 26: 81-4.

Collins AT, Robinson EJ and Neal DE. Benign prostatic stromal cells are regulated by basic fibroblast growth factor and transforming growth factor-beta1. *J. Endocrinol*, 1996; 151: 315±322.

Çakı HÇ, Primer kalça artroplastisi uygulanan hastalarda serum tgf-β1 düzeylerinin değişiminin değerlendirilmesi. Baltalimanı Metin Sabancı Kemik Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi III. Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği, İstanbul, (Doç. Dr. Mehmet Akif Kaygusuz), 2008.

Derynck R, Akhurst RJ, Balmain A. TGF-β signaling in tumor suppression and cancer progression. *Nat Genet*, 2001; 29: 117-29.

Doğan A.L, Güç D. Sinyal iletimi mekanizmaları ve kanser. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 2004; 35: 34-42.

Dowdy SC, Mariani A, Reinholz MM, Keeney GL, Spielberg TC, Podratz KC et al. Overexpression of the TGF-beta antagonist Smad7 in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*, 2005; 96: 368-73.

Dunning AM, Ellis PD, McBride S, Kirschenlohr HL, Healey CS, Kemp PR et al. A transforming growth factorh1 signal peptide variant increases secretion in vitro and is associated with increased incidence of invasive breast cancer. *Cancer Res*, 2003; 63: 2610 – 5.

Ekmekçi A, Konaç E, Önen H. Gen polimorfizmi ve kansere yatkınlık. *Marmara Medical J*, 2008; 21(3): 282-295.

Eppert K, Scherer SW, Ozcelik H, Pirone R, Hoodless P, Kim H et al. MADR2 maps to 18q21 and encodes a TGFβregulated MAD-related protein that is functionally mutated in colorectal carcinoma. *Cell*, 1996; 86: 543–552.

Faria PC, Saba K, Neves FA, Cordeiro RE, Marangoni K, Freitas GD et al. Transforming growth factor-beta 1 gene polymorphisms and expression in the blood of prostate cancer patients. *Cancer Investigatio*, 2007; 25: 726–732.

Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. *IARC Cancer Base*, 2004; 5: 2.

Gerard CB, William PS, Harvey FL. Role of transforming growth factor-beta in human disease. *The New England Journal of Medicine*, 2000; 342:1350-1358.

Graff JM, Bansal A, Melton DA. Xenopus Mad proteins transduce distinct subsets of signals for the TGF beta superfamily. *Cell*, 1996; 85: 479–87.

Grainger DJ, Heathcote K, Chiano M, Snieder H, Kemp PR, Metcalfe JC, et al. Genetic control of the circulating concentration of transforming growth factor type beta1. *Hum. Mol. Genet*, 1999; 8: 93–7.

Griffiths K, Cockett ATK, Coffey D, et al: Regulation of prostate growth, in Denis L, Griffiths K, Khoury S, et al (Eds): *Proceedings of the Fourth International Consultation on Benign Prostatic Hyperplasia (BPH)*. United Kingdom, Health Publication Ltd, 1998; 4: 83–128.

Guo Y and Kyprianou N. Restoration of transforming growth factor beta signaling pathway in human prostate cancer cells suppresses tumorigenicity via induction of caspase-1-mediated apoptosis. *Cancer Res*, 1999; 59: 1366±1371.

Güneş HV, *Moleküler Hücre Biyolojisi*. Kaan Kitapevi, Eskişehir, 2003; 290-292.

Hata A, Lo RS, Wotton D, Lagna G, Massague' J. Mutations increasing autoinhibition inactivate tumor suppressors Smad2 and Smad4. *Nature*, 1997; 388: 82–87.

<http://www.saglik.gov.tr/TR/belge/1-7179/kanser-istatistikleri.html> (Erişim tarihi: 6 Haziran 2011).

Huang YJ, Niu J, Liu Z, Wang LE, Sturgis EM, Wei Q. The functional IGFBP7 promoter -418 G>A polymorphism and risk of head and neck cancer. *Mutation Research*, 2010; 702: 32-39.

Ikeguchi M, Iwamoto A, Taniguchi K et al. The gene expression level of transforming growth factor-beta (TGF-beta) as a biological prognostic marker of hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res*, 2005; 24: 415-421.

Itoh S, Itoh F, Goumans MJ, Ten Dijke P. Signaling of transforming growth factor-beta family members through smad proteins. *Eur J Biochem*, 2000; 267 (24): 6954-67.

Kang D, Lee KM, Park SM, Berndt SI, Reding D, Chatterjee N et al. Lack of association of transforming growth factor-b1 polymorphisms and haplotypes with prostate cancer risk in the prostate, lung, colorectal and ovarian trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2007;16: 6.

Kang HG, Chae MH, Park JM Kim EJ, Park JH, Kam S et al. Polymorphisms in TGF-beta1 gene and the risk of lung cancer. *Lung Cancer*, 2006; 52: 1–7.

