

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PROSTAT KANSERLERİNDE SENTROMER H PROTEİNİN
EKSPRESYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ**

İlknur KARALEZLİ

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Hatice Gül DURSUN

KONYA - 2015

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi İlknur KARALEZLİ'nin "Prostat Kanserlerinde Sentromer H Proteinin Ekspresyonunun Değerlendirilmesi" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya / .15... 06. 2015



Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Hatice Gül DURSUN

N.E.Ü. Meram Tıp Fak.

Tıbbi Biyoloji AD



Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. A. Bülent TURHAN

N.E.Ü. Meram Tıp Fak.

Tıbbi Biyoloji AD



Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. A. Gül ZAMANI

N.E.Ü. Meram Tıp Fak.

Tıbbi Genetik AD



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Çetin SAATÇI

Erciyes Üniv. Tıp Fak.

Tıbbi Genetik AD



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Zuhale HAMURCU

Erciyes Üniv. Tıp Fak.

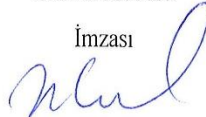
Tıbbi Biyoloji AD

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü yönetim kurulunun 09.07.16 tarih ve 323 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kısmet Esra Nurullahoğlu ATALIK

Enstitü Müdürü

İmzası



APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled "Evaluation of Centromere Protein H Expression in Prostate Cancer" by "İlknur KARALEZLİ" that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the Department of "Medical Biology", Institute of Health Sciences, University of Necmettin Erbakan.

Konya, Turkey/15.06.2015


Principal Advisor

Assistant Professor H. Gül DURSUN

Necmettin Erbakan University

Department of Medical Biology

Signature

Examination Committee Member
Associate Professor Çetin SAATÇI
Erciyes University
Department of Medical Genetics

Signature



Examination Committee Member
Associate Professor Zuhâl HAMURCU
Erciyes University
Department of Medical Biology

Signature



Examination Committee Member
Assistant Professor Ayşegül ZAMANI
Necmettin Erbakan University
Department of Medical Genetics

Signature



Examination Committee Member
Assistant Professor A. Bülent TURHAN
Necmettin Erbakan University
Department of Medical Biology

Signature



This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences.



Prof. Dr. Kismet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Director of Institute of Health Sciences

Date and Signature

BEYANAT

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları, kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

15/06/2015

İlknur KARALEZLİ



İÇİNDEKİLER

APPROVAL	iii
BEYANAT	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
GRAFİK LİSTESİ	x
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Prostat Bezi.....	2
2.1.1. Prostat Bezinin Anatomisi.....	2
2.1.2. Fizyoloji	3
2.2. Prostat Kanseri	5
2.2.1. Epidemiyoloji, İnsidans ve Mortalite	5
2.2.2. Etyoloji ve Risk Faktörler	8
2.2.2.1. Ailesel Yatkınlık ve Genetik Faktörler	8
2.2.2.2. Yaş.....	8
2.2.2.3. Enfeksiyon ve Enflamasyon.....	9
2.2.2.4. Coğrafi ve Irksal Faktörler	9
2.2.2.5. Hormonlar.....	9
2.2.2.6. Diyet.....	10
2.2.2.7. Diğer Faktörler	10
2.2.3. Patoloji.....	10

2.2.3.1. Prostat Kanserinin Öncül Lezyonları	11
2.2.3.1.1. Prostatik İntraepitelyal Neoplazi (PIN).....	11
2.2.3.1.2. Proliferatif İnflamatuvar Atrofi (PIA)	13
2.2.3.1.3. ASAP (Atipik Küçük Asiner Proliferasyon).....	13
2.2.3.2. Histopatolojik Derecelendirme	13
2.2.3.3. Prostat Kanserinin Evrelendirilmesi.....	15
2.2.4. Klinik Bulgular.....	16
2.2.4.1. Tanı ve Evrelendirme Yöntemleri.....	16
2.2.4.2. Tümör Belirteçleri.....	16
2.2.4.3. Prognostik Faktörler.....	17
2.2.5. Prostat Kanserinin Moleküler Temeli.....	19
2.2.5.1. Kalıtsal Genetik Değişiklikler ve Yatkınlık	19
2.2.5.2. Somatik Değişiklikler (Kanserin Oluşum Mekanizmaları)	22
2.2.5.3. Kanser Progressiyon Mekanizmaları (Kromozomal Değişiklikler).....	23
2.2.5.4. Tümör Supressör Genler	24
2.2.5.5. Onkogenler.....	25
2.2.5.6. Gen Füzyonları	27
2.2.5.7. Epigenetik Mekanizmalar	28
2.2.5.8. Telomer Kısalması	32
2.2.5.9. İleri Evre Karsinogenez ve Metastaz Mekanizmaları	32
2.2.6. Sentromer Yapı Ve Fonksiyonu.....	34
2.2.6.1. CENP-H Geni ve Proteini.....	43
3. GEREÇ VE YÖNYEM.....	46
3.1. Gereç.....	46
3.2. Yöntem.....	47
3.2.1. Hasta Gruplarının Oluşturulması ve Doku Örneklerinin Toplanması	47

3.2.2. <i>Parfinede G6m6l6l6 Dokudan RNA İzolasyonu</i>	48
3.2.3. <i>Real Time PCR (Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu) (PZR) ile Ekspresyon Analiz</i>	49
4. BULGULAR	53
5. TARTIŞMA	59
6. KAYNAKLAR	65
7. EKLER	85

SİMGELER ve KISALTMALAR

AJCC	: American Joint Comitte on Cancer
ASAP	: Atipik Küçük Asiner Proliferasyon
BPH	: Benign Prostat Hiperplazisi
CENP-H	: Centromere Protein H
CT	: Bilgisayarlı Tomografi
DHT	: Dihidro Testestoren
GSTP1	: Glutasyon S Transferaz P1
HGPIN	: Yüksek Dereceli Prostatik İntraepitelyal Neoplazi
HPC1	: Hereditary Prostate Cancer 1
LOH	: Heterozigot Kaybı
MRI	: Magnetik Rezonans Görüntüleme
MRS	: Spektroskopisi
PAP	: Prostatik Asit Fosfataz
PCa	: Prostat Kanseri
PİA	: Proliferatif İnflamatuar Atrofi
PRM	: Parmakla Rektal Muayene
PSA	: Prostat Spesifik Antijen
PSMA	: Prostat Spesifik Membran Antijeni
PSCA	: Prostat Kök Hücre Antijeni
TRUS	: Trans Rektal Ultrasonografi
UICC	: İnternational Union Against Cancer
US	: Ultrasonografi

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil: 2.1.1. Prostat ve Komşulukları	3
Şekil: 2.2.3.1. PCa Progresyonunun Hücresel ve Moleküler Modeli (De Marzo ve ark. 2007).	11
Şekil: 2.2.3.1.1. Normal Prostattan PİA, PIN, Lokalize Kanser ve Metastatik Kansere Gelişim Süreci (Gonzalگو ve ark 2003).....	12
Şekil: 2.2.5.6. Prostat Kanserinde Saptanan Gen Füzyonu.....	27
Şekil 2.2.6. Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces pombe ve İnsan'da sentromerik DNA'nın organizasyonu (Tatsuo 2004).....	35
Şekil: 2.2.6.1. Mitotik çıkış ve erken G ₁ esnasında sentromerin içine birikme ve G ₂ de yeni CENP-A sentezinin hücre döngüsündeki zamanlaması (Black ve Bassett 2008).	36
Şekil: 2.2.6.3. Kinetokor Organizasyonu (Musachio 2007).....	38
Şekil 2.2.6.4. Metazonlarda Sentromer Kinetokor Bölgesi ve Kinetokorlarda Mevcut Olduğu Tespit Edilmiş Kinetokor Proteinleri	40
Şekil: 2.2.6.5. Temel Sentromer İlişkili Ağ Olan CCAN ve Bu Ağda Mevcut Proteinler	41
Şekil: 2.2.6.6. Omurgalı kinetokorunun moleküler yapısı	41
Şekil: 2.2.6.7. Kinetokor Yapısı ve Bu Yapıyı Oluşturan Üç Tabakalı Kinetokor Morfolojisi	42

GRAFİK LİSTESİ

Grafik: 2.2.1. ABD 1975-2010 Yılları Arasında Prostat Kanseri İnsidans ve Mortalitesinin Değişim Grafiği	5
Grafik: 2.2.2. Ülkelere Göre PCa İnsidans ve Mortalite Oranları (Parkin DM ve ark 2005).	7
Grafik 4 - GAPDH Ct değerlerinin normal (N) ve tümörlü (T) dokularda ve 3 farklı teknik tekrarda (1, 2, 3) histogramı	56
Grafik: 4.1 CENPH Ct değerlerinin normal (N) ve tümörlü (T) dokularda ve 3 farklı teknik tekrarda (1, 2, 3) histogramı	56
Grafik: 4.2 - GAPDH Ct değerlerinin (n=25) normal (N) ve tümörlü (T) dokularda ve 3 farklı teknik tekrarda (1, 2, 3) histogramı	57
Grafik: 4.3 CENPH Ct değerlerinin (n=25) normal (N) ve tümörlü (T) dokularda ve 3 farklı teknik tekrarda (1, 2, 3) histogramı	57
Grafik: 4.4 Normal ve tümör dokularında CENPH ekspresyonu.	58
Grafik: 4.5 Normal ve tümör dokularında GS gruplarında CENPH ekspresyonu.	58

TABLolar LİSTESİ

Tablo: 2.2.1. Erkeklerde En Sık Görülen 10 Kanser Türünün İnsidansı	7
Tablo: 2.2.3.3. TNM evrelendirme sistemi (Mottet ve ark 2014).....	15
Tablo: 2.2.4.2. PCa tanı, tarama ve Prognoz Tayininde Kullanılan Belirteçler (Tefekli 2012).	17
Tablo: 2.2.5.1. Prostat Karsinogenezinde Rol Oynadığı Belirlenmiş Gen Listesi.....	22
Tablo: 2.2.5.7. PCa’de Sık Olarak Hipermetile Olan Gen Listesi (Gu ve Brothman 2011)	29
Tablo: 3.2.3. Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) Geninde Kullanılan Problar	50
Tablo: 3.2.3.1 CENP-H için (Tek Reaksiyon)	50
Tablo: 3.2.3.2 ABI 7500 Gerçek Zamanlı PZR Cihazı Uygulama Programı	51
Tablo: 4 Hastalara Ait Glakson Skoru, Yaş ve Yaşamsal Verileri	54
Tablo: 4.1 qRT-PZR analizler Sonuçları (Üç Tekrar)	55

ÖZET

N.E.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi / KONYA 2015

Uzm. Bio. İlknur KARALEZLİ

Prostat kanseri erkeklerde en sık görülen kanserdir. Akciğer kanserinden sonra erkeklerde kansere bağlı ölümlerde ikinci sırayı almaktadır ve kanser ölümlerinin %10'undan sorumludur. Prostat kanserlerinin oluşmasında yaş ve genetik faktörler oldukça önemlidir. Kinetokor proteinlerinin karsinogenezle bağlantıları yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bunlardan birisi olan sentromer protein H'nin bazı kanser türlerinin gelişimi ile olan bağlantıları tespit edilmiştir. Bu çalışmada sentromer protein H (CENP-H) ekspresyon düzeyinin prostat karsinomunda (PCa) değişip-değişmediğinin saptanması ve karsinogenez sürecindeki muhtemel rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla, prostat kanseri tanısı almış hastalardan çıkarılan total prostat dokularından elde edilen parafine gömülmüş örneklerde CENP-H geninin transkripsiyonel analizi gerçekleştirilmiştir. Ekspresyon analizleri aynı hastanın prostat dokusundaki tümöral ve non-tümöral alanlardaki ekspresyonun karşılaştırılması ile elde edilmiştir. Çalışmaya 40 adet radikal prostatektomi materyali alınmış, daha sonra yüksek Gleason skorlu 9 doku materyali; normal prostat dokusu alanı tümör dokusu alanı ile çok içiçe olduğu için; 3 doku materyali de RNA elde edilemediği için çalışmadan çıkarılmıştır.

CENP-H gen ekspresyon analizi Real Time PCR (Gerçek zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu) (PZR) ile yapılmıştır. Kalan 28 olgunun tümöre ait doku örnekleri ve tümörsüz normal alana ait doku örneklerinden ayrı ayrı RNA izolasyonları gerçekleştirildi. Daha sonra gerçekleştirilen qRT-PZR analizleri üçer defa tekrarlanmış ve elde edilen verilerden Ct değerlerinin kalite kontrolleri yapılmıştır. House keeping gen GAPDH ve hedef gen CENP-H'a ait Ct değerleri doku (tümör ve normal) ve teknik tekrar (tekrar -1, -2, -3) gruplarında karşılaştırılmıştır. GAPDH Ct değerleri tümör dokularında ($25,62 \pm 0,3182$) kontrol dokularına göre ($26,61 \pm 0,3182$) anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p=0,029$). CENP-H geni için gruplar ve teknik tekrarlar arasında farklılık gözlenmemiştir.

Çalışmada, prostat kanserinde normal doku ile tümör dokusu arasında CENP-H ekspresyonu bakımından herhangi bir farklılık tespit edilememiştir. Ayrıca ölüm nedenlerine bakıldığında, hastaların hiç birisinde PCa nedenli mlüm saptanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Prostat Kanseri, Centromer Protein H, Kinetokor Protein, Sentromer-Kinetokor, Sentromer Protein

ABSTRACT

N.E.U. Institute of Health Sciences

Department of Medical Biology

PhD Thesis / KONYA 2015

Exp . Bio. İlknur KARALEZLİ

Prostate cancer is the most frequent cancer type in men. After lung cancer, it is the second most common cause of morbidity in men responsible for 10 % of deaths. Age and genetic factors have a high significance in the development of prostate cancer. The relation of kinetochore proteins with carcinogenesis have been shown in the studies made. The association of centromere protein H in the development cancer types has been determined. In the present study, the aim is to determine whether centromere protein H (CENP -H) expression levels change in prostate carcinoma (PCa) and the possible role of CENP -H in the carcinogenesis process.

Hence, transcriptional analysis of the CENP –H gene was conducted in the total prostate tissues extracted from patients diagnosed with prostate cancer and embedded in paraffin. The expression analyses were obtained from the comparison of the expressions within the tumoral and non-tumoral areas in the prostate tissue of the same patient. For the present study, 40 radical prostatectomy samples were recruited; yet 9 tissue material with a high Gleason score were excluded as the normal prostate tissue area was to closely intertwined with tumor tissue and 3 due to the inability of obtaining RNA.

CENP -H gene expression analysis was made using Real time PCR (real-time polymerase chain reaction). RNA isolations were carried out for tumor and non-tumor tissue areas separately in the remaining 28 samples. Subsequently, qRT - PCR analyzes were repeated three times and from the data obtained the quality of Ct values controlled. Ct values of the house keeping gene GAPDH and of the target CENP -H gene were compared among the tissue (tumor and normal) and the technical repetition (repetition -1, -2, -3) groups. In the tumor tissues GAPDH Ct values (25.62 ± 0.3182) were significantly lower ($p = 0.029$) than the control tissues (26.61 ± 0.3182). No statistically significant difference for the CENP -H gene was obtained from the group and technical repetition comparisons.

In the present study, no statistically significant in the CENP -H expression was determined between tumor and normal tissue in prostate cancer. Moreover, on investigating the causes of death, in none of the patients PCa related death was determined.

Keywords: Prostate Cancer, Centromere Protein H, kinetochore Protein, Centromere Kinetochore, Centromere protein

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Prostat kanseri (PCa), gelişmiş ülkelerde özellikle batı dünyasında en sık görülen kanserlerdendir ve kanser nedeni ile ölümlerde önemli pay sahibidir (Bostwick ve ark 2004; Buhmedia ve ark 2006; Arcangeli ve ark 2012).

Bu kanserler, 40-50 yaşlarından önce nadir görülürken, yaş ile birlikte insidansı artar ve 80 yaşın üzerinde yaklaşık $\frac{3}{4}$ erkekte latent hastalık kanıtları otopsislerde gösterilmiştir (Arcangeli ve ark 2012).

Amerika'da cilt kanserinden sonra en sık tanı konulan kanserdir ve doğumdan ölüme kadar bir erkeğin PCa olma riski %15,3 (1/7) olarak bildirilmiştir. Bu oran akciğer kanseri için %7,6 (1/13)' dir (Siegel ve ark 2014).

Prostat kanserinde Amerika'da 2014 yılında yaklaşık 233.000 yeni vaka beklenmektedir ki, bu tüm beklenen kanserlerin %27'sidir (Siegel ve ark 2014). Ayrıca 2015 yılında 280.000, 2025'te 350.000 yeni vaka ve 2030 yılında ise, 70.000 PCa nedeni ile ölüm beklenmektedir (Arcangeli ve ark 2012). Bu rakamlar prostat kanserinin yaşlanan erkek için ne kadar önemli bir sağlık problemi olduğunu göstermektedir.

PCa'nın doğal seyrini ve bunu etkileyen faktörleri saptamak kolay değildir ve bu mekanizmalar tam aydınlatılamamıştır (Eskiçorapçı 2007). Bu nedenle organa sınırlı hastalıkta en önemli prognostik parametreler; Gleason skor, kapsüler invazyon, PSA, tümör evresi ve anöploidi'dir (Buhmedia ve ark 2006).

Neoplastik genomda moleküler bazda gözlenen değişiklikler son yıllarda meme ve akciğer karsinomları, gliomlar ve kronik lösemiler gibi çeşitli malignitelerin rekürrens riski, tedaviye cevabı, hastalıklı veya hastalıksız sağkalım gibi prognostik parametreler ile başarılı bir şekilde ilişkilendirilmiştir. Prostat adenokarsinomunda da bu amaçlar için kullanılacak moleküler prognostik belirteçler ve hastaya özgün tedavi için hedef alınabilecek fizyolojik süreçlerin belirlenmesi için yoğun çalışmalar devam etmektedir (Gürel 2013).

Bizim çalışmamızın amacı, insan aktif kinetokorunun temel bileşenlerinden biri olan sentromer protein H'nin (CENP-H) prostat karsinomundaki (PCa) ekspresyonel düzeyini tespit ederek, bunu hasta sağ kalımı da dahil olmak üzere, klinopatolojik verilerle ilişkilendirmektir.

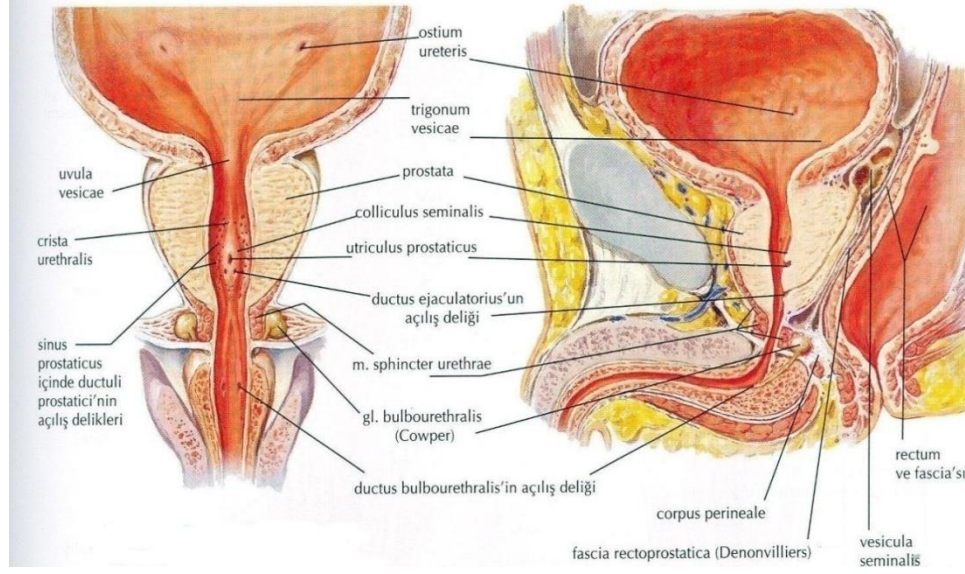
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Prostat Bezi

2.1.1. Prostat Bezinin Anatomisi

Erkek üreme sisteminin en büyük yardımcı üreme bezi olan prostat, fibromuskuler ve glanduler yapıda bir organdır. Pelvis boşluğuna yerleşmiş, simfizis pubisin arkasında rektum ampulasının önünde diafragma urogenitalisin üstünde ve mesanenin altında yer alır. Uretranın başlangıç kısmını (prostatik uretra) çevreler. Tabanı yukarıda, apeksi aşağıda olacak şekilde ters çevrilmiş bir koni veya kestane şeklindedir. Boyutları yaklaşık olarak, yükseklik 3 cm, genişlik 4 cm ve kalınlık ise, 2 ile 2,5 cm arasındadır. Aynı zamanda ağırlığı 18 ile 20 gram civarındadır (Yücel 2003; Grazioli ve ark 2008; Colleary ve ark 2007; Chung ve ark 2011). Prostat, kollagen, elastin ve yoğun düz kas tabakasından oluşan bir kapsül ile sarılıdır. Bu kapsül, fibromuskuler stromanın periferde yoğunlaşması ile oluşur. Mesane boynunda kapsül bulunmaz (McNeal 1981).

Prostatın ön (anterior), arka (posterior) ve 2 adet alt yan (infero-lateral) olmak üzere 4 yüzü vardır. Ön yüzde puboprostatik ligamentler ile pubis kemiğine bağlanır. Burada bağ dokusu ve venden zengin ven plexusu (santorini pleksusu) bulunur. Bu pleksus ile vertebral pleksus arasındaki ilişkinin PCa'nın vertebral metastazları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Arka yüzde rektovezikal facia (denonvillier faciası) ile rektumdan ayrılır. İnferolateral yüzlerde levator ani kası ile komşu olup, endopelvik facia ile ilişkilidir. Posterosuperior'da mesane fundusu ile rektum arasında veziküloseminalisler ile komşudur (Grazioli ve ark 2008, Colleary ve ark 2007; Chung ve ark 2011).



Şekil: 2.1.1. Prostat ve Komşulukları

Kaynak: Netter Anatomi Atlası 2006.

Prostatın ilk modern anatomik açıklamasını 1912'de Lowsley tarafından yapılmıştır. Buna göre prostat anterior, posterior, median ve 2 lateral olmak üzere 5 loptan oluşmaktadır (Collarry ve ark 2007; Chung ve ark 2011). Daha sonra 1968 yılında, McNeal (1981), mikroskopik bezler ve duktal yapılar üzerinden zonal anatomiye izah etmiştir. Buna göre prostatın glanduler yapıları, santral zon, transizyonel zon ve periferik zon olmak üzere üç, non glanduler yapıları ise, anterior fibromuskuler stroma ve preprostatik sfinkter olmak üzere iki bölgeye ayrılmaktadır. Bu zonal anatomi, prostat hastalıklarının patogeneziyi açıklamakla ilgilidir. Adenokarsinomların çoğu periferik zondan kaynaklanır (McNeal 1981; McNeal 1997; Collarry ve ark 2007; Chung ve ark 2011; Grazioli ve ark 2008).

2.1.2. Fizyoloji

Prostat, ince, süt kıvamında, kalsiyum, sitrat iyonu, fosfat iyonu, pıhtılaşma enzimi, profibrinolizi ve proteazlar içeren bir sıvı salgılar. Emisyon sırasında prostat kapsülü vaz deferens ile eş zamanlı olarak kasılır ve bu sıvıyı semene katar. Hafif alkalin özellikteki bu sıvı ovumun başarılı fertilizasyonu için oldukça önemlidir. Çünkü sperm motilitesi için pH 6-6,5 olmalıdır. Vajen sekresyonları asidiktir (pH 3,5-4). Ayrıca vaz deferens sıvısı da nisbeten asidiktir ve spermin fertilizasyon yeteneğini inhibe eder. Prostat sıvısı bunu nötralize ederek spermin motilite ve fertilizasyon yeteneği kazanmasına yardım eder. Ayrıca semende bulunan çinko,

primer olarak prostat kaynaklıdır ve antibakteriyel faktör olduğu düşünülür. Ayrıca PSA'nın aktivitesini regüle ettiği düşünölmektedir (Berman ve ark 2011).

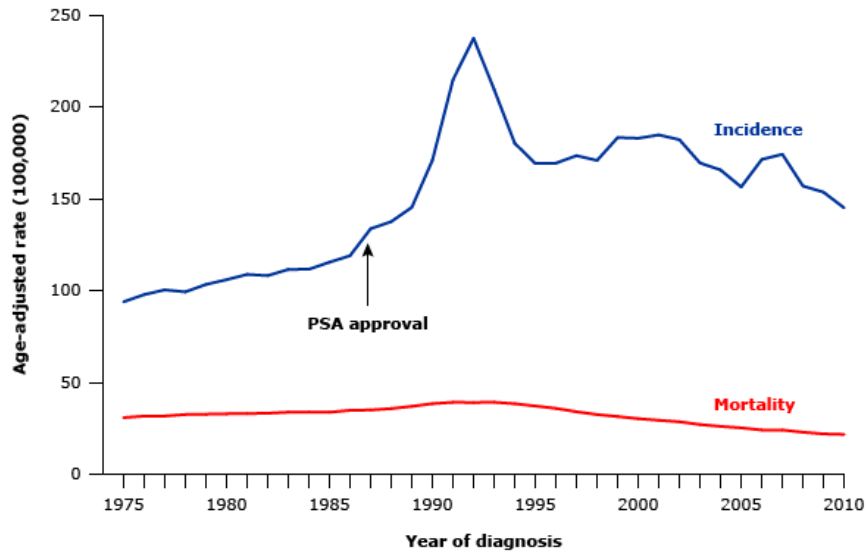
PSA, prostatik epitelyumdan salgılanan ve seminal plazmasında bulunan bir proteinaz olup moleköl ağırlığı 33 kDa'dır. PSA, hem tripsin benzeri, hemde kimotripsin benzeri enzimatik etkiye sahiptir. PSA'nın görevi ejakölatın pıhtısını eritmektir. Günümüzde PCa'nın tanı, tedavi ve takibinde kullanılan çok önemli bir belirteçtir (Guyton ve ark 2000; Nuhöğlü 2007).

2.2. Prostat Kanseri

2.2.1. Epidemiyoloji, İnsidans ve Mortalite

PCa oldukça yaygın bir hastalıktır. İnsidansı, ülkeler, ırklar ve aynı ülkenin farklı yerleşim bölgesine göre değişiklikler gösterir (Kashefi ve ark 2010; Divrik 2007). Prostat kanserinde, 40-50 yaştan önce görülmesi nadirdir. Yaşla birlikte dünyanın her yerinde insidansı artar ve 80 yaşlarında $\frac{3}{4}$ kişide latent hastalık görülür (Arcangeli ve ark 2012).

PSA'nın klinik uygulamaya girmesiyle dramatik olarak insidansta artış, ilerlemiş hastalık tanısında azalma gözlenmiştir (Kashefi ve ark 2010; Divrik 2007; Arcangeli ve ark 2012) (Grafik: 2.2.1).



Grafik: 2.2.1. ABD 1975-2010 Yılları Arasında Prostat Kanseri İnsidans ve Mortalitesinin Değişim Grafiği (PSA'nın yaygın kullanımının etkisi görülmektedir)

Kaynak: National Cancer Institute. Surveillance Epidemiology and End Results (SEER) Program.

National Cancer Institute. <http://seer.cancer.gov/>.

Prostat kanserinde 1980 yılında % 20 olguya metastazla tanı konurken 2004'de bu oran % 5 olmuştur (Cooperberg ve ark 2004).

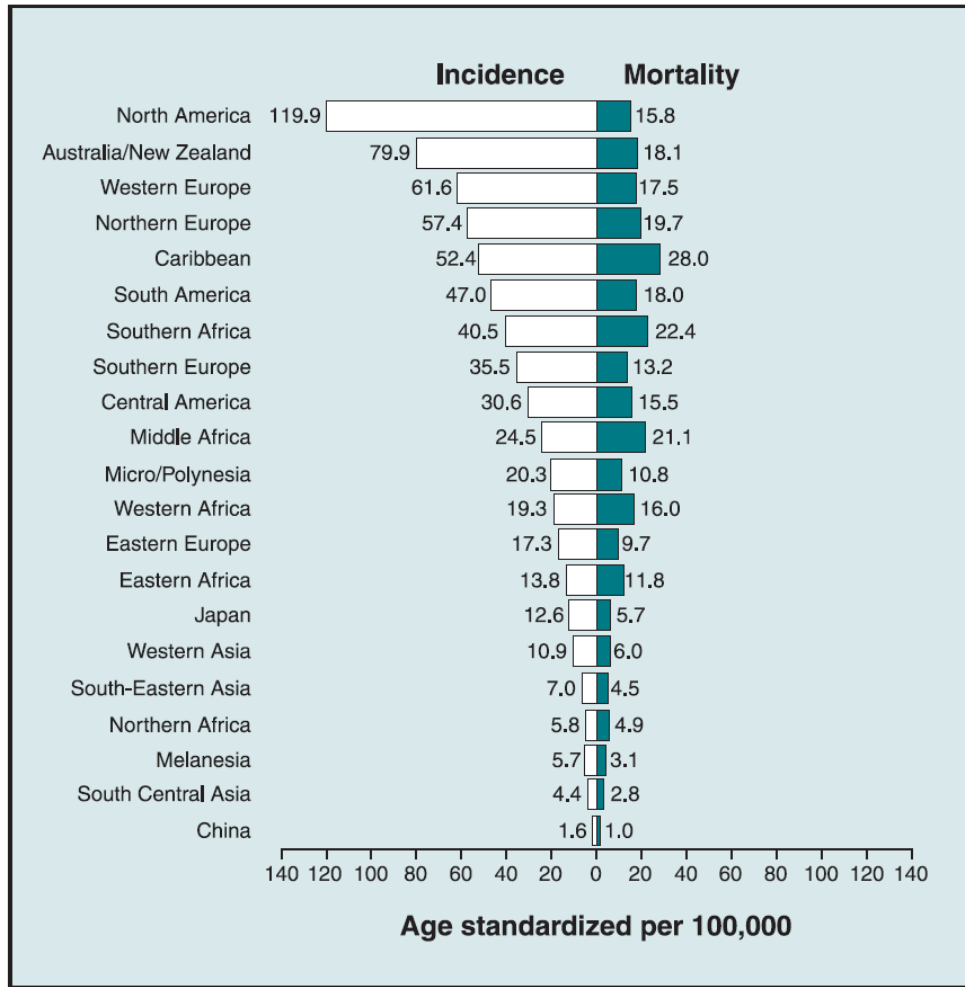
Amerikada, cilt kanserleri dışında en sık görülen kanserdir ve kanser nedeniyle ölümlerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer almaktadır (Bostwich 2004; Arcangeli ve ark 2012; Siegel ve ark 2014). Afrika kökenli Amerikalılarda insidans 272/100.000 iken, beyaz Amerikalı'larda 169/100.000 dir.

Mortalite oranı da Afrika kökenlilerde beyazlara göre iki kattan daha fazladır (Kashefi ve ark 2010; Divrik 2007).

2008 yılında Avrupa' da 382.000 vaka bildirilmiştir ki, bu tüm kanser vakaları arasında % 22.2 ile en yüksek orandır. Avrupa'da, kanser nedeniyle ölümler arasında akciğer ve kolorektal kanserlerden sonra üçüncü sırada yer almaktadır (Arcangeli ve ark 2012).

Avrupa'da İskandinav ülkelerinde, Güney Avrupa ülkelerine göre daha fazla insidans ve mortalite vardır. Dünyada en düşük insidans Çin, Japonya ve diğer Asya ülkelerinde görülmektedir (Divrik 2007; Abouassaly ve ark 2011; Oh ve ark 2003; Dean ve ark 2013; Parkin ve ark 2005). PCa insidansı 2006 ile 2010 yılları arasında her yıl %2 azalırken, ölümler %3,1 azalmıştır. Yaşam süresince PCa'ya yakalanma riski %15.3 olarak belirtilmiştir (Siegel ve ark 2014). 20 yıl önce prostat kanserli hastaların 1/3'i hastalık nedeniyle ölürken, günümüzde bu oran %1'e düşmüştür (Kashefi ve ark 2010).

Mortalite oranı kuzey, orta ve güney Amerika, Avrupa ve Avustralya'da %9,7 ile %16 arasında, Asya'da %0,6 ile %4,8 arasında değişmektedir. Asya'daki insidans ve mortalitedeki bu aşırı farklılık diyet ve çevresel faktörlere bağlanmaktadır (Dean ve ark 2013).



Grafik: 2.2.2. Ülkelere Göre PCa İnsidans ve Mortalite Oranları (Parkin DM ve ark 2005).

Ülkemizde sağlık bakanlığı verilerine göre akciğer kanserlerinden sonra ikinci sıklıkta görülmektedir (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu 2009).

	2004	2005	2006	2007	2008	2009*	2010*	2011*
Trakea, Akciğer ve Bronş	65,1	65,9	68,9	73,0	69,2	74,1	79,3	84,9
Prostat	24,9	28,6	28,9	32,3	37,6	44,0	51,4	60,0
Mesane	19,3	20,6	21,0	22,5	21,7	23,4	25,3	27,3
Kolorektal	16,5	16,2	18,2	19,1	20,8	22,5	24,3	26,3
Mide	14,1	14,9	14,8	17,3	18,0	19,1	20,3	21,6
Non-Hodgkin Lenfoma	6,3	5,9	6,9	7,6	6,9	8,5	10,4	12,7
Larinks	10,0	8,9	9,7	9,3	9,1	9,5	9,9	10,3
Pankreas	4,0	4,4	5,2	6,3	6,1	6,7	7,3	8,0
Böbrek	4,1	4,1	5,5	5,2	5,8	6,3	6,9	7,5
Beyin, Diğer Sinir Sistemi	4,7	5,7	5,4	5,8	6,1	6,2	6,3	6,4

Tablo: 2.2.1. Erkeklerde En Sık Görülen 10 Kanser Türünün İnsidansı

Kaynak: Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (Not: 2009, 2010 ve 2011 yıllarına ait İnsidans değerler çalışmanın yapıldığı tarihteki tahmini değerlerdir)

2.2.2. *Etyoloji ve Risk Faktörler*

PCa etyolojisinde hem genetik hem de çevresel faktörler rol oynar. Yaşlanma ile prostat bezinin epitel hücresinde genetik değişikliğin kaçınılmaz olduğuna dair güçlü kanıtlar vardır. Bu değişiklikler zamanla artar ve bazı değişiklikler orta ve ileri yaş erkeklerde otopsi veya prostat ameliyatı sonrası görülmektedir. Bu değişiklikleri etkileyen faktörler çeşitlidir ve ne zaman başladığı, ne hızla ilerlediği ve kansere dönüşüm süreci halen araştırma konusudur. Epitel hücre hasarından sonra, enflamatuvar yanıtın oluşması sonucu çoğu olguda kanserin başladığı ileri sürülmüştür. Hastalığın oluşumundan sorumlu tek ajan veya süreç yoktur. Birçok genetik değişiklikler ve işlemler süreç boyunca farklı noktaları etkiler (Divrik 2007; Bostwick ve ark 2004). PCa ile ilgili birçok risk faktörü ortaya konmuştur.

2.2.2.1. *Ailesel Yatkınlık ve Genetik Faktörler*

Ailede PCa öyküsü ve genetik yatkınlık, tüm yaygın kanserlerde olduğu gibi olası en güçlü risktir (Divrik 2007; Bratt 2002). Ailesel yatkınlıkla, kansere yakalanan aile birey sayısı ve yaşları da önemlidir (Bratt 2002; Bostwick ve ark 2004). Birinci derece akrabalarda PCa varsa, kanser gelişme riski 2 ile 3 kat, 3 veya daha fazla aile üyesinde PCa varsa, 10 kata kadar artmaktadır (Oh ve ark 2003). Epidemiyolojik çalışmalar PCa'nın %5 ile %10 kadarının herediter özellikte olduğunu göstermektedir (Bratt 2002). Aile öyküsü olanlarda kanser gelişme riski 1,3 ile 18 kat fazladır (Divrik 2007). Herediter olgular sporadik olgulardan 6-7 yıl önce hastalığa yakalanmaktadır (Bratt 2002; Bostwick ve ark 2004; Gonzalzo 2003). Araştırmalarda, RNASEL/HPCI, ELAC2/HPC2, SR-A/MSR1, CHEK2, BRCA2, POV1, OGG1, MIC1 ve TLR4 gibi birçok sorumlu gen tarif edilmiştir. Yatkınlığı bilinen genler arasında HPC1 en iyi karakterize edilendir (Divrik 2007; Nuhoğlu 2007).

2.2.2.2. *Yaş*

PCa için yaş çok önemli bir risk faktörüdür ve sıklığı yaşla dramatik olarak artmaktadır. Otopsi çalışmalarında 50 yaş civarında %15-30 arasında occult ca görülürken, 80'li yaşlarda %60-70 erkekte PCa'nın histolojik kanıtları görülür (Bostwick ve ark 2004; Oh ve ark 2003). Klinik olarak prostat kanser tanısı da yaşla artar. 50 yaş altında nadir iken, 65 yaş altında 47.1/100000 olarak bulunmuştur (Oh

ve ark 2003). Yaşa bağılı değişikliklerin oksidatif stresle bağılı olduğu düşünölmektedir. Fakat destekleyici faktörler sınırlıdır (Bostwick ve ark 2004).

2.2.2.3. *Enfeksiyon ve Enflamasyon*

Birtakım çalışmalarda cinsel yolla bulaşan hastalılar ve prostatitler direkt olarak PCa riski ile ilişkili bulunmuştur. Cinsel yolla bulaşan hastalıkların genel riski 1,4 ve en yüksek risk sifiliz için 2,3 olarak bildirilmiştir. Ancak cinsel yolla bulaşan hastalıkların PCa için bir risk teşkil etmediğini gösteren çalışmalar da vardır. Prostatit ile PCa ilişkisini araştıran çalışmalar çelişkili sonuçlar vermiştir (Divrik 2007, Abouassaly ve ark 2011, Bostwick ve ark 2004).

Prostat enflamasyonunun PCa oluşum ve progresyon mekanizmasına katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Enflamasyonun hücre ve genom hasarı yaparak bunu körüklediğini düşünölmektedir (Divrik 2007; De Marzo ve ark.1999; DeMarzo ve ark 2003).

2.2.2.4. *Cografi ve Irksal Faktörler*

Epidemiyoloji ve insidans kısmında bahsedildiği gibi, PCa Kuzey Amerika, Kuzey Avrupa ve İskandinav ölkelerinde sık, Asya'da nadirdir. Afrika'da orta düzeydedir. Ayrıca Afrika kökenli Amerikalılarda mortalite oranı beyazlardan 2 kat asya kökenli Amerikalılardan 5 kat fazladır. Bu dağılımlarda genetik, çevresel, sosyoekonomik ve diyet faktörleri ile ultraviyole ışığına daha az maruz kalma gibi faktörler rol oynayabilir (Oh ve ark 2003; Divrik 2007).

2.2.2.5. *Hormonlar*

PCa oluşum ve progresyonu için intakt bir hipotalomo-hipofizo-gonadal aks gereklidir. Puberteden önce kastre olan erkeklerde PCa gelişme riski son derece azdır. Prostat epitelinin büyümesi ve hacminin korunması, androjen ve Vit D yolları aracılığıyla düzenlenir. Androjenler hücre çoğalmasını uyarırken Vit D metabolitleri inhibe eder. Prostatın primer androjeni 5 alfa reduktaz tarafından katalizlenen Dihidrotestosteron (DHT)'dur. DHT, intrasitoplazmik androjen reseptörlerine bağlanır ve androjen yanıt elemanlarını aktive eder. Fonksiyonel tip 2-5 alfa reduktaz, erkeklerde prostat ve dış genitalerin gelişimi için gereklidir ve yetersiz DHT etkisi PCa gelişiminde koruyucu rol oynamaktadır. 5 alfa reduktaz inhibitörü olan finasterid ile yapılan çalışmalarda %25 oranında PCa'nın azaldığı gösterilmiştir. PCa gelişimi için bezin androjen etkisinde kalması bir ön koşul gibi görünse de

karsinogene için gerekli süre ve büyüklük bilinmemektedir (Abouassaly ve ark. 2011; Bostwick ve ark 2004, Öztürk ve ark. 2008).

2.2.2.6. *Diyet*

Birçok çalışma PCa ile yağ tüketiminin ilişkili olduğunu göstermiştir. Kırmızı et, hayvansal yağ ve total yağ tüketimi ile PCa arasında artan bir ilişki vardır. Ayrıca alfa linoleik asit (Bitkisel ve hayvansal yağlar ile yeşil yapraklı bitkilerde bulunan bir yağ asidi), süt ve serum vit D düzeyinin düşük, kalsiyum alımının yüksek olmasının da PCa riskini artırdığı bildirilmiştir (Divrik 2007; Oh ve ark. 2003).

2.2.2.7. *Diğer Faktörler*

Sigara içenlerde kadmiyuma bağlı olarak dolaşımdaki androjen seviyesinde ve oksidatif strese artış görülür ki bu da PCa için risktir. Obezitenin PCa için risk oluşturacağı bildirilse de obez ve artmış kitle indeksinin düşük PCa riski ile ilgili olduğunu gösteren çalışmalarda vardır (Divrik 2007).

Alkol alımı ile ilgili artmış risk bildiren çalışmalar yanında, aksi görüşte olan bildirimler de vardır. Vazektomi yapılan insanlarda da PCa riskinin arttığı bildirilmiştir (Divrik 2007; Bostwick ve ark 2004).

2.2.3. *Patoloji*

PCa'nın %95 den fazlası adenokanserdir. Diğer nadir histolojiler, müsinöz kanser, adenoid kistik karsinom, karsinoid tümör, prostatik duktal karsinom, küçük hücreli karsinom, transizyonel hücreli kanser ve malign mezenşimal tümörlerdir (Baydar 2007; Epstein 2004; Oh ve ark 2003). PCa'ların çoğu bir veya birden fazla patern sergileyen asinüslerden oluşur. Tanı için ışık mikroskobu çoğunlukla yeterlidir. Nadiren immuno histokimya gerekir. Tüm tiplerinde ortak özellik bazal hücre tabakasının yokluğudur.

PCa'da histopatolojik major bulgular (Baydar 2007);

- İnfiltratif büyüme paterni
- Komşu normal bezlerden farklı özellikler taşıyan iri veya küçük bez grupları
- Bezde yan-yana birkaç hücrede iri nukleol(>1,6µ)
- Kromatin granularitesinde artmakla birlikte nukleer irileşme

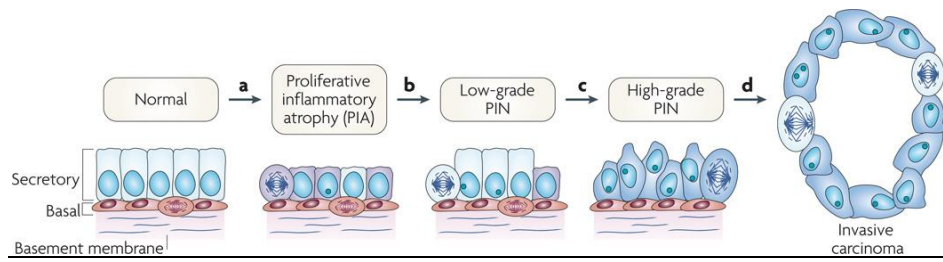
- Hafif nukleer pleomorfizm ve bez içindeki nukleusların anormal dağılımı
- Bazal hücre yokluğu
- Fibrokollajen nodüller
- Perinöral invazyon
- Glomerulasyonlar

PCa'da Histopatolojik Yardımcı Bulgular (Baydar 2007);

- Mavi Musin
- Pembe amorf salgı
- Kristaloidler

2.2.3.1. Prostat Kanserinin Öncül Lezyonları

Prostatta, klinik kanser gelişimine yol açan faktörler iyi bilinmemekle beraber, kronik enflamasyonun hem basit atrofi ile hem de postatrofik hiperplazi ile birlikte olduğu açıkça gösterilmiştir. De Marzo ve arkadaşları proliferatif inflamatuvar atrofinin (PIA) direkt olarak veya yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi (HGPIIN) ye yol açarak indirekt yolla PCa'nın prekürsörü olduğunu öne sürmüşlerdir. Araştırmalar PIA'daki sıklık, dağılım, proliferatif durum, molekuler değışiklikler ve kromozom 8 kazanımının PIA, HGPIIN ve PCa arasında bir ilgi olduğunu düşündürmektedir (Tomas ve ark 2007; De Marzo ve ark 1999; De Marzo ve ark 2007) (Şekil: 2.2.3.1).