Keleş M, Türkeli M. İnsülin benzeri büyüme faktörü sistemi ve kanser. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2005; 3(2): 39-43.

Kim J, Johnson K, Chen HJ, Carroll S, Laughon A. *Drosophila* Mad binds to DNA and directly mediate activation of vestigial by Decapentaplegic. *Nature*, 1997; 388: 304–308.

- Klingler HC, Bretland AJ, Reid SV, Chapple CR and Eaton CL. Regulation of prostatic stromal cell growth and function by transforming growth factor beta. *Prostate*, 1999; 41: 110±120.
- Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AK, Falvell RA. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. *Annu Rev Immunol*, 2006; 24: 99-146.
- Li T, Cao BW, Dai Y, Cui H, Yang HL, Xu CQ. Correlation of transforming growth factor beta-1 gene polymorphisms c-509t and t869c and risk of gastric cancer in China. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2008; 23: 638-642.
- Li Y, Liu Y, Peng YM, Li J, Sun L, Chen X et al. The relationship between the tgf- β 1 gene 509C/T polymorphism and tubulointerstitial damage resulting from primary nephrotic syndrome. *Clinical Study*, 2010; 32: 420-427.
- Li Z, Habuchi T, Tsuchiya N, Mitsumori K, Wang L, Ohyama C et al. Increased risk of prostate cancer and benign prostatic hyperplasia associated with transforming growth factor-beta 1 gene polymorphism at codon10. *Carcinogenesis* 2004; 25(2): 237±240.
- Liu F, Hata A, Baker JC, Doody J, Carcamo J, Harland RM et al. A human Mad protein acting as a BMP-regulated transcriptional activator. *Nature*, 1996; 381:620-623.
- Massague J, TGF-Beta signal transduction. *Annu Rev Biochem*, 1998; 67: 753-91.
- Meersseman G, Verschuere K, Nelles L, Blumenstock C, Kraft H, Wuytens G et al. The C terminal domain of Mad-like signal transducers is sufficient for biological activity in the *Xenopus* embryo and transcriptional activation. *Mech Dev*, 1997; 61: 127-140.
- Meyer A, Dörk T, Bogdanova N, Brinkhaus MJ, Wiese B, Hagemann J et al. TGFB1 Gene polymorphism leu10pro (c.29T>C), prostate cancer incidence and quality of life in patients treated with brachytherapy. *World J Urol*, 2009; 27: 371-377.
- Moustakas A, Souchelnytskyi S, Heldin CH. Smad regulation in TGF- β signal transduction. *Journal of Cell Science*, 2001; 114:4359-4369.
- Mullan RJ, Bergstralh EJ, Farmer SA, Jacobson DJ, Hebring SJ, Cunningham JM et al. Growth factor, cytokine, and vitamin d receptor polymorphisms and risk of benign prostatic hyperplasia in a community-based cohort of men. *Urology*, 2006; 67: 300-305.
- Murphy T, Darby S, Mathers EM, Gnanapragasam V. Evidence for distinct alterations in the FGF axis in prostate cancer progression to an aggressive clinical phenotype. *Journal of Pathology*, 2010; 220: 452-460.
- Nakao A, Imamura T, Souchelnytskyi S, Kawabata M, Ishisaki A, Oeda E et al. TGF-b receptor-mediated signalling through Smad2, Smad3 and Smad4. *Embo J*, 1997; 16: 5252-5262.

Omrani MD, Bazargani ST, Lak SS, Bagheri M, Association of codon 10 polymorphism of the transforming growth factor beta 1 gene with prostate cancer and hyperplasia in an Iranian population. *Urol Int*, 2009; 83: 329–332.

Paolone DR, Benign prostatic hyperplasia. *Clin Geriatr Med* 2010;26: 223-239.

Pardali K, Kurisaki A, Moren A, Dijke P, Kardassis D, Moustakis A. Role of Smad proteins and transcription factor Sp1 in p21 (Waf1/Cip1) regulation by transforming growth factor-beta. *J Biol Chem*, 2000; 275: 29244-56.

Pawson T, Raina M, Nash P, Interaction domains: From simple binding events to complex cellular behavior. *FEBS Letters*, 2002; 513:2-10.

Pawson T, Regulation and targets of receptor tyrosine kinases. *Eur J Cancer*, 2002; 38(Suppl 5):3-10.

Qi P, Ruan C, Wang H, Zhou F, Zhao Y, Gu X et al. 509C>T Polymorphism in the TGF- β 1 gene promoter is not associated with susceptibility to and progression of colorectal cancer in Chinese. 2009.

Rich JN, Borton AJ, Wang XF, Transforming growth factor- β signaling in cancer. *Microsc. Res. Tech*, 2001; 52: 363-373.

Robbins ve Catron, Kumar, Abbas, Fausto, Sav, Özdamar. Hastalığın Patolojik Temeli 7. Baskı, Güneş Tıp Kitapevi, 2009; 1047-1055.