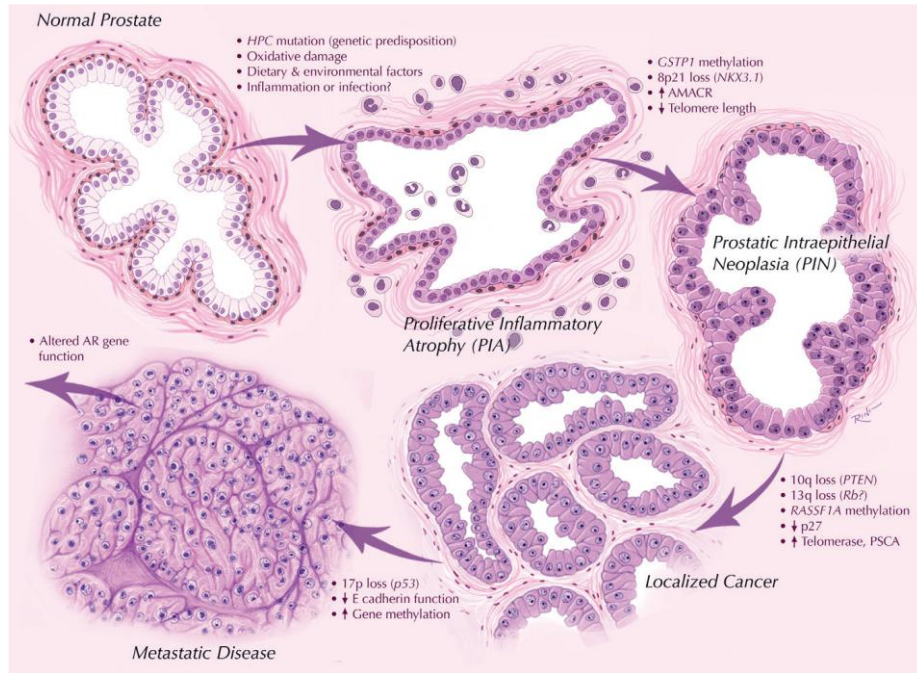
Şekil: 2.2.3.1. PCa Progresyonunun Hüresel ve Moleküler Modeli (De Marzo ve ark. 2007).

2.2.3.1.1. Prostatik İntraepitelyal Neoplazi (PIN)

PCa'nın öncül lezyonu olarak kabul edilen PIN, PIN1 (hafif), PIN2 (orta) ve PIN3 (aşırı) olmak üzere üç derecede incelenmektedir. Günümüzde PIN 1 düşük, PIN 2 ve 3 yüksek grade (High Grade) olarak sınıflandırılır. Yüksek grade PIN (HGPIIN), PCa için premalign lezyon olarak kabul edilmektedir (Oh ve ark 2003; Mikuz ve ark. 2007; Tomas ve ark 2007; De Marzo ve ark 1999).

HGPIN, prostatik duktus ve asinilerin neoplastik transformasyonu olup, sekretuar epitelde intraluminal proliferasyon, yapısal ve nükleer atipi ile karakterizedir (Ermete ve ark 2007). İğne biyopsilerinde HGPIN insidansı %1 ile %24 arasında değişse de, çalışmaların çoğunda %4 ile %5 kadardır. Bunların tekrar biyopsilerinde kanser çıkma oranı %23 ile %35 arasındadır (Eptein 2004; Ermete ve ark 2007).

PCa gelişiminin ilk basamakları genetik eğilim, oksidatif hasar, diyet, çevresel faktörler ve inflamatuvar değişikliklerle ilgilidir. Anormal promotör metilasyonu sonucu oluşan GST 1 gibi bekçi genlerin down regülasyonu neoplastik transformasyon potansiyelini arttırabilir. Kromozomal kayıplar ve telomer kısalması da genetik instabilite ve invazif hastalığa ilerleyişe katkıda bulunabilir. PIN'den lokalize kansere ve oradan da metastatik hastalığa ve androjen bağımsızlığına geçişte 10q ve 13q kromozomal bölgelerin kayıpları metilasyon değişiklikleri, tümör baskılayıcı gen fonksiyonlarının kaybı ve ilave mutasyonel olaylar görülür (Gonzalzo ve ark 2003; De Marzo ve ark 2007).



Şekil: 2.2.3.1.1. Normal Prostattan PİA, PIN, Lokalize Kanser ve Metastatik Kansere Gelişim Süreci (Gonzalzo ve ark 2003)

PIN ile karışabilecek benign lezyonlar (Baydar 2007);

- Bazal hücre hiperplazisi

- Şeffaf hücre hiperplazisi

- Santral zon histolojisi

PIN ile karışabilecek malign lezyonlar

- Klasik asiner adenokarsinom

- Duktal tip adenokarsinom

2.2.3.1.2. *Proliferatif İnflamatuar Atrofi (PIA)*

Kronik enflamasyonun birçok organ sistemlerinde kanser gelişimi ile bağlantılı olduğu çok eskiden beri bilinmektedir. Fokal prostatik glandular atrofisinin, PCa'nın muhtemel öncüsü olup kronik inflamasyonla bağlantıları tespit edilmiştir. Bu nedenle bu lezyonların inflamatuvar oksidanların (H₂O₂, Nitrik oksit gibi) sebep olduğu hasarın onarımı amacıyla epitelyum hücrelerindeki rejeneratif proliferasyon sebebiyle oluştuğu varsayılmaktadır.

Atrofiye yüksek seviyede Glutasyon-S-transferaz P1 (GSTP1) gibi birçok moleküler stres sinyal yolağı mevcuttur. GSTP1 kaybı hipermetilasyondan kaynaklanmaktadır. Sonuç olarak bu durum PIA'dan yüksek gradeli PIN'e ve daha sonra PCa'ya geçişi göstermektedir. Ayrıca PCa duyarlılık genleri RNASEL ve MSR1'de fonksiyon bozuklukları inflamatuvar yanıtta değişikliğe neden olur ve PIA lezyonları gelişimini tetikler (De Marzo ve ark 2007; Tomas ve ark. 2007).

2.2.3.1.3. *ASAP (Atipik Küçük Asiner Proliferasyon)*

Prostat iğne biyopsilerinde bazı glanduler odaklar HE boyası ile kanser için şüpheli olabirse de kimi zaman ayırımı yapılamaz. Bu lezyon ASAP olarak adlandırılır. ASAP yerine göre bir kanseri, PIN odağını, benign bir lezyonu veya yakın kümelenmiş benign prostat bezini temsil edebilir. İğne biyopsilerinde ASAP oranı %10 ile %15 arasındadır. Bunların tekrar biyopsilerinde kanser saptanma oranı yüksek olmakla birlikte %21 ile %49 arasındadır (Metin 2008; Ermete ve ark 2007; Epstein 1999).

2.2.3.2. *Histopatolojik Derecelendirme*

PCa'nın değerlendirilmesinde en yaygın kullanılan sistem, 1966 yılında Donald F. Gleason tarafından tanımlanan sistemdir. Birkaç kez revize edildikten sonra, 2005 yılında son şeklini almıştır (Baydar 2007; Ermete ve ark 2007; Epstein

2011). Bu sistemde sitolojik özellikler göz ardı edilerek glandların yapısal özellikleri temel alınır.

Bu özellikler 5 patern altında toplanmıştır (Ermete ve ark 2007).

Patern I: Uniform, yakın düzenlenme gösteren benign bezlere benzer oval-yuvarlak orta boy bezlerin oluşturduğu iyi sınırlı nodül yapısı.

Patern II: İyi sınırlı, orta boy neoplazik bezlerin yer yer çevreye uzanım gösterdiği çeşitli şekil ve boyutta bezlere benzer orta boy bezler şeklindedir.

Patern III: İnfiltratif, çeşitli boyut ve şekillerde bezler, Patern 1 ve Patern 2 deki bezlerden küçük, aynı veya daha büyük bezler arada belirgin stromal alan mevcut

Patern IV: İnfiltratif , iç içe geçmiş bezler, kötü sınırlı lümeni belirli olmayan küçük bezler, geniş kripriform yapılar görülür.

Patern V: Glandüler farklılaşma olmaksızın, kordonlar, tek tek hücreler, ortalarında nekroz olan solid kripriform yapılar.

Gleason skoru en fazla görülen patern ile ikincil görülen paternin toplamı ile elde edilir (4+3=7, 3+3=6, 4+4=8 gibi). Sadece tek patern görülüyorsa, kendi toplamı ile elde edilir (3+3=6 gibi). Radikal prostatektomi spesmeninde ikincil patern %5'in altında ise göz ardı edilir. Örneğin % 95'den fazla patern 4 ve %5'den az patern 3 ise skor 4+4=8 olarak belirlenir (Baydar 2007; Ermete ve ark 2007). Patern 4'ü tanımak önemlidir. Çünkü 4'ün prognozu, 3 den anlamlı olarak daha kötüdür (Epstein 2011).

Biopsi materyalleri ile daha sonra yapılan radikal prostatektomi materyalleri skorlar açısından birbiri ile iyi uyum göstermektedir. Gleason skor 7 ve daha yükseklerde bu uyum %87,5'dir (Epstein 2011). Gleason derecelendirme sistemi PCa'da güçlü bir prognostik göstergedir ve tedavi şeklini etkilemektedir (Epstein 2004; Ermete 2007).

Organa sınırlı olsa bile, skoru yüksek tümörlerde daha kısa yaşam beklentisi vardır (Baydar 2007). Gleason skoru 4 ve 5 olanların %4'ü kanserden ölürken, bu oran gleason skor 6 da %24 tür (Egevad ve ark 2002).

2.2.3.3. Prostat Kanserinin Evrelendirilmesi

Klinik evrelendirme, hem prognoz tayini yapmak hem de uygun tedavi kararı almak için yapılır. Patolojik evrelendirme ise cerrahi olarak çıkarılan dokuların histolojik analizine göre yapılır. Patolojik evrelendirme hastalık yükünü daha doğru ortaya koyar ve sonuçları öngörmeye daha yararlıdır (Loeb ve ark 2011).

PCa evrelerinde ilk olarak 1956'da Whitmore tarafından önerilen Whitmore–Jewett sistemi kullanılmıştır. Daha sonra değişik tarihlerde modifiye edilen bu sistem yerine günümüzde 1975'de AJCC (American Joint Committee on Cancer) tarafından ortaya konan ve 1992'de AJCC ve UICC (International Union Against Cancer) tarafında uyarlanan ve en son 2002'de modifiye edilen TNM sistemi kullanılmaktadır. Bu sistem sadece adenokarsinomlar içindir (Dillioğlugil ve ark 2007). T tümörün boyutu, N lenf nodlarının durumu ve M metastazların varlığı veya yokluğunu gösterir.

TX	Primer tümörün değerlendirilememesi
T0	Primer tümöre ait bulgu yok
T1	Klinik olarak tespit edilemeyen tümör (palpe edilemeyen ve görüntülenemeyen)
T1a	Tümörün, TUR ile rezeke edilen materyalin %5'inden daha azında bulunması
T1b	Tümörün, TUR ile rezeke edilen materyalin %5'inden daha fazlasında bulunması
T1c	Serum PSA yüksekliğine bağlı TRUS-biyopsi ile tespit edilen tümör
T2	Palpe edilen ve prostata sınırlı tümör
T2a	Bir prostat lobunun %50'sinden azını tutan tümör
T2b	Bir prostat lobunun %50'sinden fazlasını tutan tümör
T2c	Her iki prostat lobunu tutan tümör
T3	Tümörün prostatik kapsül dışına yayılımı
T3a	unilateral veya bilateral ekstrakapsüler uzanım veya mesane boynunda mikroskopik invazyon
T3b	Vezikula-seminalis invazyonu
T4	Tümörün vezikula-seminalis dışında diğer komşu yapılara invazyonu veya fiksasyonu
NX	Rejyonel lenf nodu(LN)'nın değerlendirilememesi
N0	Rejyonel LN metastazı yok
N1	Rejyonel LN metastazı var
MX	Uzak yayılımın değerlendirilememesi
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var
M1a	Nonrejyonel LN tutulumu
M1b	Kemik metastazı
M1c	Diğer uzak organların tutulumu

Tablo: 2.2.3.3. TNM evrelendirme sistemi (Mottet ve ark 2014).

Kaynak: EAU Prostat kanser kılavuzu

2.2.4. Klinik Bulgular

Daha önceleri metastaz bulguları ile hastalara PCa tanısı konulurken, PSA'nın 1987 den beri yaygın olarak kullanılması ile hastalık günümüzde daha çok lokalize evrede yakalanmaktadır. 1991 den beri metastatik hastalık sıklığı yılda %17,9 azalmaktadır (Dillioğlugil ve ark 2007).

PCa uretra içine ve mesane boynuna doğru büyürse, idrar boşaltmakta güçlük, idrar akım hızında azalma, idrar retansiyonu gibi obstruktif semptomlar, pollaküri, nokturi, ani idrar hissi, idrar kaçırma gibi irritatif işeme semptomları görülebilir. Bunun dışında kanserin etkilediği bölgelere göre hematospermi, ejakulat hacminde azalma, erektil disfonksiyon, kemik metastazlarına bağlı ağrılar, vertebral metastazlara bağlı nörolojik bulgular görülebilir (Dillioğlugil ve ark 2007). Yaygın hastalıkta alt ekstremitte ödemi, paraneoplastik sendromlar, dissemine intravaskular koagülasyon gelişebilir. Hematuri %15 den az görülür ve spesifik değildir. Rektum invazyonunda kabızlık, rektal kanama ve ishal görülebilir. Lokal olarak ureter invazyonuna bağlı olarak obstruktif üropati gelişebilir ve çift taraflı tutulumlarda üremi semptomları oluşur (Koşar 2007).

2.2.4.1. Tanı ve Evrelendirme Yöntemleri

PCa tanısında kullanılan yöntemler, parmakla rektal muayene (PRM), tümör belirteçleri (başlıca PSA ve PSA türevleri) ile transrektal USG (TRUS) ve biyopsidir. Kesin tanı biyopsi ile konur (Nuhoğlu 2007; Dillioğlugil ve ark 2007).

Evrelendirmede de bunlara ilaveten, bilgisayarlı tomografi (CT), magnetik rezonans görüntüleme (MRI) gibi radyolojik yöntemler, kemik sintigrafisi, lenfadenektomi ve histolojik derecelendirmeden faydalanılır (Nuhoğlu 2007; Dillioğlugil ve ark 2007).

2.2.4.2. Tümör Belirteçleri

1935 de insan ejakülatında prostatik asit fosfataz (PAP) tanımlanmış, daha sonra hem metastatik PCa dokusunda, hem de serumda sentezlenmiştir ve PCa da tümör belirteci olarak kullanılmıştır. Daha sonra PSA'nın yaygınlaşmasıyla, kullanım giderek azalmıştır (Bircan 2008).

Serum PSA analizi, halen günümüzde tanı ve takipte en sık kullanılan belirteçtir. Rutin uygulanmaya rağmen, organ spesifik olup, hastalığa özgü değildir.

Prostatın diğer patolojilerinde de yükselmektedir. Yüksek PSA da %75 – 80 olguda kanser tespit edilemez. Ayrıca bu yaygın kullanım, klinik önemi olmayan olgulara tanı konmasına (over detection) ve tedavi edilmesine (over treatment) neden olmaktadır (Tefekli 2012; Esen ve ark 2007; Stamey 2004). Son yıllarda serum, doku, idrar bazlı çok sayıda belirteç araştırılmıştır.

Kan bazlı belirteçler	Doku-hücre bazlı belirteçler	İdrar bazlı belirteçler
<ul style="list-style-type: none"> - PSA (hK3) - PSA deriveleri - PSA izofomları - hK2 ve hK11 - Urokinaz plazminojen aktivasyonu (UPA)/ - UPA reseptörü - TGF-β 1 ve IL-6 (ve IL-6-R) - Endoglin (CD-105) - VEGF (vascular endothelial growth factor) - VCAM-1 (CD106, vascular cell adhesion molecule-1) - Kombinasyonlar 	<ul style="list-style-type: none"> Tanısal boyalar - High molecular weight cytokeratin - p63 - AMACR Prognostik belirteçler - h-Kallikrein gen ailesi - PSMA - Ki-67 - Androjen reseptörleri - TMPRSS2 – ERG gen füzyonu - PTEN ve PI3K - p53 - SPINK1/TATI - MSMB ve EZH2 - E-Cadherin - HSP (heat shock protein) - DNA metilasyonu Glutathione S-transferase P (GSTP1) RASSF1A - HER-2 - NKX3.1 ve MYC - Kök hücreleri ve ALDH - micro-RNA'lar Dolaşımdaki hücreler 	<ul style="list-style-type: none"> Protein bazlı - AnnexinA3, - matrix metalloproteinaz (MMP)'ler - idrar/serum PSA oranı DNA bazlı - GSTP1 hipermetilasyonu RNA bazlı - PCA3 testi - TMPRSS2-ERG gen füzyonu - GOLPH2 transkript ekspresyon düzeyleri - SPINK1

Tablo: 2.2.4.2. PCa tanı, tarama ve Prognoz Tayininde Kullanılan Belirteçler (Tefekli 2012).

2.2.4.3. Prognostik Faktörler

PCa'nın doğal seyrini ve bunu etkileyen faktörleri saptamak güçtür. Yapılan çalışmaların ortak bulgusu, agresif PCa'yı saptamada en önemli prognostik faktörün patolojik tümör derecesi (Gleason Skor) olduğudur ve PCa'nın prognozuyla ilgili bilgi sağlamak amacıyla en yaygın kullanılan ve kabul edilen sistemdir (Eskiçorapçı 2007; Buhmedia ve ark 2006). Gleason skor, tümörün biyolojik davranışı ve metastatik potansiyeli için en güçlü bir prediktör olsa da birçok çalışma, tek başına kullanıldığında hastalığın gidişini öngörmeye yeterli olmadığını göstermiştir (Ross ve ark 2003).

Organa sınırlı hastalıkta, gleason skor dışında, yaş, kapsüler invazyon, PSA, tümör evresi ve anöploid en iyi göstergelerdir. İlerlemiş hastalıkta gleason skor ve

nükleer morfometri bir progresyon göstergesi olabilir. Tedavi planlamasını ideal yapmak için tek bir parametre yerine prognostik faktörlerden oluşan bir nomogram izlemek uygun olur (Eskiçorapçı 2007).

PCa'da, maalesef hastalığın seyrini güvenle tahmin etmek hala mümkün değildir. Bu nedenle prognostik faktör arama çabaları devam etmektedir. Literatür bilgileri altında PCa'da çalışılan önemli prognostik faktörler aşağıda özetlenmiştir.

A) Klinik – patolojik faktörler

- Yaş
- Tümör volümü
- Ekstra kapsüler yayılım
- Seminal vezikül invazyonu
- Tümörün geliştiği zon
- Heterojenite ve Multisentrite
- Morfometrik özellikler

B) Biyolojik Prognostik Faktörler

- E- Cadherin
- CD44
- IGF (İnsulin-like growth faktör)
- AR (Androjen reseptörü)
- PAP (Prostatik Asit Fosfataz)
- PSA ve türevleri
- PSMA (Prostat spesifik Membran Antijeni)
- Mikrodamar dansitesi (Angiogenez)
- p53
- p27
- pTEN
- Retinoblastoma proteinleri

C) DNA Ploidy

D) Hücre proliferasyonu

- Ki-67

- Sphase fraction

- Gene – expression profiling

2.2.5. Prostat Kanserinin Moleküler Temeli

2.2.5.1. Kalıtsal Genetik Değişiklikler ve Yatkınlık

PCa'ini epidemiyolojik olarak sporadik, familial ve herediter olmak üzere üçe ayırmak mümkündür. Familial PCa aile içinde çoklu PCa vakalarının varlığı ile tanımlanır. Aynı ailede iki tane birinci derecede PCa'li akraba (baba, kardeş, oğul) ya da bir tane birinci derece ve en az iki tane ikinci derece (dede, dayı, amca) PCa'li akrabanın olduğu ailelerde familial PCa'inden bahsedilmektedir. Aile içindeki bu yığılım paylaşılan ortak çevresel şartlara ya da PCa'nin genel popülasyondaki yüksek frekansına bağlı tesadüften kaynaklanabileceği gibi genetik yatkınlığa da bağlı olabilmektedir. PCa riskinin etkilenmiş akraba sayısı ve probanda olan yakınlık derecesi ile orantısız arttığı düşünülmektedir (Epstein 1999). Üç ya da daha fazla PCa'li birinci derece akrabası olan erkekler PCa aile öyküsü olmayan erkeklere göre 5-11 kat artmış risk ile karşı karşıyadır (Carter ve ark 1990).

Prostat kanseri vakalarının %5-10'unu Herediter PCa oluşturur (Carter ve ark 1993). Herediter PCa Carter ve ark (1993) tarafından tanımlanan aşağıdaki kriterlerden biri ile karakterize edilmektedir (Carter ve ark 1993).

- Üç ya da daha fazla birinci derece PCa'li akrabanın olması,
- Ard arda üç jenerasyonda PCa'nin görülmesi
- 55 yaşından önce PCa tanısı almış 2 kardeşin bulunmasıdır.

PCa'nin herediter vakalarının sporadik vakalarına göre daha erken yaşlarda PCa'ne yakalanma eğiliminde olmalarına rağmen, herediter ve sporadik formlar arasında patolojik özellik, nüks insidans ve progressiyonun biyolojik gücü bakımında bariz farklılıklar bulunmamaktadır (Carter ve ark 1993). Herediter PCa'nin genetiği komplekstir ve çeşitli genler yatkınlık faktörü olarak öne sürülmüştür. Herediter prostat kanseri için başlıca üç loküs tanımlanmıştır. Bunlar;

- HPC1 (Hereditary prostate cancer 1), 1q24-25 haritalanmıştır. Bu loküste lokalize RNASEL geninin germline mutasyonlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Carpton ve ark 2002; Rokman ve ark 2002). RNASEL 'in interferon ile düzenlenen 2-5A yolağı aracılığı ile hücre proliferasyonu ve apoptozu regüle ettiği bilinmektedir (Lengyel 1993).

- HPC2 loküsü 17p11 bölgesine lokalizedir. Bu lokusta yer alan ELAC2 (tRNA Processing Endoribonuclease) muhtemelen hücre döngüsü kontrolünde rol oynayan ve mitotik aparatın bir bileşeni olan gamma tubulin ile ilişkili bir endoribonükleazı kodlamaktadır (Korver ve ark 2003). Özellikle bu gendeki 2 missense mutasyon herediter prostat kanseri ile ilişkilendirilmiştir (Tavtigian ve ark 2001; Takahashi ve ark 2003).

- 8p 22 loküsü herediter PCa'de tanımlanmış bir başka lokus olup PCa'de sıklıkla delete olduğu gözlenmektedir (Xu ve ark 2002; Xu ve ark 2003). Bu lokusta yer alan MSR1 (Macrophage Scavenger Receptor 1) linkage ve asosiasyon çalışmalarında tanımlanmış bir aday gen olup enfeksiyonlarda ve prostat karsinogenezinin çeşitli aşamalarında iş gören bir proteini kodlamaktadır (Lissbiant ve ark 2000).

Prostat kanserlerinin büyük bir bölümü sporadiktir. Hastalığın başlangıcı, gelişimi ve yayılımında çeşitli moleküler yollar rol oynar. Hücresel ve moleküler düzeyde PCa'nin oluşumu ve agresifliği genetik anomaliler tarafından yönlendirilir. Her karsinom odağının regülatör genleri etkileyerek kendisine büyüme ve survive yani hayatta kalma avantajı kazandıran genom değişikliklerini biriktirmiş tek bir hücreden köken aldığı düşünülmektedir. Edinilen ilave değişikliklerde lokal invazyon ve metastaza yol açmaktadır. Primer prostat kanserinde klasik onkogenlerde ya da tümör supressor genlerde mutasyon yaygın değildir ve postat kanserine spesifik mutasyonlar tanımlanmamıştır. Bununla birlikte çeşitli moleküler ve genetik değişiklikler Prostat kanseri ile ilintilendirilmiştir.

Tablo 2.2.5.1’de prostat karsinogenezinde rol oynadığı düşünölen genler ve bu genlerde meydana gelen değişiklikler ve/veya mutasyonlar verilmiştir.

Gen	Fonksiyonu	Gösterdiği değişim
MSR1	Anti-enfeksiyöz, çöpçü reseptör	Azalmış aktivite
RNASEL	Anti-enfeksiyöz, apoptoz	Azalmış aktivite
ELAC2	Metal bağımlı hidrolaz	Azalmış aktivite
NKX3.1	Hücre farklılaşması ve proliferasyon	Hetero. kaybı
AR	Hücre proliferasyonu, survival ve farklılaşması	Nok. mutasyon, amp., polimorf
CYP17	Androjen metabolizması	Polimorf.
SRD5A2	Androjen metabolizması	Polimorf., artmış aktivite
GSTP1	Karsinojen detoksifikasyonu	Promoter hipermetilasyonu
P53	Hücre survivalı ve proliferasyonu	Hetero. kaybı, nok. mutasyon
P27	Hücre döngüsü regölatörü	Hetero. kaybı, mutasyon
P16	Hücre döngüsü regölatörü	Hetero. kaybı, mutasyon
MDM2	P53’ün kontrolü	Ekspresyon artışı
CDK4(P27KIP1)	Hücre proliferasyonu	Hetero. kaybı,
Bcl2	Hücre survivalı	Ekspresyon artışı
Rb	Hücre döngüsü regölatörü	Hetero. kaybı, mutasyon
FAS	Yağ asidi sentezi	Ekspresyon artışı
AMACR	Yağ asidi metabolizması	Ekspresyon artışı
C-Myc	Hücre proliferasyonu	Ekspresyon artışı
Caveolin-1	Sinyal iletim elementi	Up-regöle
E-cadherin	Hücre adezyonu	Azalmış ekspresyon
CD44	Hücre adezyonu	Promoter hipermetilasyonu
Vit.D Reseptör	Büyüme faktörü reseptörü	Azalmış aktivite
c-erbB1	Büyüme faktörü reseptörü	Up-regöle
c-erbB2	Büyüme faktörü reseptörü	Up-regöle
IGF-1R	Büyüme faktörü reseptörü	Up-regöle
TGF- α	Büyüme faktörü	Ekspresyon artışı
EGF	Büyüme faktörü	Ekspresyon artışı
IGF1 ve 2	Büyüme faktörleri	Ekspresyon artışı
IL-6	Sitokin	Değişmiş aktivite
PTEN	Lipid fosfataz, hücre survivalı ve proliferasyon	Hetero. kaybı, mutasyon
KAI1	Putatif integral membran protein	Hetero. kaybı, mutasyon

BRCA1 ve 2	Tümör supressör genler	Hetero. kaybı, mutasyon
FHIT	Tümör supressör gen	Hetero. kaybı, mutasyon
COX2	Siklooksijenaz	Ekspresyon artışı
HSP27	Isı şok protein	Ekspresyon artışı
Telomeraz	Ribonükleoprotein	Azalmış aktivite
HTERT	Hücre immortalitesi	Ekspresyon artışı
HPN	Transmembran proteaz	Ekspresyon artışı
EZH2	Hücre profilerasyonu, transkripsiyonel repres.	Ekspresyon artışı
MX11	C-myc regülatörü	Mutasyon
NBS1	DNA tamiri, hücre döngüsü	Mutasyon
KLF6	P21 regülatörü	Delesyon, fonksiyon kaybı
ATFB1	α -fetoprotein transkripsiyon faktörü	Mutasyon
Annexin	Kalsiyum homeostazisi, hücre mortalitesi	Down-regüle

Tablo: 2.2.5.1. Prostat Karsinogenesinde Rol Oynadığı Belirlenmiş Gen Listesi

Nokta mutasyon: Nokta mutasyon, Polimorf: Polimorfozizm, Hetero kaybı: Heterozigote kaybı, Vecchione ve ark (2007)'den modifiye edilmiştir.

2.2.5.2. Somatik Değişiklikler (Kanserin Oluşum Mekanizmaları)

Karsinogeneizde her evre genetik değişikliklerle ve spesifik kromozom bölgelerinin kaybı ile ilişkilidir. Prostatik epitelyal neoplazi (PIN)'nin prostat karsinogenesinde invaziv karsinomun morfolojik prekursorü olduğu düşünülmektedir. PIN'de erken invaziv karsinomlarda bulunanlara benzer kromozom anomalileri bulunur (Nagle ve ark 1991). Erken invaziv karsinomlarda yaygın şekilde gözlenen hücre adhezyon proteini olan E-kaderinin ve sitoskelet bileşeni olan Vimentin'in ekspresyonlarındaki azalış PIN'de de gözlenmektedir.

Erken PCA'de yaygın şekilde gerçekleşen olaylardan birisi de 8p'nin delesyonudur ve vakaların genellikle yarısında fazlasında gözlenir (Chang ve ark 1994). Kayıplar en çok 8p12-21 ve 8p22'de meydana gelmektedir. 8p12 ve 8p21 delesyonları daha çok PIN'de tanımlanırken, 8p22 delesyonları ise sıklıkla ileri metastatik tümörlerde gözlenir (Haggman ve ark 1997). Bu bölgede TEM5, RBP-MS, FE21/LZTS1 ve NKX3 gibi aday tümör supressör genler bulunmaktadır (Bookstein ve ark 1997; Cebeza-Arvelaiz ve ark 2001).

2.2.5.3. Kanser Progressiyon Mekanizmaları (Kromozomal Değişiklikler)

PCa'nin ekspresyonunda çok sayıda loküste farklı kromozomlar işe karışmaktadır. Delesyonlar amplifikasyonlardan daha siktir ve muhtemelen delesyonlar PCa'nin erken safhalarında görülürken, amplifikasyonlar, progressiyonun daha geç safhalarında gözlenmektedir. Sporadik PCa'de tümör supressor genlerin regülasyonunda ya da ekspresyonunda değişikliğe neden olan heterozigote kaybı (LOH) en az 9 kromozomda kaydedilmiştir. Bu kromozomlar 5q, 6p, 6q, 7q, 8p, 8q, 10p, 10q, 12p, 12q, 13q, 16q, 17p, 17q, 18q'yu kapsamaktadır (Latil ve ark., 1994; Zenklusen ve ark, 1994; Takahashi ve ark, 1995; Cunnigham ve ark, 1996; Elo ve ark, 1997; Latil ve ark, 1997; Saric ve ark 1999; Verma ve ark, 1999).

8q ve 7q'deki artışlar PCa vakalarında epeyce yaygındır (Abate-Shen ve ark 2000). 8q artışı hormonal terapi sonrası PCa progressiyonu ve Tm nüksü ile ilişkilendirilmiştir (Ven-Dekken ve ark 2003). 8q amplifikasyonundan etkilenen muhtemel hedef gen 8q24'te lokalize olan c-Myc onkogenidir. Çalışmalar PCa'de c-Myc transkript düzeyinin benign prostatik hiperplaziye göre önemli ölçüde yüksek olduğunu ve yüksek Gleason derecesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Myoshi ve ark 2000). Yine de bu genin PCa gelişimine ve progressiyonuna olan katkısı tartışmalıdır. Bazı PCa vakalarında 7. kromozomda hem artış hem de kayıplar bildirilmiştir. Ancak 7q'daki allelik imbalansın amplifiye olan onkogenen mi, tümör supressor genin allelik kaybından mı yoksa 7q31'de lokalize frajil bölgenin instabilitesinden mi kaynaklandığı net değildir (Jenkins ve ark 1998).

8p delesyonundan sonra kanser progressiyonunda en sık görülen delesyon 10q delesyonudur. Delete olan bölgenin tam haritalamasının yapılamamış olmasına rağmen, potansiyel aday genler arasında 10q23'e haritalanan PTEN/MMAC1 en yaygın gen gibi görünmektedir (Leube ve ark 2002; Ittmann 1996). 10q delesyonu yüksek Gleason skoru ileri evre ile önemli bir korelasyon gösterir ve prostat kanseri tedavisinin ana hedeflerinden biri olması muhtemel gözükmektedir (Ali ve ark 1999; Schaffer ve ark 2003).

16q'nun heterozigote kaybı (LOH) PCa progressiyonunda gözlenen bir diğer değişikliktir. 16q'nun en az üç farklı bölgesinin (16q22.1, 16q23.2 ve 16q24.3) PCa gelişimi ve metastazında rol oynayan bir ya da daha fazla tümör supressör geni

içerdiği düşünülmektedir. Ayrıca 16q'nun telomerik delesyonlarının tümör agresivitesi ile ilişkili olduğu öne sürülmektedir (Elo ve ark 1997). 5q, 6q ve 17p'de de bazı vakalarda kayıplar görülmüştür.

PCa'lerinde gözlenen diğer kromozomal artışlar daha düşük frekansta ve genellikle karsinogenezin daha ileri evrelerinde görülmektedir. Bununla birlikte prostat karsinomları düzenli olarak tanımlanmış kromozomal instabiliteler göstermezler ve meydana gelen değişiklikler genellikle sınırlıdır.

2.2.5.4. Tümör Supressör Genler

Prostat karsinogenezinde tümör supressor olarak sorumlu tutulan genler sürekli allelik kayba neden olan delesyon bölgelerine lokalize genlerdir. Bunlardan p53 ve PTEN'in prostat karsinogenezinde işe karıştığı açıktır. Bu genlerin yerleşim gösterdiği 17p ve 10q bölgelerinin kayıpları ilerlemiş kanserlerde görülmektedir. Allelik kayıba kalan allelin nokta mutasyonu da eklenince bu genlerde fonksiyonel inaktivasyon meydana gelmektedir (Heidenberg ve ark 1995; Cairns ve ark 1997). Buna rağmen, prostatik karsinogenezden sorumlu spesifik bir tümör supressor gen belirlenmemiştir.

RB1'in prostat karsinomunda en sık delete olan bölgelerden birinde 13q14'te yer alıyor olmasına rağmen bile RB1 prostat kanserinde belirleyici tümör supressor gen olarak kabul edilmemiştir. RB1'in kalan kopyası normal görünmektedir. Protein düzeyindeki down regülasyon immunohistokimya ile gösterilmiş olmasına rağmen, çalışmaların sonuçları birbirinden farklıdır (Latil ve ark 1999; Tricoli ve ark 1996). Hücre döngüsü regülatör genleri arasında CDK inhibitörü p27Kip1'in fonksiyon kaybı özellikle prostat kanserinde yaygındır ve hastalığın seyri için prognostik bir belirteç olabileceği ileri sürülmektedir (Macri ve ark 1999). P27Kip1 ileri prostat kanserinde sık görülen delesyon bölgesi olan 12p12-13,1'e haritalanmaktadır. Çeşitli çalışmalar p27 ekspresyon kaybının tümör grade ile ilişkili olduğunu (Macri ve ark 1999; De Marzo ve ark 1998), BPH'de p27 ekspresyon kaybının görülmediğini göstermiştir (Cordon-Cardo ve ark 1998). P27 ekspresyonunun deregülasyonunun androjen ile uyarılmış proliferasyona hassas olan hücreleri prostatik neoplazi haline getirmede kritik bir aday gen olabileceği öne sürülmektedir (Macri ve ark 1999).

Yine 9p21'de lokalize p16 (CDKN2, MTS/INK4A)'nın primer PCa'de nadiren mutasyona uğrarken, ileri metastatik kanserde daha çok mutasyon geçirdiği ve androjenlerce down-regüle edildiği bildirilmektedir (Tamimi ve ark 1996; Halvorsen ve ark 2000). P16'nın ekspresyonunun mRNA seviyesinde prostat kansinomlarının %43'ünde azalma tespit edilirken, BPH'de böyle bir azalma saptanmamıştır (Schaffer ve ark 2003). Bunun aksine, bazı çalışmalar ise bu genin up-regülasyonunun PCa'nin tekrarlamasında tanısai bir belirteç olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Halvorsen ve ark 2000; Lee ve ark 1999).

2.2.5.5 Onkogenler

PCa'deki onkogen içeriğinin büyüklüğü belirsizdir. C-MYC onkogenin primer prostat kanserlerinin % 8'inde ve metastatik lezyonların % 30 kadarında amplifiye olduğu ve ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir (Nupponen ve ark 1998; Sato ve ark 1999). Ekspresyon artışı ilerlemiş prostat kanserinde kötü prognoz ve Gleason derecesi ile ilintilendirilmiştir (Sato ve ark 1999). c-ErbB2 (Her 2 nen) geninin de prostat kanserinde fazla eksprese olduğunu öne süren ve ekspresyon artışını prostat kanserinin androjen bağımsızlığına yönelişi ile ilişkili bulan çalışmalar vardır (Lara ve ark 2002; Calvo ve ark 2003).

Normal prostatta eksprese olmayan Bcl-2 geninin de prostat ve diğer primer kanserlerde yaygın şekilde eksprese olduğu bilinmektedir (Vaux ve ark 1988). Atopik yolağı inhibe ederek hücre survivalınının sürekliliğini sağlayan Bcl-2'nin hastalığın ileri safhalarında ekspresyonunun artıyor olmasından dolayı androjen bağımsız prostat kanseri gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir (Catz ve ark 2003; McDonnell ve ark 1992).

Daha çok prostatta eksprese edilen ve bir hücre yüzey reseptörü olan prostat kök hücre antijeni (PSCA)'nin PCa'de ekspresyonunun arttığı ve bu artışın tümörün Gleason derecesi, stage'i ve androjen bağımsızlığına gidişatı gibi klinik özellikleri ile korelasyon gösterdiği bulunmuştur (Gu ve ark 2000; Zhigang ve ark).

E26 transformasyon spesifik (ETS) transkripsiyon faktörleri ailesine ait ERG (ETS related gene) ve ETV1 (ETS variant gene)'nin de hem primer hem de metastatik prostat kanserinde ekspresyonlarının artışı gözlenmiştir. Muhtemel mekanizma olarak bu iki genin TMPRSS2 (Transmembrane protein serine 2) genine

füzyonu ile androjen-yanıt füzyon onkoproteinlerinin oluştuğu gösterilmiştir (Falzarano ve ark 2011).

Hücre büyümesinde önemli rol oynayan bir transmembran bağlı serum proteaz olan Hepsin ekspresyonu da prostat kanserinde artış göstermektedir. Hepsinin ekspresyon seviyesi ile yüksek Gleason skorunun ilişkili olduğu ve kötü klinik gidişatın göstergesi olduğu öne sürülmektedir (Magee ve ark 2001; Stephan ve ark 2004).

Prostat kanserlerinde ekspresyonu artış gösteren bir başka protein de AMACR (A-methyl Coenzyme A racemase)'dır. Yağ asiti oksidasyonunda işe karışan AMACR'ın artmış ekspresyonu patologlar tarafından immunohistokimyasal yöntem olarak PCa'nin tanısında kullanılmaktadır (Lloyd ve ark 2008).

Prostat kanserinde rol oynayan genlerden bir diğeri AR (Androjen Reseptör) genidir. Androjen ve AR prostatın normal gelişimi ve fonksiyonlar için kritik öneme sahip proteinlerdir. AR bir nükleer reseptör olup çeşitli büyüme faktörü sinyal iletim yollarını aktive ederek dolaylı olarak veya hedef genlerin (PSA, TMPRSS2 gibi) regülatör bölgelerindeki spesifik elemanlarla etkileşerek doğrudan gen ekspresyonunu düzenler (Shand ve ark 2006).

Birçok metastatik androjen-bağımsız prostat kanseri AR genini yüksek düzeyde eksprese eder. Metastatik hücrelerde AR geninde nokta mutasyonlar gösterilmiştir (Hughes ve ark 2005). Bazı çalışmalar da CAG tekrar polimorfizmi uzunluğu ile AR'ın transkripsiyonel aktivitesi arasında ters ilişki olduğunu bulmuştur (Shand 2006; Hughes ve ark 2005).

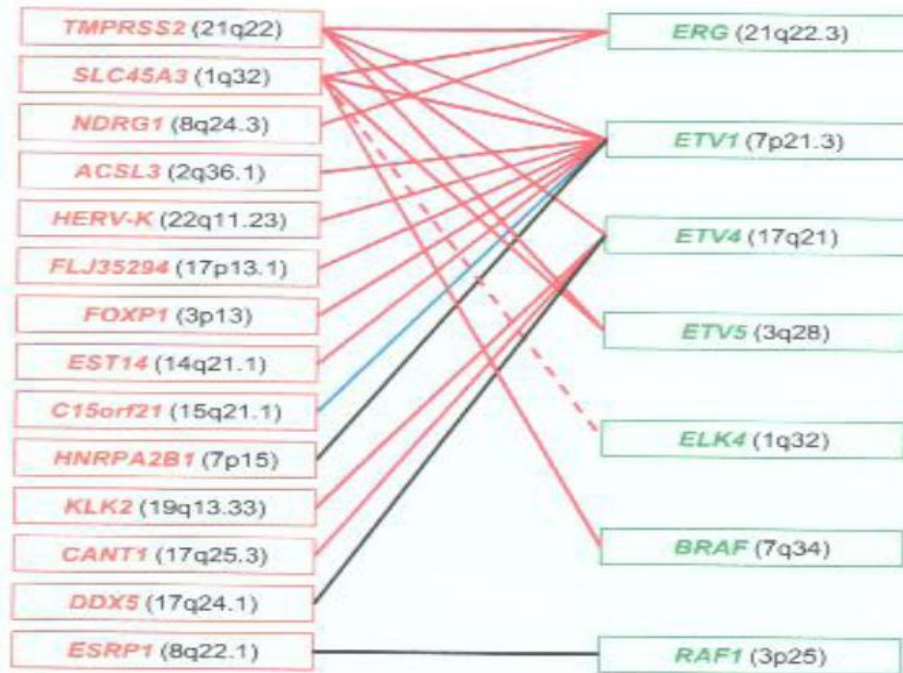
Bazı sporadik ve herediter PCa'de CYP17 allel mutasyonları bulunmuştur. CYP17 testosteron sentezinden sorumlu olan sitokrom P 450c17 α enzimini kodlar (Hughes ve ark 2005).

Vitamin-D reseptörü (VDR) spesifik olarak vitamin D'nin aktif hormonunu bağlayan bir reseptör olup farklılaşmayı uyarır ve prostat kanseri hücrelerinin proliferasyonunu inhibe eder. VDR varyantlarında tanımlanan polimorfizmler ile prostat kanseri arasında ilişki olduğu öne sürülmektedir (Çicek ve ark 2006).

2.2.5.6. Gen Füzyonları

Kromozomal translokasyonlar hematopoetik hastalıklarda ve sarkomalarda önemli rol oynarken, solid tümörlerde gen delesyonu ya da amplifikasyonuna yol açan tam ya da parsiyal kromozom kopya sayısı değişiklikleri etkili olmaktadır. Ancak son yıllarda prostat kanserinde rekurrent gen füzyonlarının gerçekleştiği de saptanmıştır (Tomlins ve ark 2009). En sık tanımlanan gen füzyonu Androjen ile aktive olan transmembran proteaz serin 2 (TMPRSS2) ve eritroblast transformasyon spesifik (ETS) ailesinin üyesi olan ERG genleri arasındaki füzyondur. Bu iki gen 21q'da 3 Mb ara ile yer alırlar. TMPRSS2/ERG füzyonlu vakaların % 60'ından fazlasında interstisyel delesyon (21q22.2-3) gözlenmiştir (275,276). ERG dışındaki diğer ETS genleri (ETV1, ETV4 ve ETV5)'in de prostat kanserinde farklı partnerler ile gen füzyonuna karıştıkları bulunmuştur. Prostat spesifik antijenlerce uyarılmış gen (SLC45A3) ve N-myc downstream düzenlenmiş gen 1 (NDRG1) gen füzyonunda ERG'nin diğer 5' partnerleri olarak belirlenmiştir (Mani ve ark 2009). ETS ailesi dışında RAF ailesi üyelerinin de gen füzyonlarında 3 füzyon partneri olarak işe karıştıkları saptanmıştır (Gu ve ark 2011).

Sonuç olarak delesyon, insersiyon, inversiyon ya da translokasyon gibi yapısal kromozom anomalileri ETS ya da RAF ailesi genlerinin bir başka gen ile füzyon oluşturmalarına yol açabilmektedir.



Şekil: 2.2.5.6. Prostat Kanserinde Saptanan Gen Füzyonu

Şekil: 9.1.'de prostat kanserinde gözlenen gen füzyonları. Kesiksiz çizgiler kromozomal yeniden düzenlemelerin yol açtığı gen füzyonlarını, kesik çizgiler de mi, kromozomal yeniden düzenleme olmaksızın oluşan füzyon transkriptleri göstermektedir. Kırmızı: ekspresyonu androjenle upregüle olanlar, mavi: ekspresyonu androjenle downregüle olanlar, siyah: ekspresyonu androjen bağımsız olanlar (Gu ve ark 2011).

2.2.5.7. Epigenetik Mekanizmalar

Metilasyon: Kanserin kompleks doğasını tek başına genetik komponentlerle açıklamaya çalışmak zordur. Epigenetik modifikasyonların da karsinogeneze önemli katkıları vardır. DNA'nın kendi dizisinde bir değişikliğe yol açmaksızın sadece gen ekspresyonunu ve gen ekspresyonu regülasyonunu etkileyen kalıtsal değişiklikler demek olan epigenetik modifikasyonlardan DNA metilasyonu ve histon modifikasyonu prostat kanserinde sıklıkla görülmektedir (Jeronima ve ark 2011; Shen ve ark 2000).