Rosen DM, Stempien SA, Thompson AY, Seyedin SM. Transforming growth factor- β modulates the expression of osteoblast and chondroblast phenotypes invitro. *J Cell Physiol*, 1998; 134: 337–346.

Saltzman BS, Yamamoto JF, Decker R, Ypkovhi L, Theriault AG, Vogt TM et al. Association of genetic variation in the transforming growth factor β -1 gene with serum levels and risk of colorctal neoplasia. *Cancer Res*, 2008; 68: 4.

Schulz WA. *Molecular Biology of Human Cancers*. America 2005; 383-391.

Seoane J, Pouponnot C, Staller P, Schader M, Eilers M, Massague J. TGF β influences Myc, Miz-1 and Smad to control The CDK inhibitors p15INK4b. *Nat Cell Biol*, 2001; 3: 400-8.

Siegel PM, Massague J, Cytostatic and apoptotic actions of TGF-Beta in homeostasis and cancer. *Nat Rev Cancer*, 2003; 3: 807-21.

Soyöz M, Özçelik N. TGF- β (Transforming Growth Factor- β) ve sinyal iletimi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 2007; 27: 426-33.

Tamizifar B, Lankarani KB, Naeimi S, Zadeh MR, Taghavi A, Ghaderi A. Promoter polymorphism of transforming growth factor- β 1 gene and ulcerative colitis. *World Journal of Gastroenterology*, 2008; 14 (2): 243-247.

Toland EA, Chan MJ, Yuan J, Balmain AJ, Ma J, A gain of function TGF β 1 polymorphism may be associated with late stage prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2004; 13: 5.

Urist MR, Bone: formation by autoinduction. *Clin Orthop Relat Res*, 2002; (395): 4-10.

Verrecchia F, Mauviel A. Transforming growth factor- β signaling through the Smad pathway: role in extracellular matrix gene expression and regulation. *J Invest Dermatol*, 2002; 118: 211–215.

Vural P, Transforming growth factor β ' nın kanserde baskılayıcı rolü. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2010; 8 (1): 35-42.

Wei BB, Xi B, Wang R, Bai JM, Chang, JK, Zhang, YY et al. TGF β 1 T29C polymorphism and cancer risk: a meta-analysis based on 40 case-control studies. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 2010; 196: 68-75.

Wikstrom P, Damber J and Bergh A. Role of Transforming growth factor-Beta1 in prostate cancer. *Microsc. Res. Tech*, 2001; 52: 411±419.

Wei YS, Zhu YH, Du B, Yang ZY, Liang WB, Lv ML et al. Association of transforming growth factor- β 1 gene polymorphisms with genetic susceptibility to nasopharyngeal carcinoma. *Science Direct*, 2007; 380: 165-169

Wolk A. Diet, lifestyle and risk of prostate cancer. *Acta Oncol* 2005; 44: 277-281.

Wu G, Hasenberg T, Magdeburg R, Bönninghoff R, Saturnm JW. Association between EGF, TGF- β 1, VEGF gene polymorphism and colorectal cancer. *World Surgi*, 2009; 33: 124-129.

Yamada Y, Miyauchi A, Goto J, et al. Association of a polymorphism of the transforming growth factor-h1 gene with genetic susceptibility to osteoporosis in postmenopausal Japanese women. *J Bone Miner Res*, 1998; 13: 1569–76.

Yokoda M, Ichihara S, Lin TL, Nakashima N, Yamada Y. Association of a T29->C polymorphism of the transforming growth factor-b1 gene with genetic susceptibility to myocardial infarction in Japanese. *Circulation*, 2000; 101: 2783–7.

Yurdakul T, Güven S. Benign prostat hiperplazisi (BPH) ve apopitozis. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 2006; 59: 132-136.

Zhang Y, Musci T, Derynck R. The tumor suppressor Smad4/ DPC 4 as a central mediator of Smad function. *Curr Biol*, 1997; 7: 270–276.

ÖZGEÇMİŞ

Gurbet Pınar POLAT

ANKARA, 1985

Eğitim

Yüksek Lisans: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Bölümü.

Yüksek Lisans bilimsel hazırlık: Tıp fakültesi dönem 2.

Yüksek Lisans seminer konusu: Akciğer Kanserinde Antioksidan Sistem ve Polimorfizm

Lisans Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü 2004-2008.

Lisans bitirme ödevi konusu: Kanser Hücrelerinin Özellikleri ve Çevresel Faktörlerin Etkisi.

Lise Antalya 75. Yıl Cumhuriyet Lisesi 1999-2003.

Konferanslar: Süleyman Demirel Üniversitesi 11. Üniversiteler Arası Biyoloji Konferansı 2007.

Kongreler: 12. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi.

Sertifikalar: Milli Eğitim Bakanlığı İngilizce Sertifikası.