PCa'de en yaygın görülen epigenetik modifikasyon Glutatyon S-transferaz (GSTP1) geninin hipermetilasyonudur. GSTP1 genotoksik ve karsinojenik bileşiklerin detoksifikasyonunda rol oynayan bir enzimdir. GSTP1 hipermetilasyonu benign hiperplastik prostat dokusunda bulunmazken PCa'li hastaların % 70-90'ında görülmektedir (Nakayama ve ark 2003). Benzer şekilde Zeste homolog 2 (EZH2)'nin histon metil transferaz enhancerinin up-regülasyonu metastatik PCa'de bildirilmiştir. Yüksek EZH2 ekspresyonu gösteren lokalize PCa'nin daha kötü prognoza sahip olduğu belirlenmiştir (Varambally ve ark 2002). EZH2'nin yüksek ekspresyonu benign hiperplastik prostat dokusu ile karşılaştırılan hormon-dirençli PCa'de de tespit edilmiştir (Varambally ve ark 2002; Saramaki ve ark 2006).

EZH2 27'nci lisinde histon H₃'ün trimetilasyonunu katalizler ve gen ekspresyonunda işe karışarak tumor supressor genlerin sessizleşmesiyle PCa tumorogenezine katkıda bulunur (Gu ve Brothman 2011).

Prostat kanserinde 40'dan fazla genin hipermetile olduğu gösterilmiştir. PCa'de sıklıkla hipermetile olan genlerin listesi Tablo 2.2.5.7'de verilmiştir.

Gen	Kromozom Lokasyonu	Gen Fonksiyonu
GSTP1	11g13	Detoksifikasyon
CDH	16g22.1	Hücre adezyonu
APC	5g21	Tümör supressor, hücre adezyonu, apoptoz
RASSF1A	3g21.3	Tümör supressor
ER	6g25.1	Proliferasyon ve farklılaşma
SSBP2	5g14.1	Genom stabilitesinin sürdürülmesi
RARB2	3g24	Gen ekspresyonunun regülasyonu
LGALS3	14g22.3	Apoptoz, hücre adezyonu
Kaveolin-1	7g31.1	Tümör supressor
PTGS2	1g25.2	Inflamasyon ve mitoz
MDR1	7g21.12	Çoklu ilaç direnci
RUNX3	1g36	Tümör supressor

Tablo: 2.2.5.7. PCa'de Sık Olarak Hipermetile Olan Gen Listesi (Gu ve Brothman 2011)

PCa'ini de kapsayan çeşitli malignansilerde gözlenen ikinci bir metilasyon defekti de Hipometilasyon'dur (Bedford ve ark 1987). Hipometilasyonun c-MYC ve H-RAS gibi onkogenlerin veya latent retrotranspozonların aktivasyonu ya da kromozom instabilitesinin uyarılması gibi mekanizmalardan biri aracılığı ile karsinogeneze katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir (Dos ve ark 2004). Nitekim prostat kanseri dokularında androjen bağımlı büyüme için gerekli olan MYC'in overekspresyonu ile klinik progressiyon arasında güçlü bir ilişki bulunduğu gösterilmiştir (Gurel ve ark 2008).

Prostat kanserinde hipometilasyon ile aktive olduğu bulunan genlerden birisi Urokinaz Plazminojen Aktivatör (PLAU) genidir. PLAU çeşitli malignansilerde tümör invazyonunda ve metastazda rol oynamaktadır (Van Veldhuizen ve ark 1996; Helenius ve ark 2001). Kromozom 8'deki değişiklikler ile PLAU hipometilasyonu arasında güçlü bir ilişki olduğu gösterilmiş ve PLAU hipometilasyonu ile kromozom 8 değişikliklerinin prostat karsinomunda birbirleri ile mekanik olarak bağlantılı olabilecekleri öne sürülmüştür (Schulz ve ark 2002).

Yine Treofil Faktör1 ve 3 (TFF1 ve TFF3)'ün de PCa'de hipometilasyona uğradığı tespit edilmiştir. Treofil faktörler en çok gastrointestinal epitelyumda olmak üzere birçok dokuda eksprese olan ve çeşitli kanserlerde ekspresyonu artan antiapoptotik ve anjiyogenik özellikler gösteren peptidlerdir (Vestergaard ve ark 2010).

Histon Modifikasyonu: Histon modifikasyonları DNA metilasyonu ile birlikte nükleer materyalin yapılandırılmasında çok önemli rol oynar. Transkripsiyonun ve diğer nükleer proseslerin düzenlenmesinde görev alırlar. Histon modifikasyon örüntüsündeki değişiklikler genomun yapısını ve bütünlüğünü etkileyebilir, gen ekspresyonunun normal işleyişini bozabilir (Dobosy ve ark 2001; Kuo ve ark 1998).

Histon modifikasyonunun prostat tumorogenezi süresince önemli rol oynadığına dair giderek artan kanıtlar vardır. Bu modifikasyonlar tümör stage'i preoperatif prostat-spesifik antijen düzeyleri ve kapsül invazyonu gibi diğer özelliklerden bağımsız olarak prostat kanserinin klinik sonucunun/gidişatının belirteci olabilir (Seligson ve ark 2005). Yüksek tekrarlama riski yada kötü prognozu olan hastaların tanımlanmasına yardım edebilir (Ellinger ve ark 2010). PCa hücre dizilerinde Histon 3 Lizin 9 metilasyonu (H3K9) AR geninin baskılanması ile bağlantılı iken (Yamane ve ark 2006) Histon 3 Lizin 4 (H3K4) metilasyonu kastrasyon dirençli PCa hücre dizilerinde AR geni aktivasyonu ile ilişkilidir.

H3K4 kastrasyon dirençli PCa'de UBE 2C protoonkogeninin AR enhancerında metillenmiştir ve bu durum AR bağlanmasına ve UBE2C geninin ekspresyonuna yol açar (Wang ve ark 2009).

miRNA'lar: PCa'de çeşitli miRNA'ların da farklı regüle edildiği ve tumor supressor ve onko-miR'ler olarak iş gördükleri bildirilmiştir. miR-221 ve miR-222'nin androjen bağımlı PCa hücre dizisiyle karşılaştırılan kastrasyon-dirençli prostat kanserinde upregüle oldukları gösterilmiştir (Sun ve ark 2009). miR221 ve miR-222'nin onkogenik özellikleri siklin bağımlı kinaz (Cdk) inhibitörleri p27kip1 ve p57kip2'yi kontrol etmelerinden ve böylece G₁-S fazı geçişini kontrol etmelerinden kaynaklanır (Medina ve ark 2008; Mercatelli ve ark 2008).

miR-221 ve miR222'nin agresif tümörlerde (Gleason derecesi ≤ 7) daha az agresif olan tümör (Gleason derecesi > 7) dokularına göre daha fazla eksprese oldukları bildirilmiştir (Lin ve ark 2011).

Benzer şekilde normal kişilerle karşılaştırıldığında metastatik PCa serum örneklerinde miR143 ile birlikte mi1256'nın de upregüle olduğu gösterilmiştir (Mitchell ve ark 2008). Buna karşılık bazı çalışmalarda da normal ya da benign prostatik hiperplastik örneklerle karşılaştırılan PCa'de miR-1256'nin downregüle olduğu saptanmıştır (Ozen ve ark 2008; Porkka ve ark 2007). miR-125'in prostat kanseri hücre dizilerinde hücre proliferasyonunu regüle ettiği gösterilmiş (Lee ve ark 2005) ve androjen sinyal sistemi tarafından upregüle edildiği öne sürülmüştür (Ribas ve ark 2009). PCa'de miR-1256'nin BCL-2'nin pro-apoptotik üyesini kodlayan BAK1 (Seligson ve ark 2005) ve translasyon repressor ailesi üyesini kodlayan EIF4EBP1 (Eucaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1) genlerini hedeflediği bildirilmiştir (Ozen ve ark 2008).

Yine postat kanseri dokularında miR-16, miR-23, miR-99, miR-29 ve miR-30'un downregüle olduğu bulunmuştur (Ozen ve ark 2008; Porkka ve ark 2007).

Ambis ve ark (2007) ise, prostat kanseri hücrelerinin normal prostat hücrelerine göre daha yüksek seviyede miR-32 eksprese ettiklerini bulmuştur. Ayrıca miR-32, miR-26a, miR-196a, miR-181a, miR-25, miR-93, miR-92 ve let-7i'nin de upregüle olduğunu tespit etmiştir.

PCa'de işe karışan miRNA'lardan biri de miR 21'dir. AR (Androjen Reseptör)'ünce düzenlenen miR-21'in kastrasyon dirençli PCa'de bitişik normal dokulara göre daha fazla eksprese edildiği saptanmıştır (Ribas ve ark 2009).

PCa'de çeşitli miRNA'larda tümör supressor olarak tanımlanmıştır. Bunlar miR-143, miR-145 ve miR-200 ailesini kapsamaktadır. miR-143 ve miR-145'in ekspresyonları PCa'de önemli ölçüde baskılanmakta ve metastaz ile negatif bir ilişki göstermektedir (Peng ve ark 2011). Bu miRNA'lar epitelyal-mezenşimal transisyon (EMT) (Peng ve ark 2011) ve EGFR/RAS/MAPK üzerindeki baskılayıcı etkilerinin ortadan kalkması (Koung ve ark 2009) yoluyla PCa progressiyonuna yol açarlar.

miR-205 ve miR-200 ailesi miRNA'larının da PCa'de downregüle olduğu ve 2EB1 ve 2EB2'yi hedefleyerek EMT'yi düzenledikleri gösterilmiştir (Koug ve ark 2009; Gregory ve ark 2008). Bundan başka PCa'de pre-miR-146'daki

fonksiyonel polimorfizmin miR-146a miktarını etkilediği ve bunun prostat kanseri riski ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Medina ve ark 2008).

2.2.5.8. *Telomer Kısalması*

Kromozomal instabilite insan epitelyal dokulardaki malignant transformasyondan sorumlu önemli bir moleküler mekanizmadır (Cahill ve ark 1999).

Karsinogenez sürecinde kromozom destabilizasyonuna götüren olayların hala çok iyi bilinmiyor olmasına rağmen, telomer defektlerinin kromozomal instabilitede büyük rol oynadıkları kabul edilmektedir (Counter ve ark 1992; Hackett ve ark 2002). Prostat kanserinde yapılan çalışmalarda kanserli dokudaki telomerlerin komşu normal prostat dokusundaki telomere göre daha kısa olduğu gösterilmiştir (Sommerfeld ve ark 1996; Donaldson ve ark 1999). Telomer kısalması yüksek derece PIN olgularının büyük çoğunluğunun luminal hücrelerinde de gözlenmiş prostat karsinogenezinin erken olaylarından biri olduğu öne sürülmüştür (Meeker ve ark 2002).

Buna karşılık prostat kanserlerinin % 47-100'ünde telomeraz aktivitesinin bulunduğu saptanmıştır (Kallakury ve ark 1997; Zhang ve ark 1998). Bu zıtlık kısa telomere sahip neoplastik hücrelerin telomer fonksiyonlarını sürdürebilmek ve proliferasyon için daha sonra telomeraz aktivitesi kazanabilme özellikleri ile açıklanabilmektedir.

2.2.5.9. *İleri Evre Karsinogenez ve Metastaz Mekanizmaları*

İlerlemiş PCa için en yaygın tedavi androjen supresyonudur. Bu tedavi androjen bağımlı karsinom hücrelerinin apoptozuna neden olarak tümörün gerilemesine yol açmaktadır (Bentel ve ark 1996). AR son derece agresif ve/veya metastatik rodent ve insan hücre dizilerinde ekspresyone edilmediği için önceleri androjen-bağımsız tümör büyümesine AR mRNA ve protein ekspresyonu kaybının neden olduğu sanılmıştır (Tilley ve ark 1990; Marcelli ve ark 2000). Ancak sonradan AR proteininin primer tümörlerde, rekurren lokal tümörlerde ve hatta metastazlarda homojen bir şekilde ekspresyone edildiği gösterilmiştir (Hobisch ve ark 1995; Kinoshita ve ark 2005).

Bu sonuçlar karsinom hücrelerinin AR ekspresyonunun downregülasyonu dışındaki bir mekanizma ile androjen ihtiyaçlarını bypass ettiklerini doğrulanmaktadır. Üstelik son çalışmalar EGF, IGF-1 ve IL6'dan dolayı AR'ın androjen bağımsız aktive olduğunu ve androjen yokluğunda bile hastalığın progressiyonuna yol açtığını göstermiştir (Nakashima ve ark 2000).

PCa dokularının hormon tedavisi öncesi ve sonrası genomik karşılaştırmasının yapıldığı bir çalışmada MAPK ve PI3K sinyal iletim yolağını aktive eden çeşitli trozin kinazların (SRC, EGFR gibi) fazla ekspresse oldukları bulunmuştur (Edwards ve ark 2003). HRAS, Raf1, c-Myc, Myb, Myb13 ve Terc'in fazla ekspresse edilmesi hormon tedavisi sonrası tümörde görülen özelliktir. c-Myc AR2'nin hedef transkripsiyon faktörlerinden birisidir (Bernard ve ark 2003). Hormon-dirençli PCa genetiği üzerine yapılan çalışmalar da HERZ'in EGFR ile birlikte up-regüle olduğunu göstermiştir (Lara ve ark 1998).

Diğer yandan PCa'inde EGFR'nin amplifikasyonu ya da fazla ekspresyonu MAPK yolağının aktivasyonuna yol açar (Lorenzo ve ark 2003).

P53 ve bcl-2 ilerlemiş PCa'de işe karışır. 17p'nin kaybı androjen bağımsız tümörlerde ortaya çıkan yüksek insidans ile ilerlemiş PCa'de gözlenir (Gregory ve ark 2004; Dinijens ve ark 1994). P53 mutasyonlarının frekansı PCa'de diğer kanserlere oranla daha düşüktür ve p53 ekspresyonu yüksek Gleason skoru, nuklear grade, patolojik stage ve proliferasyon ile ilişkilidir. P53 mutasyonları böylece PCa'de işe karışan birincil bir olay olmadığı ancak son derece malignant PCa'de meydana gelen önemli ikincil bir olay olduğu düşünülmektedir.

PCa hücrelerinde bcl-2'nin fazla ekspresyonu, ilerlemiş hormon dirençli hastalığın ayırıcı özelliklerinden birisidir ve geç stage'in özelliklerinden olan apoptoza dirençten sorumludur (Dinijens ve ark 1994; Chia ve ark 2000).

Metastatik fenotip kanser hücrelerinin orijin dokuyu istilası, iç ve dış kan damarlarına penetre olması, dolaşımında ve farklı organların mikroçevresinde hayatta kalabilmesi özelliklerini kapsar. Metastazdan sorumlu çeşitli supressor genler tanımlanmıştır. KAI1 bu genlerden biri olup 11p112'de lokalizedir ve lökosit hücre yüzey molekülleri ailesine aittir. Normal prostatik doku hücreleri KAI1'i yüksek düzeylerde eksprese ederken, metastatik kanserden türevlenen hücreler bu proteini

eksprese etmezler. Bu durum KAI1'in yokluğunun PCa'nin metastatik evreye ilerleyişinde rol oynadığını düşündürmektedir (Jackson ve ark 2000).

Geni 16p22.1'e lokalize olan E-cadherin gelişimsel morfogenezde, yetişkin epitelyal doku farklılaşmasını sürdürme ve yapısal bütünlüğün korunmasında rol oynayan bir adezyon molekülüdür. E-cadherin'in anormal veya azalmış ekspresyonunun prostat kanserinde ileri evre ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Umbas ve ark 1994).

Bir transmembran protein olan CD44 de hücre adezyonunda işe karışır. CD44 geninin promter bölgesinin metilasyonunun PCa'inde (% 72) benign prostatik hipertrofi örneklerine (% 38) göre istatistiksel açıdan daha yüksek frekansda olduğu tespit edilmiştir (Siegal ve ark 2014). CD44 ekspresyonunun kaybı PCa metastazlarının büyük çoğunluğunda bulunmuş ve bu proteinin yokluğunun kötü prognozun belirteci olabileceği bildirilmiştir (Noordzij ve ark 1997; Takahashi ve ark 1998).

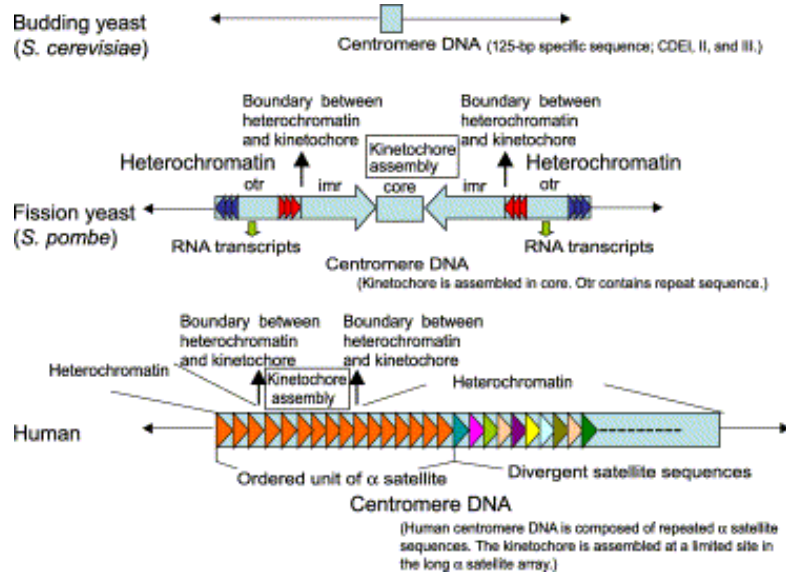
Son olarak Caveolin-1 (CAV-1)'in de ileri evre PCa'de upregüle olduğu belirtilmiştir (Thompson 1998). CAV-1 geni 7q31-33'e lokalizedir ve özellikle agresif PCa ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Yang ve ark 1998; Haeusler ve Hoegel 2005). CAV-1 ile yapılan çalışmalar bu molekülün prostat adenokarsinomu için diyagnostik ve prognostik bir marker olabileceğini öne sürmektedir (Yang ve ark 1999; Tahir ve ark 2003).

2.2.6. Sentromer Yapı Ve Fonksiyonu

Sentromer-kinetokor Kompleksinin Yapı Ve Fonksiyonu: Sentromer, kinetokor topluluğunu yönlendiren özelleşmiş kromozomal bölgedir. İlk olarak vertebrata kromozomlarında "primer konstriksiyon" şeklinde, daha sonraları da "düşük rekombinasyon frekansına sahip kromozomal bölge" şeklinde tanımlanmıştır (Bleadle GW 1932).

Bugün sentromeri diğer heterokromatinlerden ayıran moleküler özelliklerin birçoğu ayrıntılı olarak bilinmektedir. Sentromerik DNA ökaryotlarda Saccharomyces'in basit yaklaşık 125 baz çiftlik sentromerinden, vertebrataların yüksek tekrarlı α satellit tekrarlarına kadar oldukça çeşitlilik gösterir. Sentromerik kromatinin kompozisyonu, sentromerik DNA'nın sırası ve büyüklüğü canlılar

arasında çeşitlilik göstermektedir ve bu sıralamanın sentromer fonksiyonları için önemi büyüktür (Carroll ve ark 2006).



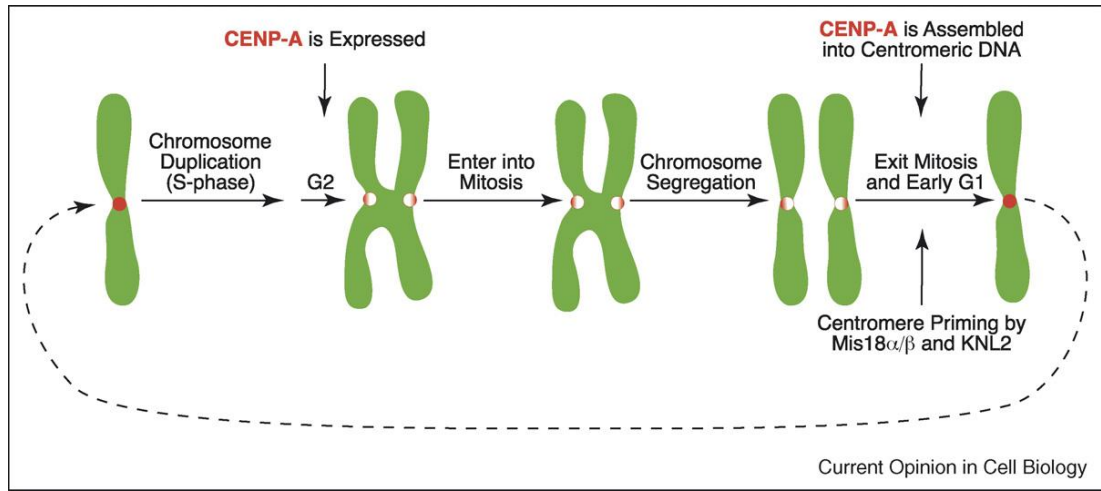
Şekil 2.2.6. *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces pombe* ve İnsan'da sentromerik DNA'nın organizasyonu (Tatsuo 2004).

İnsan kromozomlarının sentromeri alfa satellit DNA diye bilinen tekrar dizilerinden oluşan heterokromatik bölgeler içerir. Tek bir alfa satellit DNA'sı 2000-4000 kb'lik 171 baz çifti uzunluğundadır (Amor ve Choo 2002). Yapılan araştırmalarda kinetokor birlikteliği için (bir kor gibi) insan hücrelerinde sentromer bölgelerinde 100kbp'den birkaç Mbp'ye kadar dizilişte olan uzun α satellit dizilişi olduğu belirlenmiştir (Takeuchi ve Fukagawa 2012).

Her bir ünite CENP-B kutusu diye bilinen 17 baz çiftlik CENP-B bağlanma bölgesi içerir. CENP-B bir α satellit bağlayan proteindir. Sentromerler çok değişik uzunluklarda olabildiklerinden bir kromozom yüzlerce binlerce kadar değişik sayıda CENP-B kutusu içerebilir. CENP-B proteini dimerik iş görür ve komşu satellit dizilerine çapraz bağlanır (O'Connor 2008).

Sentromerik DNA'nın nükleotit dizisindeki farklılıklara rağmen, bütün sentromerler ortak bir kromatin kompozisyonu da gösterirler. Bu kromatin kompozisyonu sentromerik kromatinin nükleozomları içinde histon 3 (H3) varyantı olan sentromerik protein A (CENP-A)'nın varlığı ile karakterizedir (Wan ve ark 2009; Okada ve ark 2009). Neosentromer çalışmaları fonksiyonel sentromerlerin normal yapının dışında da inşaa edilebileceğini göstermiştir ki bunlar α satellit sıraları bulunmadan, lokuslarda kararlı bir yapıda yer almaktadırlar. Bu

göstermektedirki sentromerik alanlar cis-acting (hareket eden) elemanlardan ziyade epigenetik mekanizmalar tarafından belirlenmektedir. Bir epigenetik belirteç olarak tek aday sentromerlerde CENP-A'dır (Black and Bassett 2008). Bu sentromerik kromatin tüm ökaryotlarda fonksiyonel kinetokor formasyonu için esansiyeldir (Carroll ve Straight 2006). Sentromerler histon H3 varyantı CENP-A ihtiva eden nükleozomların özel lokasyonları ile moleküler olarak tanımlanan kromozomal alanlardır. CENP-A diğer sentromer proteinlerinin lokalizasyonu için gereklidir ve fonksiyonel sentromerlerde bulunur (Okada ve ark 2009; Warburton ve ark 1997; Howman ve ark 1999; Liu ve ark 2006).



Şekil: 2.2.6.1. Mitotik çıkış ve erken G₁ esnasında sentromerin içine birikme ve G₂ de yeni CENP-A sentezinin hücre döngüsündeki zamanlaması (Black ve Bassett 2008).

İnsan hücrelerinde CENP-A ihtiva eden nükleozomlar 6 altbirim protein kompleksi ile fiziksel olarak birleşmişlerdir. Bu proteinler CENP-C, CENP-H, CENP-M, CENP-N, CENP-T ve CENP-U (50) olup, hepsi birlikte CENP-A nükleozom ilişkili kompleks (NAC) olarak isimlendirilirler. CENP-A^{NAC} komponentlerinin bir parçası CENP-A nükleozomuna daha uzak olan bir komplekse bağlanır. Bu komplekste de CENP-I, CENP-K, CENP-L, CENP-O, CENP-P, CENP-Q, CENP-R ve CENP-S yer almaktadır. CENP-A nükleozomlarının bu pozisyonu da sentromer-kinetokor yapısını şekillendirmektedir. Böylece CENP-A birlikteliği sayesinde kinetokorlardan dışa doğru CENP-A nükleozomlarından moleküler bir bağlantı oluşmaktadır (Black ve Bassett 2008). Temel sentromer komponentlerinden olan CENP-C ve CENP-H özellikle CENP-A bakımından zengin bölgeye yakın yerde bulunurlar (Black ve Bassett 2008).

Doğru sentromer oluşumu ve özelleşmesi hücrenin hayatı için çok önemlidir. Bölünme sırasında kromozomların hatasız bir şekilde ayrılabilmesi için her kromozomun/kromatidin mitotik iğe bağlanması bir gerekliliktir. Bunun da gerçekleşebilmesi için sentromer üzerinde mikrotübül bağlanma bölgesi olarak hizmet eden yaklaşık 100 farklı proteinden oluşan kinetokor kompleksinin oluşması gerekmektedir (Westhorpe ve ark 2013). Kinetokorda mevcut bu proteinlerin birçoğu kinetokor-mikrotübül dinamiklerinin (kMTs) önemli düzenleyici proteinleri olarak tanımlanmışlardır (De Luca ve ark 2012). Mikrotübüller hücre iskeletinin temel komponentidirler. Bunların hücre bölünmesi, kromozom ayrılması, yapısal destek, hücre motilite, intraselüler motilite, intraselüler transport gibi çok önemli fonksiyonları vardır. Mitozun erken aşamalarından itibaren mikrotübüller kinetokorlarla ilişki kurmaktadır. İnsan hücrelerinde herbir kinetokor 20-25 mikrotübüle bağlanır (Backhoum ve ark 2012).

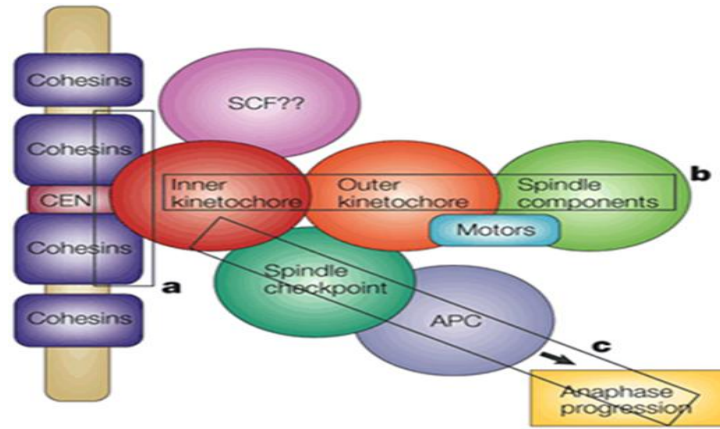
Kinetokor yapısında önemi olan proteinler, fakültatif kinetokor proteinleri ve yapısal veya kurucu kinetokor proteinleri olmak üzere ikiye ayrılırlar. İç kinetokor proteinleri, hücre siklusu boyunca sentromerlerde mevcut protein birlikteliğinden oluşur. Dış kinetokor proteinleri ise bölünme sırasında kinetokorlarla anlık ilişkiye girerler (Sugata ve ark 2000; Aman 1999).

Bu şekilde sentromerin önemli bölümünü oluşturan ve kinetokor kompleksi denilen bu yapı üç ana fonksiyonu yerine getirir. Bunlar;

- Ağ mikrotübüllerinin (MTs) pozitif uçlarına dinamik bir şekilde bağlanarak sıkı ve uyumlu bir yapı oluştururlar,
- Kromozom hareketlerini devam ettirmek için gerekli etkileri oluşturan Kinesin gibi proteinleri ve MT dinamiklerini düzenlerler,
- Ağ kontrol noktası sinyallerini oluştururlar (McClelland ve ark 2007).

İmmunoelektron mikroskopik analizler sentromer-kinetokor kompleksinin sentromerik heterokromatin ile başlayan, iç plak, interzon, dış plak ve son olarak fibröz korona'yı içine alan yapısal olarak farklılaşmış beş alandan oluştuğunu göstermiştir (Sugata ve ark 2000). Kinetokorlar arasındaki sentromerik heterokromatin içerisinde bir takım α satellit DNA'lar, CENP-B ve sentromer protein INCENP bulunmaktadır. Bu bölgede ayrıca iğ ekseninin oluşumu için önemli olan MCAK'ta bulunmaktadır (Sugata ve ark 1999).

İç plak olarak isimlendirilen kısım sentromerik kromatinin periferindeyüksek yoğunluğa sahip alandır ve kinetokor birlikteliğinde önemli rol oynar. İç kinetokor sentromerik DNA ve ek olarak da sentromer proteinlerinden A ve C'yi içerir (Mikami ve ark 2005; Craig ve ark 1999; Fukagawa 2004). Bu alandan sonra 20-30 nm'lik düşük kontrastlı boşluk bulunur. Bunu takiben 40-50 nm kalınlığında bir dış plak ve bundan sonra yeralan 100-200 nm uzunluğundaki fibröz korona yer almaktadır (Wan ve ark 2009). İç ve dış tabakaların arasındaki ara bölgede fosfolipit epitopi 3F3/2 antikoru ile tanımlanabilen ve iğ eksenini kontrol noktasındaki geçişleri denetleyen bir fosforile protein bulunmaktadır (Sugata ve ark 1999). Dış kinetokor plağında KMN ile Bub ve Mad komplekslerini içeren mitotik kontrol noktasından oluşmaktadır (Mikami ve ark 2005). Mad ve Bub ailelerindeki proteinler gibi fakültatif kinetokor proteinleri kontrol noktası ağı birlikteliğinin düzenleyici faktörleridir (Sugata ve ark 2000; Amon 1999). Dış kinetokor proteinleri mitozun sonunda kinetokorlardan ayrılmakta ve profazın başlangıcında kinetokorlarla birleşmektedir (Wan ve ark 2009; Cheeseman ve Desai 2008; Tanaka ve Desai 2008). Dış plak kinetokor mikrotübülü bağlantısının yanı sıra CENP-F, CENP-E, ZW10 proteinleriyle stoplazmik dynein ve dynaktin karışımları da içerir (Sugata ve ark 1999). CENP-E, CENP-F, ZW10, sitoplazmik dynein ve bunlarla ilişkili dynaktin komplekslerinin yerleşim yeri fibröz korona'dır (Sugata ve ark 2000). Stoplazmik dynein'in, mikrotübülbağlantılarda ve kutup yönünde güç üretiminde yer alıyor olabileceği belirtilmiştir (Sugata ve ark 1999). Bu bakımdan stoplazmik Dynein ve Dynaktin kompleksleri'nin kromozom ayrılmasında önemli olabilecekleri belirtilmiştir (Sugata ve ark 2002; Karki ve Holzbaaur 1999).



Şekil: 2.2.6.3. Kinetokor Organizasyonu (Musachio 2007).

Kinetokorun üç alt üiteden oluştuğu kabul edilebilir: Bunlar;

- Kromozomal DNA-iç kinetokor proteinleri
- İç kinetokor–mitotik ağ arabirimi
- Kinetokor proteini-hücre döngüsü arabirimleri (APC = anafaz-teşvik kompleksi, CEN =sentromerik DNA ve SCF = SCF ubikitin-ligaz kompleksi.)

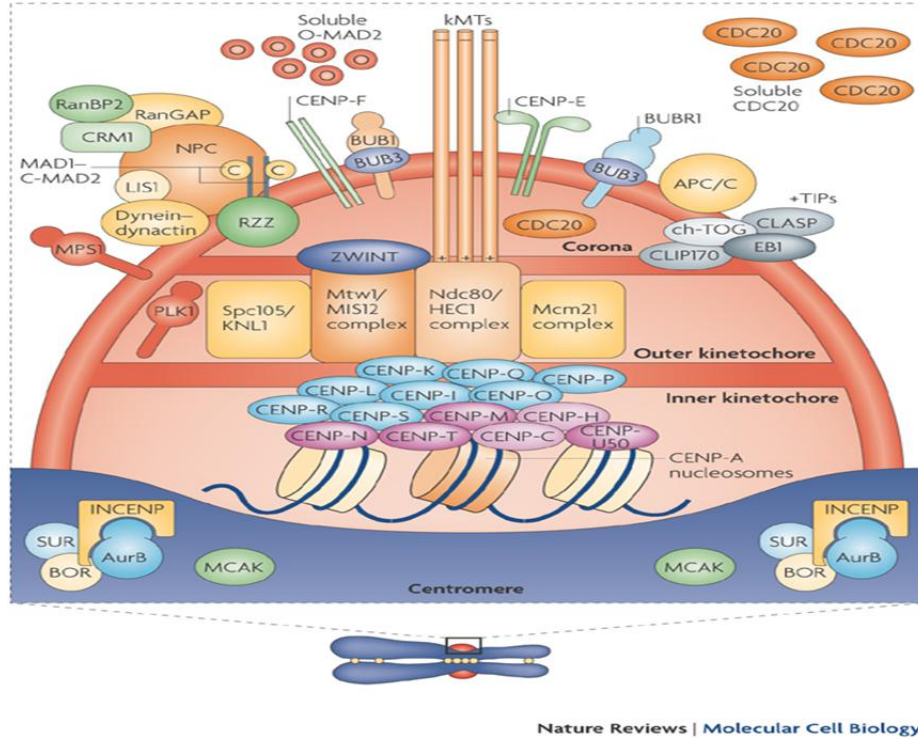
MT bağlayıcı proteinlerden CENP-F proteini, MT motor proteinler, ağ bağlantı kontrol noktası SAC (spindle assembly checkpoint) komponentleri de mitoz başladıktan sonra kinetokorlarla geçici ilişki kuran moleküllerdir (Wan ve ark 2009; Musacchio and Salmon 2007).

SAC hücre bölünmesinde önemli bir komponenttir. Çünkü prometafazda birçok kromozom henüz iğ iplikleri üzerinde nihai doğruyu oluşturacak şekilde sıralanmadığı için yanlış bağlanmış serbest kinetokorlar için SAC anafaz bekle sinyali üretilir. Sinyal üretildikten sonra APC/C (anaphase promoting complex/cyclosome)'ye ulaşır ve securin ile siklin B'nin stabilizasyonu ile sonuçlanır. Bu şekilde hücre mitozu durur. Metafaz'da bütün kardeş kromatidlerin biyolojik düzenleri sağlandığında, “anafazı-bekle” sinyali kaybolur ve APC/C'ye bağlı securin ve siklin B yıkılır, böylece anafaz ve mitotik çıkış başlar (Musacchio ve Salmon 2007).

MCAK (Mitotic Centromere Associated Kinesin), mitoz bölünme esnasında geçici ilişkiye giren moleküller oldukları için nükleer zar bozulduktan sonra sentromerlere yerleşirler. MCAK, büyük olasılıkla iç kinetokoru kaplayarak, profazdan telofaza kadar sentromerik heterokromatide mevcut halde bulunur. MCAK'ın fonksiyonel eksikliği anormal kromozom ayrılması ile sonuçlanır (Maney ve ark 1998). Mikrotübül motor proteini olan CENP-E'nin ağ kontrol noktasında önemli rol oynadığı yine gösterilmiştir (Sugata ve ark 2000).

CENP-A, CENP-B, CENP-C, CENP-D ve CENP-G olmak üzere en az beş proteinin hücre döngüsü esnasında kinetokorlarla önemli ilişkisinin olduğu bilinmektedir. Bu proteinlerin kromatid ve kinetokor yapılanmasında yer aldığı düşünülmektedir (Sugata ve ark 1999). Sadece bölünme sırasında spesifik olarak bir araya gelen ve iş gören kinetokor proteinlerinin aksine sentromerik kromatine bağlanan CCAN (Constitutive Centromere-associated Network) adı verilen 17 proteinlik kompleks hücre döngüsü boyunca mevcudiyetini korur. CCAN proteinleri

(CENP-A, CENP-C, CENP-H, CENP-I, CENP-K, CENP-L, CENP-M, CENP-N, CENP-O, CENP-P, CENP-Q, CENP-R, CENP-S, CENP-T, CENP-U, CENP-W, CENP-X) iç kinetokor bölgesinde lokalizedir. Bu proteinlerin herhangi birinden yoksunluk kromozom defektlerine neden olur (Westermann ve ark 2013; Westhorpe ve ark 2013).

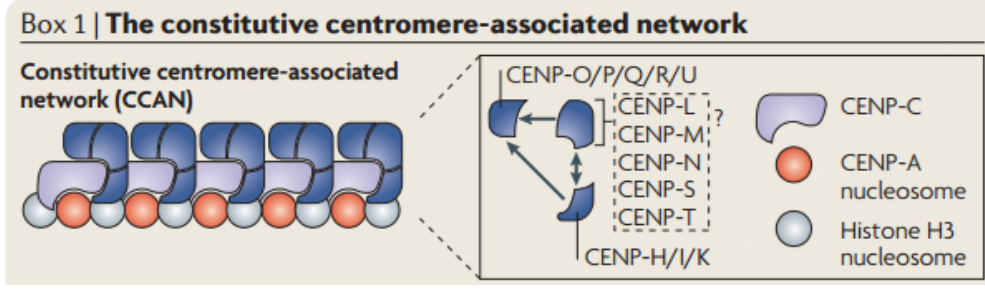


Şekil 2.2.6.4. Metazoonlarda Sentromer Kinetokor Bölgesi ve Kinetokorlarda Mevcut Olduğu Tespit Edilmiş Kinetokor Proteinleri

Kaynak: Musacchio 2007

CCAN proteinlerinin yapısal özelliği α heliks yapısında olmalarıdır. CENP-Q, CENP-U, CENP-R, CENP-H ve CENP-K'nın temel alfa heliksi oluşturduğu düşünülmektedir (Westermann ve ark 2013).

CCAN proteinleri sentromerlerin replikasyonunda ve fonksiyon görmesinde yeri olan üç ana kriter içinde önemli yer tutar. Birincisi, DNA replikasyonunda olduğu gibi her hücre siklusunda yeni bir CENP-A kromatidi oluşturulmalı ve döngü boyunca da korunmalıdır. İkincisi, CENP-A, sentromerde CCAN proteinlerinin toplanmasını kolaylaştırmalıdır ve üçüncüsü de CCAN proteinleri hücre bölünmesi sırasında kromozom ayrılmasını kolaylaştırmak için kinetokor formasyonuna moleküler platform oluşturmalıdır (Westhorpe ve ark 2013).

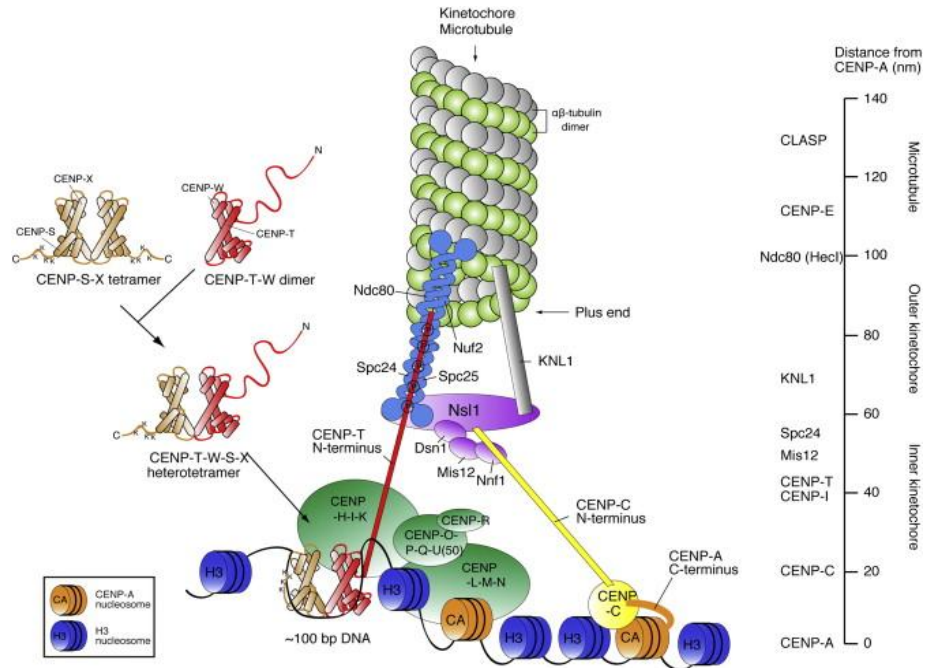


Şekil: 2.2.6.5. Temel Sentromer İlişkili Ağ Olan CCAN ve Bu Ağda Mevcut Proteinler

Kaynak: Cheesaman ve Desai 2008

CCAN proteinlerinin biyokimyasal analizlerinde CENP/L/M kompleksi, CENP-H/I/K (CENP-H kompleksi) ve CENP-O/P/Q/R/U (CENP-O kompleksi) ve ayrıca CENP-T/W/X/S şeklinde sıralanarak yer aldıkları tespit edilmiştir. CENP-H proteinin yetersiz olması durumunda CENP-O/Q/P/R/U kompleksi birliktelik oluşturamaz, sentromerlerde toplanması engellenir, ayrıca direkt olarak CENP-O'ya bağlanan CENP-K'nın kaybı da oluşabilir (Westhorpe ve ark 2013).

Şekil: 2.2.6.6. Omurgalı kinetokorunun moleküler yapısı



Omurgalı kinetokoru mitoz ve mayoz sırasında H3 nükleozomları arasında yerleşmiş CENP-A nükleozomları içeren geniş kromatin bloklarından oluşur. CENP-T-W-S-X kompleksi, nükleozomsuz DNA'nın ~100bp bölgesine bağlanır ve nükleozom benzeri bir yapı oluşturur. DNA-CENP-T-W-S-X yapısının CENP-A nükleozomlarından ziyade histon H3 içeren nükleozomları ile ilişkili olması muhtemeldir. Onaltı CCAN proteini, birkaç alt komplekse bölünür ve sentromerik

kromatinde birleşir. CENP-H ve CENP-O içeren kompleksleri, CENP-T-W-S-X kompleksi ile yakından ilişkilidir ve CENP-T'nin N terminal ucu dış kinetokordaki Ndc80 kompleksi ile doğrudan etkileşmektedir. CENP-T'nin orta bölümü esnektir ve iğ mikrotübülden gerilim uygulandığı zaman kinetokor gerilmesinden sorumludur. CENP-L-M-N kompleksinin CENP-A nükleozomları ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir. CENP-C, CENP-T'den ayrı bir yolakla yönlenir iğ kontrol noktası efektörleri ile Mis 12 kompleksine bağlanır. Ndc 80 kompleksinin Spc24 ve Spc25'i, Mis 12 kompleksinin Ns11'i ile etkileşirler. Ayrıca KNL1, Ns11 alt birimi aracılığı ile Mis 12 kompleksine bağlanır. KNL1 Ndc80 ve Nuf2, kinetokor mikrotübüllerinin artı ucuna doğrudan bağlanır (Takeuchi ve Fukugawa 2012).

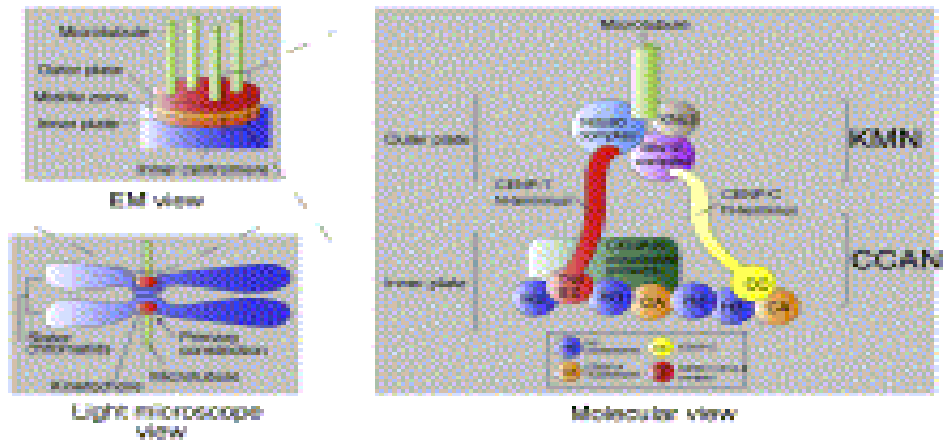
Kromozom ayrılması, hücre siklusunun kontrolünü ve ağ mikrotübülleriyle etkileşime aracılık etmek için, sentromerik kromatinle kinetokorun birlikteliğini gerektirir (Wan ve ark 2009). Bölünme sırasında CCAN proteinleri dış kinetokorun önemli komponenti olan KMN ağını toplamaktadır (Takeuchi ve Fukugawa 2012).

KMN ağı farklı fonksiyona sahip üçkompleksten oluşur ki bunlar;

- Ağ kontrol noktası sinyalleri ve kinetokor mikrotübülü (kMT) birlikteliği için gerekli olan Ndc 80 kompleksi (4 alt üniteli Ndc 80 kompleksi; Hec 1/hNdc 80, Nuf 2, spc 24, Spc 25)'dir.

- Kinetokor merkezli güç oluşturan ve ağ kontrol noktası sinyalleri için gerekli olan MIND/Mis 12 kompleksi,

- Ndc 80 ve MIND bağlantılı KNL-1(Spc 105) (McCelland ve ark 2007).



Şekil: 2.2.6.7. Kinetokor Yapısı ve Bu Yapıyı Oluşturan Üç Tabakalı Kinetokor Morfolojisi

Elektron Mikroskobu (EM) kullanılarak yapılan çalışmalar, kinetokorların iç ve dış plaklar dahil trilaminar bir morfolojiye sahip olduğunu orataya koymuştur (Takeuchi ve Fukugawa 2012).

KMN ağını oluşturan üç temel protein kompleksi, kMTs için esas merkez oluşturabilmek amacıyla dış kinetokorun içinde kararlı bir şekilde yerleşmiştir . Bu proteinlerin herhangi birinin in vivo baskılanmasının hücrede fonksiyonel kinetokor-mikrotübül etkileşiminin oluşma yeteneğinin azaldığı ve en ağır defektlerinde Ndc 80 komponenti baskılanmış hücrelerde gözlemlendiği bildirilmiştir. Mikrotübüllere primer bağlantı bölgelerinden biri olan Ndc 80 kompleksi yaklaşık 60 nm uzunluğunda bir moleküldür (DeLuca ve ark 2012; Tooley ve ark 2011).

Mitotik ağlar oluştuğunda ve kromozomlar metafaz plağı boyunca sıralandığında kMTs iki üç kat artış gösterir. Bu bakımdan birçok kinetokor proteininin mikrotübülü oluşturan parçaların önemli düzenleyicisi oldukları bilinmektedir. Yine bu proteinlerden bazıları; Kif 2b, MCAK, skal, CLASP, astrin, Nuf 2, CENP-E, CENP-F, CENP-H, CENP-S, Cep 57, HURP, SKAP ve Kif 18a olarak sayılabilir. Bu nedenle kMTs 'deki küçük azalmalarda anafazın başlamasının geciktirilmesi ya da önlenmesi sağlanırken, minik artışlarda anafazda hata oluşmasına, kromozomların yanlış ayrılmasına ve kromozomal instabilite'ye yol açarlar (Bakhoun ve ark 2012).

2.2.6.1. *CENP-H Geni ve Proteini*

CENP-H, sentromer ve kinetokor proteini olup sentromerin yapısında, kinetokor oluşumunda ve kardeş kromatidlerin ayrılmasında önemli bir role sahiptir. Geni 5 numaralı kromozomun q13.2 bandında lokalizedir. Bu genin sentezlettiği CENP-H proteini iç kinetokor plağında CENP-A ve CENP-C proteinleri ile hem interfazda hem de metafazda birlikte yer alır (Sugata ve ark 1999; Sugata ve ark 2000). Bu protein aktif sentromer kompleksinin temel bileşenidir. CENP-H, CENP-C'nin iç plaktaki lokalizasyonu için gereklidir (Fukagawa ve ark 2004). CENP-H-I kompleksinin yeni sentezlenen CENP-A'nın sentromere etkin bir şekilde dahil olabilmesi için gerekli olduğu belirtilmektedir (Hori ve ark 2008).

CENP-H aynı zamanda CENP-B'nin yerleştiği sentromerik heterokromatinin dışında ve prometafaz'da kinetokor koronasının içinde yer almaktadır. Yapısal bir proteindir. Bu protein diğer CENP-H proteinlerine ve

kinetokorun yapısında yer alan diğer CENP-A, CENP-B ve CENP-C proteinlerine bağlanır. Toplamda proteinlerin oluşturduğu multimerler iç kinetokor plağında lokalize olur ve sentromer-kinetokor kompleksinin organizasyonundan ve fonksiyonundan sorumludur (Westermann ve ark 2003; Guo ve ark 2008).

CENP-H kardeş kromatidlerin, bölünme esnasında oluşan yeni hücrelere doğru sayıda dağıtılmasında görev yapmakla birlikte, hücrede düşük seviyede bulunduğu mitoz bölünme esnasında hücre bölünmesi durur. Bunun yanında, yüksek seviyede bulunması durumunda ise anöploidi riski artar. Anöploidiler kanser gelişiminde belirleyici bir özelliktir. CENP proteinlerinin hücre içindeki konsantrasyonlarının kinetokor oluşumu ile yakın ilişkili olduğuna dair yayınlar mevcuttur (Brown ve ark 1993; Tomonaga 2005).

Tomurcuklanan mayalarla yapılan çalışmalar, CENP-H, CENP-A, CENP-C ve Ndc80/HEC'den teşekkül eden moleküler bir çekirdeğin, sentromeri iğsi mikrotübüle bağlamada temel rol oynadığını ortaya koymuştur (Westermann ve ark 2013; Gua ve ark 2008).

Metazoonlarda kromozom ayrılması, metafaz plağında kardeş kinetokorların sıralanmasını gerektirir. Kromozomların sıralanması esnasında mikrotübüllere bağlanan uçların düzenlenmesi ile kromozom hareketleri kinetokorlara doğru yönlendirilir. Büzülme ve büyüme hareketleri arasında mikrotübül-kinetokor demetleri, ağ eksenine boyunca düzenli titreşim oluştururlar (Amaro ve ark 2010). Kinetokorlar bu bakımdan CENP-A NAC/CAD ve KMN olarak isimlendirilen iki korunmuş protein-protein etkileşim ağından oluşan yapısal bir çekirdeği ihtiva etmektedir (McClelland ve ark 2007). CENP-A NAC/CAD, mikrotübülün ucundaki sentromerik DNA'ya fiziksel olarak bağlanan kinetokor-mikrotübül dinamiklerinin düzenleyicisidir (Amaro ve ark 2010). Dolayısıyla ile sentromer protein H ve nükleozom ilişkili CENP-A'nın distal kompleksleri olan CENP-A NAC/CAD(CENP-A Nucleosome Associated Complex/CENP-A Distal), bu koordinasyon için gereklidir. Çünkü CENP-H eksikliğinde kinetokorlarda yönlendirilmiş düzenli titreşim oluşturmakta başarısız olunmaktadır. Bu durum metafaz plağı organizasyonunu bozan düzensiz hız hareketlenmelerine yol açar. CENP-A NAC/CAD alt üniteleri, CENP-H ve CENP-I dinamiklerindeki artış kardeş kinetokorları etkiler (Amaro ve ark 2010). Yani CENP-A NAC kompleksinin

bozulması kromozomların sıralanmasında ve ayrılmasında hataya neden olur (Foltz ve ark 2006).

Yapılan çalışmalarda, multialtünite kompleksi olan CENP-I ve CENP-H iç kinetektor komponentlerinin izolasyonu ile CENP-H-I kompleksinin fonksiyonel 3 alt kompleksten oluştuğu ve de her birinin doğru kromozom ayrılması için gerekli oldukları gösterildi. Yine CENP H-I kompleksinin sentromerlerde kısmen CENP-A ifadesinin bir belirteci olarak fonksiyon yapabileceği öne sürülmüştür (Okada ve ark 2006).

3. GEREÇ VE YÖNYEM

3.1. Gereç

Çalışma Sırasında Kullanılan Cihaz ve Demirbaşlar:

- Demirbaş Malzeme/Cihazlar
- Real Time PCR: ABI 7500
- Nanodrop (Maestro nano)
- Buzdolabı ve derin dondurucu(+4 ve -20°C Arçelik)
- Çeker ocak
- Distile su cihazı (Nüve)
- Güç kaynağı (Clever)
- Masa üstü mini santrifüj (VWR)
- Masaüstü santrifüj +4°C(Hettich-Eppendorf)
- Etüv(Nüve)
- Otomatik pipetler(VWR-Eppendorf)
- pH metre (VWR)
- Mikrodalga (Arçelik9)
- Vorteks (VWR)
- Manyetik karıştırıcı (VWR)
- 12.000 rpm hız yapabilen soğutmalı mikrosantrifüj
- 42°C'ye çıkabilen sıcak su banyosu

Çalışma Sırasında Kullanılan Sarf Malzemeler:

- SNP DNA/RNA İzolasyon Kiti (SNP, Türkiye)
- Nükleaz free 1,5 ml tüp
- % 99.5'lik Etil alkol
- Ksilol
- One-Run RT-QPCR Kiti (SNP, Türkiye)

- CENPH primerleri (Alfa DNA, Kanada)
- CENPH prob (Alfa DNA, Kanada)
- GADPH primerleri (Alfa DNA, Kanada)
- GADPH prob (Alfa DNA, Kanada)

SNP DNA/RNA İzolasyon sisteminde kullanılan solüsyonlar:

- Solüsyon A
- Solüsyon B
- Solüsyon C1 (DNA izolasyonu için kullanılacak Solüsyon C)
- Solüsyon C2 (RNA izolasyonu için kullanılacak Solüsyon C)
- Solüsyon D
- Solüsyon E

SNP DNA/RNA İzolasyon sistemi: Fenol/kloroform yöntemine dayalı bir kittir. Parçalayıcı enzim ile inkübasyon sonrasında fenol/kloroform ile biraraya getirilen nükleik asit molekülleri, alkol ve proteinden ayrıştırılarak izole edilir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Hasta Gruplarının Oluşturulması ve Doku Örneklerinin Toplanması

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına histopatolojik tanı amacıyla gönderilmiş 40 adet radikal prostatektomi materyali çalışmaya alındı. Ancak daha sonra yüksek Gleason skorlu 9 doku materyali, normal prostat dokusu alanı tümör dokusu alanı ile çok içiçe olduğundan dolayı RNA izole edilemediği için 3 doku materyali çıkarıldı. çalışmadan çıkarıldı. Vakaların patolojik sonuçlarına göre, biri 4, altısı 5, dokuzu 6, altısı 7, üçü 8, üçü 9 olan Gleason skoruna sahipti.

Çalışma için Meram Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Kurulunun 30.06.2010 tarih ve 2010/091 sayılı onay belgesi ekte yer almaktadır. Vakaların materyalleri rutin patolojik prosedür ile takibi yapılmış parafin bloklardan oluşmakta idi. Uzman patoloğun yaptığı değerlendirmeye göre her vakanın patoloji materyalinden ayrı ayrı olmak üzere hem tümörü en iyi gösterdiğine inanılan alandan ve hem de normal dokuya ait olduğu düşünülen alandan 4 ya da 5'er

adet kesit alınarak, Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında +4°C'ye kaldırıldı. Böylece vakaların tümörsüz-normal doku alanlarından alınan kesitler vakaların kontrol grubunu oluşturmuş oldu.

Vakaların yaşları 50 ile 89 arasında değişmekteydi ve bunları 21'i hayatta, 7'si ise hayatını kaybetmişti. Ölenlerin hiç birisinde ölüm sebebi PCa ile ilintili değildi.

3.2.2. Parfîne Gömülü Dokudan RNA İzolasyonu

Parafinden uzaklaştırma: Örneklerden EZ-RNA Total RNA İzolasyon Kit uyarınca ilk aşama olarak parafinden uzaklaştırma gerçekleştirildi.

- Doku kesitlerinin bulunduğu tüpün içerisine 1'er ml ksilol konuldu, çalkalandı ve 70°C'de 30 dakika bekletildi.

- 20°C'de 5000 rpm de 2 dakika santrifüj edildi, üsttekisüpernatant atıldı.

- Pellet üzerine 750 µl ksilol eklendi, vortekslendi ve bu kez 55°C'de 30 dakika bekletildi.

- 20°C'de 5000 rpm de 2 dakika santrifüj edildi ve üstteki süpernatant atıldı.

- Pellet üzerine 1 ml dH₂O konuldu, 55°C'de 5 dakika bekletildi.

- 20°C'de 10.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve üstteki süpernatant atıldı.

- Pellet üzerine 1 ml dH₂O konuldu, 55°C'de 2 dakika bekletildi.

- 20°C'de 10000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi ve üstteki süpernatant atıldı.

Pellet üzerine 1 ml dH₂O konularak bekletilmeden 20°C'de 10.000 rpm de 5 dakika santrifüj edilerek üstteki süpernatant atıldı. Bu şekilde dokudan parafin uzaklaştırılmış oldu.

Solüsyon A'nın hazırlanması, 70 mg olan Solüsyon A, 1.25ml (1250 µl) nükleaz free steril su ile sulandırıldı (Sample miktarı ise 500 µl su ile sulandırıldı). Hafif çalkalamalar ile enzimin tamamen erimesi sağlandı. Sulandırılmış enzim - 20°C'de saklandı.

RNA izolasyonu: RNA izolasyonu için SNP RNA İzolasyon Sistemi kullanıldı ve izolasyon aşağıdaki prosedüre göre gerçekleştirildi.

- Pellet üzerine 500 µl Solüsyon B, 20 µl Solüsyon A eklenerek vortekslendi ve 45°C de etüvde bir gece inkübasyona bırakıldı.

- İnkübasyondan sonra örneklerin üzerine 500 µl Solüsyon C eklenerek vortekslendi. Bu işleme süt rengi ve kıvamında bir karışım elde edilene kadar devam edildi.

- Örnekler 20°C de 10000 rpmde 5 dakika santrifüj edildi.

- Santrifüjden sonra üstteki berrak fazdan yaklaşık 500µl alınarak temiz ependorf tüplere aktarıldı.

- Üzerine 600 µl Solüsyon D eklenerek tüpler yavaşça çalkalandı ve karanlık bir yerde 1 saat bekletildi.

- 20°C de 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek üstteki süpernatant döküldü (Bu aşamada ependorflarda RNA gözle görünür seviyede olmayacağı için pellet görüntüsü aranmadı).

- Solüsyon D'nin süpernatantı döküldükten sonra üzerine 50 µl Solüsyon E eklendi.

- Vortekslenerek 20°Cde 10000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi.

- Vorteks sonrası süpernatant döküldü ve tüpler temiz bir yerde ağızları açık şekilde oda sıcaklığında yaklaşık 30-60 dakika kadar kurumaya bırakıldı.

- Kuruyan örnekler üzerine 100µl PCR Grade su konuldu. Nanodropta ölçümleri yapıp RNA konsantrasyonu 1000 ng olacak şekilde dilüe edildi ve sonra -80°C de saklandı.

- Bu aşamadan sonra RNA' lar kullanıma hazır hale gelmiş oldu.

3.2.3. Real Time PCR (Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu) (PZR) ile Ekspresyon Analiz

Gerçek zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyon için One-Run RT-QPCR kit (marka) kullanıldı. Bu kit ayrıca cDNA sentezi yapılmasına ihtiyaç duymaksızın hem cDNA sentezinin hem de polimeraz zincir reaksiyonunun aynı işlem içerisinde gerçekleşmesine imkan tanıyan bir kittir. Revers transkripsiyon aşamasında RNase

aktivitesini düşürmek amacı ile M-MLV reverstranskriptaz içermektedir. cDNA sentezlendikten sonra 95°C’de 10 dk bekletilerek Hot-start TaqDNA polimeraz aktive edilmektedir.

Kullanılan Primer ve Poblara: Gerçek zamanlı PZR için CENP-H ile birlikte house-keeping gen olarak, Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) geni çalışıldı. Bu genlere özgü kullanılan primer ve prolar aşağıdaki gibiydi.

Gen	CENPH	GDPH
Gen Bank No	NC-000005.10	NC-0000012.12
Primer	P1: GAACCTTATTTGGGGAGTAAGTATTC P2: GACAGACAAAATGCACAGAAGTATTC	P1: TCCTGCACCACCAACTGCTTAB P2: CATCACRCCACAGYTTYCCAGAG
Prob	Farm-AGGATCCTGCCCTT	Joe-AGGTCATCCATGACAACCTTGGYATCG-BHQ

Tablo: 3.2.3. CENP-H ve Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) Geninde Kullanılan Primer ve Problara

Reaksiyonda CENP-H geni için FAM, GAPDH geni içinde JOE boyaları kullanıldı. Çalışmanın PCR aşamasında SNP One-RunRT-QPCR kiti kullanıldı.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu Mikslerinin Hazırlanması: PZR miksları her gen ve örnek için aşağıda verilen miktarlar ile hazırlandı.

CENPH Primer 1 (P1)	0,5 pmol
CENPH Primer 2 (P2)	0,5 mol
CENPH Prob	0,3 pmol
RT/Hot Start Top Mix	0,3 ml
PCR Grade Su	6 ml
RNA Örneği	8 ml
TOPLAM HACİM	30 ml

Tablo: 3.2.3.1 CENP-H için (Tek Reaksiyon)

CENP-H bölgesinde örnekler için;19 µl qPCR Reaksiyon miski (Herbirinden 0,2 µM olmak üzere) dNTP ve 2µM MgCl₂ içermekteydi.

- 0,5 pmol CENP-H P₁
- 0,5 pmol CENP-H P₂
- 0,3 pmol CENP-H Prob
- 0,3 µl RT/Hot Start Taq enzim miks
- 8µl izole edilen RNA

Toplam hacim 30 µl olacak şekilde PCR Grade su ilave edildi, hafifçe pipetlenerek karıştırıldı.

GADPH bölgesinde her örnek için; 19µl qPCR Reaksiyon Miks (her birinden 2 mM olmak üzere dNTP ve 2mM MgCl₂)

19 µl qPCR Reaksiyon Miksi (her birinden 2 mµ olmak üzere dNTP ve 2 mµ MgCl₂)

- 0,5 pmol GADPH P₁
- 0,5 pmol GADPH P₂
- 0,3 pmol GADPH Prob
- 0,3 µl RT/Hot Start Taq Enzim Miks
- 8 µl İzole edilen RNA hazırlandı

Toplam hacim 30µl olacak şekilde PCR Grade su ilave edildi, hafifçe pipetlenerek karıştırıldı.

Gerçek Zamanlı PZR Protokolü: Hazırlanan PZR mixleri soğuk blok üzerinde PZR tüplerine dağıtıldıktan sonra ABI 7500 Gerçek Zamanlı PZR cihazına yerleştirildi ve aşağıdaki program uygulandı.

50 °C	20 Dk.	1 Döngü
95°C	10 DK.	1 Döngü
95°C	15 Sn.	40 Döngü
60°C	1 Dk.	

Tablo: 3.2.3.2 ABI 7500 Gerçek Zamanlı PZR Cihazı Uygulama Programı

Ekspresyon sonuçlarının değerlendirilmesi: Ekspresyon seviyesinin belirlenmesinde $2^{-(\Delta\Delta C_t)}$ formülasyonu kullanıldı (Livak ve Schmittgen 2001).

Buna göre sonuçlar, tümör dokusu ekspresyonunun kat cinsinden kıyaslaması ile değerlendirildi. Ekspresyon seviyesinin belirlenmesinde $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ değeri hesaplandı.

Ct = Floresan ışımının eşik değeri geçtiği döngü sayısı,

$2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ = Tümör dokusundaki ekspresyonun düzeyinin normal dokudaki ekspresyonun kaç katı olduğunu ifade etmektedir.

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{(tümör)} - \Delta Ct_{(normal)}$$

$$\Delta Ct_{(tümör)} = Ct_{(CENPH)} - Ct_{(GAPDH)}$$

$$\Delta Ct_{(normal)} = Ct_{(CENPH)} - Ct_{(GAPDH)}$$

Sonuç olarak her vaka için hem tümör dokusunun hem de normal dokunun Ct değerinden $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ değeri hesaplandı ve böylece her vakanın tümör dokusundaki ekspresyonun normal dokudaki ekspresyonun kaç katı olduğu bulunmuş oldu. Her vaka ve örnek için gerçek zamanlı PZR aşaması üç kez tekrarlandı ve üç çalışmanın ortalaması alındı.

İstatistiksel Analizler: qRT-PZR verilerinin istatistiksel analizlerinde öncelikle Ct değerleri doku (tümör ve normal) ve teknik tekrar (tekrar-1, -2 ve -3) gruplarında karşılaştırılmıştır. Veriler Livak ve Schmittengen (2001) tarafından belirtilen $2^{-\Delta C'_T}$ metoduna göre normalize edildi. Burada $\Delta C'_T = C_{T, target} - C_{T, reference}$ dir ($C_{T, target}$ ve $C_{T, reference}$ sırasıyla, hedef ve referans genlerin amplifikasyonlarına ait eşik döngü değerleridir. Kontrol ve tümör grupları ile GS gruplar içinde normalize edilmiş verilerin istatistiksel analizleri faktöriyel deneme deseninde analiz edildi. Analizler sonucunda farklı olan grup ya da grupların tespitinde “Asgari Önemli Fark” (LSD) testi uygulandı. Bütün analizlerde MINITAB versiyon 14 ve Genstat Release 7 yazılımı kullanıldı (Payne ve ark 2003).

4. BULGULAR

Çalışmada primer prostat kanseri tanısı almış 40 hastaya ait parafin bloklanmış prostat dokusu örneği kullanılmıştır. Gleason skorları, hastaların yaşları ve hayatta olup olmama gibi özellikleri tablo: 11.1’de verilmiştir. Kalan 28 olgunun tümöre ait doku örnekleri ve tümörsüz normal alana ait doku örneklerinden ayrı ayrı RNA izolasyonu gerçekleştirilmiş ve örnekler kodlanmıştır. Ardından gerçekleştirilen qRT-PZR analizleri üçer kez tekrarlanmış ve elde edilen verilerden Ct değerlerinin kalite kontrolleri yapılmıştır. House keeping gen GAPDH ve hedef gen CENP-H’a ait Ct değerleri doku (tümör ve normal) ve teknik tekrar (Tekrar-1, -2, -3) gruplarında karşılaştırılmıştır. GAPDH Ct değerleri tümör dokularında ($25,62 \pm 0,3182$) kontrol dokularına göre ($26,61 \pm 0,3182$) anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p=0,029$). CENP-H geni için gruplar ve teknik tekrarlar arasında farklılık gözlenmemiştir.

No	Yaş	GS	Survive (*)
1	67	3+4	+
2	60	3+2	+
3	73	3+3	-
4	64	3+4	+
5	76	4+5	-
6	72	3+5	-
7	78	3+2	+
8	76	3+5	+
9	78	4+3	+
11	89	2+3	-
12	71	3+3	+
14	83	3+3	+
15	50	3+3	+
19	68	3+3	+
20	57	3+3	+
21	69	5+4	+
22	71	3+2	+
23	64	3+4	+
24	74	3+4	-
26	59	3+3	+
30	84	3+3	+
33	59	4+3	+
34	69	3+3	+
36	77	4+4	-
37	78	5+4	+
38	66	3+2	+
39	77	3+2	-
40	73	2+2	+

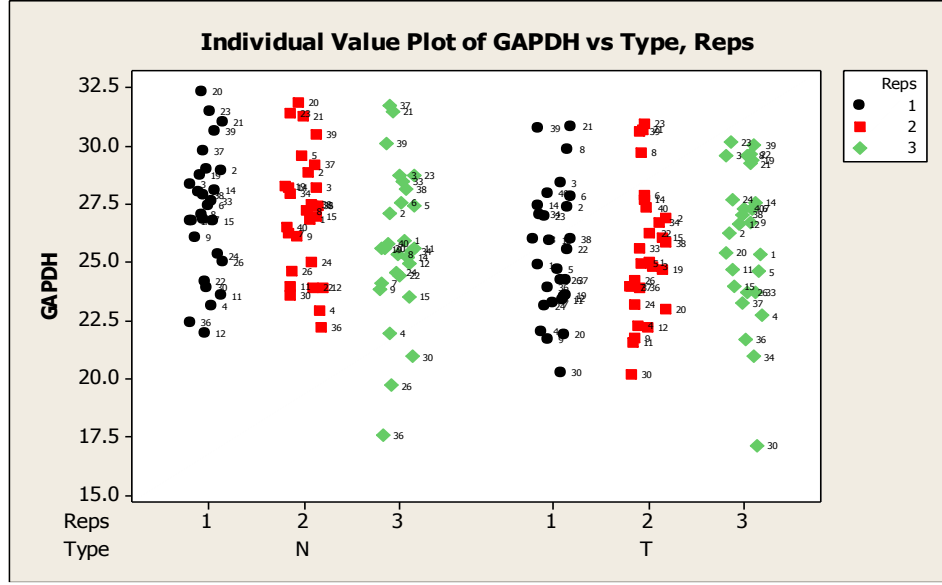
Tablo: 4 Hastalara Ait Glakson Skoru, Yaş ve Yaşamsal Verileri

(*) : (+) Hayatta
: (-) Ölmüş

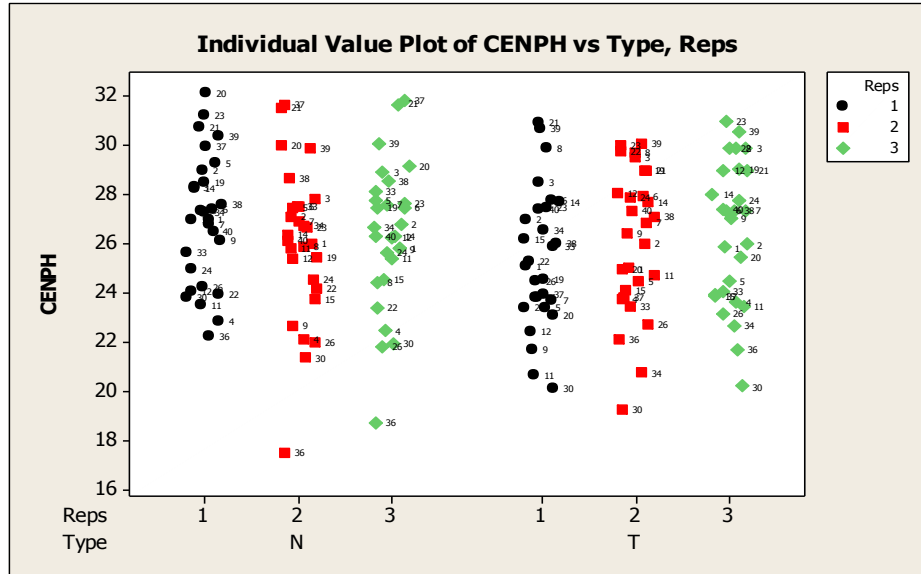
GAPDH			CENPH			GAPDH			CENPH		
Normal			Normal			Tümör			Tümör		
Teknik Tekrar			Teknik Tekrar			Teknik Tekrar			Teknik Tekrar		
1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
26,75	26,92	26,8	25,97	25,89	25,8	24,9	25,06	25,02	24,96	25,35	25,81
28,9	28,91	28,82	27,04	27,07	26,76	27,34	26,91	26,87	25,96	26,23	25,93
28,34	28,28	28,19	27,76	28,7	28,89	28,38	28,43	24,82	29,45	29,6	29,82
23,13	22,83	22,9	22,08	21,92	22,42	21,98	23,76	22,28	23,73	22,69	23,58
28,99	29,25	29,56	27,4	27,4	27,72	24,68	23,33	24,92	24,47	24,58	24,46
27,44	27,34	27,39	27,48	27,55	27,43	27,78	27,72	27,9	27,91	27,26	27,3
26,83	26,73	26,24	26,88	24,11	27,54	23,25	23,68	23,93	26,81	27,27	27,29
27,01	27,29	27,19	25,83	25,33	24,36	29,86	29,82	29,71	29,67	29,6	29,85
26,06	26,1	26,09	22,65	23,84	25,75	21,67	21,66	21,73	26,36	26,72	26,99
23,54	23,49	23,97	25,79	25,6	25,38	23,38	20,63	21,56	24,67	24,66	23,42
21,96	24,04	23,92	25,33	24,96	26,21	23,47	22,38	22,19	28,02	26,63	28,92
28,06	28,18	28,17	26,35	25,19	26,29	27,42	27,67	27,65	27,67	27,54	27,96
26,74	26,92	26,97	23,72	23,49	24,49	25,89	26,12	26,06	24,1	23,95	23,87
28,74	28,43	28,27	25,41	25,56	27,39	23,59	24,49	24,66	28,95	29,35	29,01
32,31	32,06	31,86	29,96	25,59	29,11	21,86	23,05	22,96	24,94	25,41	25,39
31,03	30,71	31,28	31,5	31,48	31,63	30,82	30,89	30,66	28,96	29,21	28,94
24,17	23,89	23,88	24,15	24,43	23,38	25,53	25,24	26,24	29,71	29,61	29,83
31,43	31,15	31,39	26,65	28,72	27,58	26,99	27,42	30,91	29,95	30,18	30,95
25,3	24,9	25,01	24,52	24,55	25,61	23,1	23,43	23,18	27,85	27,65	27,74
24,99	24,2	24,63	21,96	19,69	21,8	24,22	24,46	24,23	22,69	23,68	23,11
23,87	23,76	23,59	21,32	20,93	21,88	20,24	20,1	20,18	19,25	17,12	20,17
27,62	25,59	27,41	27,45	28,46	28,07	25,97	25,86	25,59	23,43	23,7	24
28,01	27,25	27,92	26,69	25,47	26,61	27	26,53	26,72	20,72	20,93	22,65
22,38	22,19	22,19	17,46	17,58	18,67	23,9	23,77	23,9	22,09	21,66	21,66
29,79	29,93	29,16	31,59	31,69	31,76	24,22	23,92	23,93	23,76	23,23	23,85
27,89	27,52	27,49	28,64	28,16	28,49	25,96	25,95	25,82	27,04	27,03	27,31
30,62	30,31	30,49	29,84	30,08	30,02	30,76	30,62	30,61	30,03	30	30,51
26,74	26,46	26,5	26,09	25,78	26,25	27,95	27,36	27,32	27,32	27,27	27,34

Tablo: 4.1 qRT-PZR analizler Sonuçları (Üç Tekrar)

qRT-PZR verilerinin analizlerinde öncelikle Ct değerlerinin kalite kontrolü yapılmıştır.



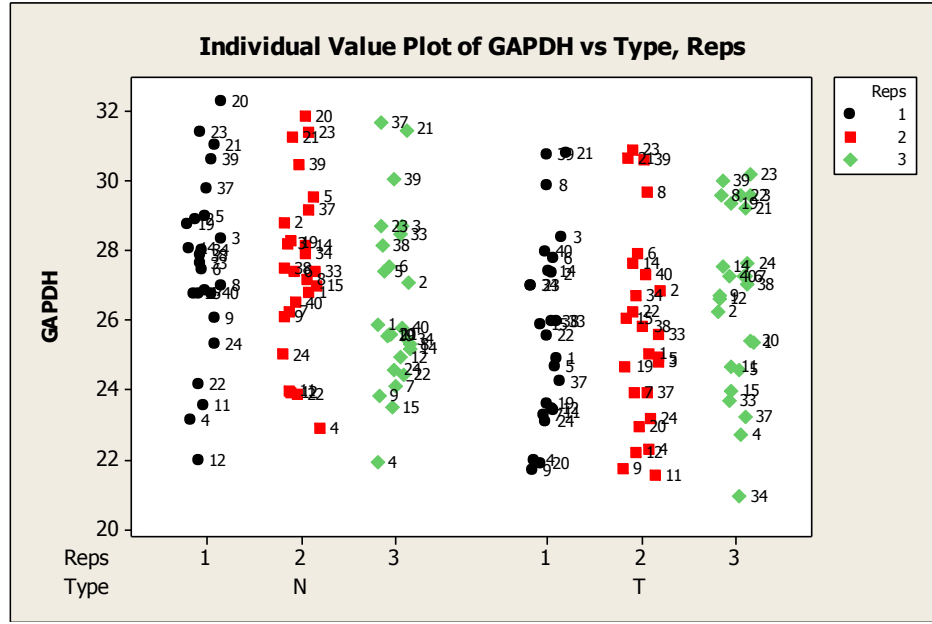
Grafik 4 - GAPDH Ct değerlerinin normal (N) ve tümörlü (T) dokularda ve 3 farklı teknik tekrarda (1, 2, 3) histogramı



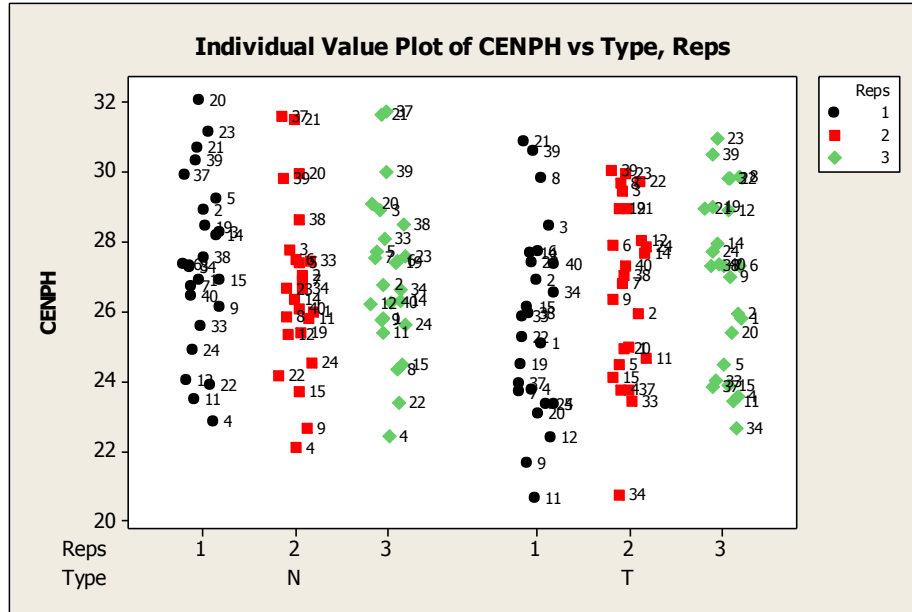
Grafik: 4.1 CENPH Ct değerlerinin normal (N) ve tümörlü (T) dokularda ve 3 farklı teknik tekrarda (1, 2, 3) histogramı

Residual analizleri ve histogramlarda (Şekil 1ve 2) 26., 30. ve 36. örneklerin ileri analizler için uygun olmadıklarına karar verilerek çalışma dışı bırakılmıştır. Geriye kalan toplam 25 bireye ait doku örnekleri ile ileri analizler gerçekleştirilmiştir. LSD analizlerinde GAPDH'in 3. teknik tekrarlarının ilk iki

tekrara göre farklı çıkmasından dolayı sonraki istatistiksel analizlerde dikkate alınmamıştır.



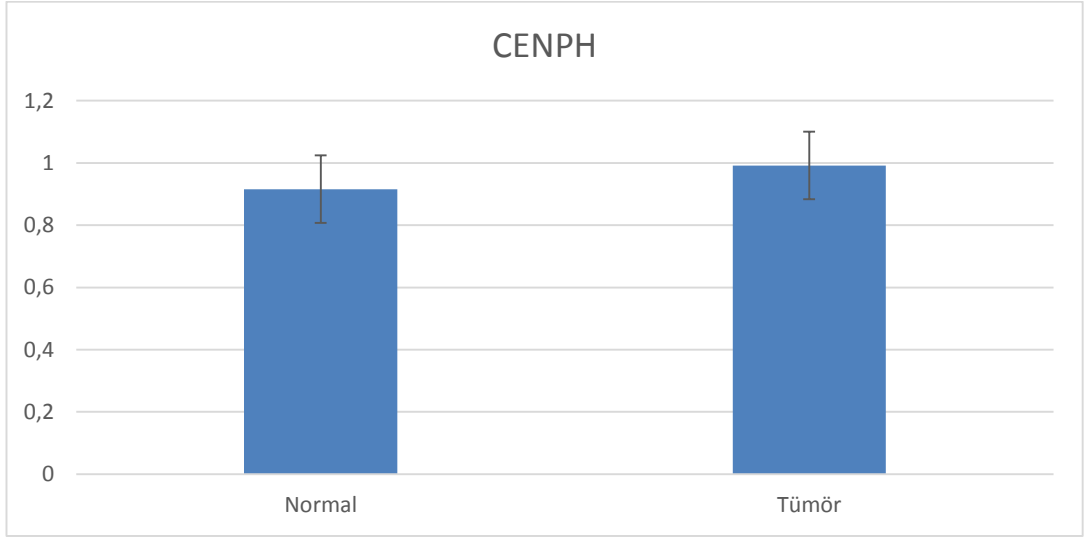
Grafik: 4.2 - GAPDH Ct değerlerinin (n=25) normal (N) ve tümörlü (T) dokularda ve 3 farklı teknik tekrarda (1, 2, 3) histogramı



Grafik: 4.3 CENPH Ct değerlerinin (n=25) normal (N) ve tümörlü (T) dokularda ve 3 farklı teknik tekrarda (1, 2, 3) histogramı

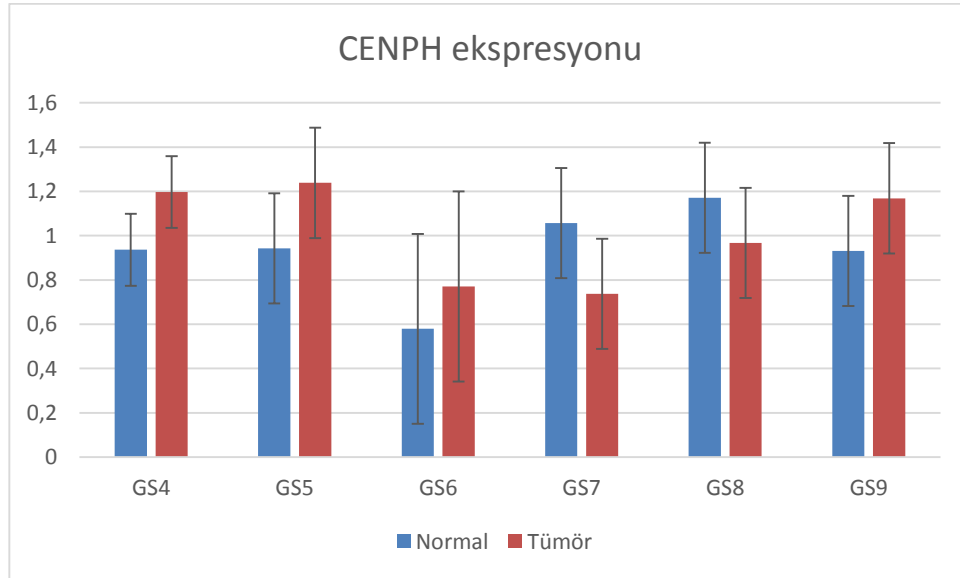
CENPH ekspresyon değerleri housekeeping GAPDH geni ekspresyon değerleri kullanılarak $2^{-\Delta Ct}$ normalizasyonu yapılmış ve gruplar karşılaştırılmıştır. CENPH ekspresyonu tümör dokularında normal dokulara göre azalma göstermiştir

(Grafik: 11.5). Ancak iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P=0,506$).



Grafik: 4.4 Normal ve tümör dokularında CENPH ekspresyonu.

CENPH ekspresyonu ile GS değerleri arasında anlamlı sayılabilecek fark gözlenirken ($p=0,071$); ancak $\alpha=0,10$ kullanılarak yapılan LSD testlerinde gruplar arasında fark tespit edilmemiştir (Grafik: 7.7)



Grafik: 4.5 Normal ve tümör dokularında GS gruplarında CENPH ekspresyonu.

5. TARTIŞMA

Sentromer ve kinetokor ökaryotlarda mitoz ve mayoz sırasında tam ve doğru kromozom segregasyonunun sağlanmasından sorumlu yapılardır. Sentromer ve kinetokor fonksiyonundaki defektler kromozom segregasyonunun hatalı olmasına ve kromozomal instabilitenin meydana gelmesine yol açar. Kromozomal instabilite bu nedenle karsinogenez sürecinde sıklıkla ortaya çıkan bir fenomen olup insan kanserlerinin temel özelliklerinden birisi olarak günümüzde kabul görmektedir (Bakhoun ve ark 2012).

Kinetokorlar kromozomların özelleşmiş yapısal bölgeleri olan sentromerlerde yapılan çok proteinli bir komplekstir ve bölünme sırasında kontrol noktası mekanizmasında da önemli rol oynar (Fukagawa 2004). Son zamanlarda çok sayıda kinetokor komponenti tanımlanmıştır. Bu komponentlerden birisi olan CENP-H hücre siklusu boyunca sentromer-kinetokor kompleksinin bir proteini olarak sentromerik heterokromatinin dış kısmında ve iç kinetokor plakta yer alan CENP-A ve CENP-C ile birlikte ortak yerleşim gösterir (Sugata ve ark 2000; Sugata ve ark 1999). CENP-H'nin kinetokor kompleksinin iç plağındaki uygun yerleşimi, kromozomların doğru ayrılmasında ve de multi kinetokor proteinlerinin toplanmasında önemlidir (Liao ve ark 2009).

Biz de çalışmamızda kinetokor teşekkülünde oynadığı rolü dikkate alarak ve kanserin de kromozomal instabilite ile olan muhtemel ilişkisini de düşünerek, CENP-H proteininin prostat kanserini ile bir ilişkisinin olup olmadığını değerlendirmeyi amaçladık. Bu amaçla prostat kanseri tanısı almış hastalardan çıkarılan total prostat dokularından elde edilen parafine gömülmüş örneklerde CENP-H geninin transkripsiyonel ekspresyon analizini gerçekleştirdik. Ekspresyon analizleri aynı hastanın prostat dokusundaki tümoral ve non-tümoral alanlardaki ekspresyonunun karşılaştırılmasıyla elde edildi.

Kinetokor proteinlerinin karsinogenez ile ilişkisini araştıran çeşitli çalışmalar mevcuttur. Adams ve ark (2001), İNCENP'in insan kollektal hatlarında kanser hücrelere up-regüle olduğu bulmuştur. CENP-F'nin baş ve boyun skuamöz hücre kanserinde up-regüle edildiği gösterilmiştir (Dela Guardia ve ark 2001). Kolorektal kanserlerde yapılan çalışmada ise CENP-A'nın aşırı eksprese olduğu ve nonsentromerik bölgelere hedeflendiği görülmüştür (Tomonaga ve ark 2003).

HCT116 hücre dizileri ile yapılan çalışmada aşırı eksprese olan CENP-A'nın tüm kromozoma lokalize olduğu saptanmıştır (Van Hooser ve ark 2001).

CENP-H ise primer kolorektal kanser (Tomonaga ve ark 2005), oral skuamöz karsinom (Shigeishi ve ark 2006), nazofarenjiyal karsinom (Liao ve ark 2010), özofajiyal karsinom (Guo ve ark 2008), dil kanseri (Liao ve ark 2009) ve küçük hücreli olmayan Akciğer kanseri (Liao ve ark 2009) üzerine çalışılmıştır. Primer kolorektal kanserde yapılan çalışmada kanser dokusunda CENP-H'nin fazla eksprese olduğu tespit edilmiş, CENP-H ekspresyon plazmidinin diploid hücre dizilerine transfekte edilmesinin anöploidiyi uyardığı saptanmıştır (Tomonaga ve ark 2005). Araştırmacılar kolorektal kanserlerde sıklıkla gözlenen anöploidinin ortaya çıkmasında CENP-H'nin aberant ekspresyonunun ve lokalizasyonunun önemli rol oynadığı sonucuna varmışlardır.

Shigeishi ve ark (2006), oral skuamöz hücre karsinomlarında CENP-H'nin artmış ekspresyonunun karsinogenez ile ilintili olduğunu bulmuşlardır. Nazofarenjiyal karsinom hücre (NPC) dizilerinde ve immortalize nazofarenjiyal epitelyum hücrelerinde normal nazofarenjiyal epitelyum hücrelerine göre CENP-H'nin daha yüksek düzeyde eksprese edildiği gözlenmiş ve CENP-H ekspresyonunun hastanın yaşam süresi için bağımsız bir prognostik belirteç olabileceği ileri sürülmüştür (Liao ve ark 2007).

Özofajiyal karsinomda yapılan bir çalışmada ise özofajiyal karsinom dokusunda, normal özofajiyal dokuda ve immortalize özofajiyal hücrelerde CENP-H'nin transkripsiyonel ve translasyonel ekspresyon analizlerinde cinsiyet, evre ve T sınıflamasına göre gruplandırılan hastalarda CENP-H ekspresyonunda farklılık gözlenmiştir. Çalışmada Düşük CENP-H ekspresyonuna sahip hastaların daha yüksek CENP-H ekspresyonuna sahip hastalara göre daha uzun bir yaşam süresi gösterdikleri belirlenmiş ve CENP-H'nin özofajiyal karsinom hastalarında karsinomun takibinde önemli bir marker olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (Guo ve ark 2008).

Dil kanserinde CENP-H'nin hem transkripsiyonel hem de translasyonel ekspresyon analizi gerçekleştirilmiş ve dil kanseri hücre dizileri ve kanser dokularında normal hücre ve komşu nonkanseroz dil dokusuna göre protein ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir. Aynı çalışmada CENP-H'nin ekspresyonu ile

linik evre arasında korelasyon bulunarak CENP-H'in erken evre dil kanseri için önemli prognostik belirteç olabileceği ileri sürülmüştür (Liao ve ark 2009).

Küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde CENP-H ekspresyonunun hem kanser hücre dizilerinde hem de kanser dokusunda normal hücelere göre yüksek olduğu bulunmuş ve özellikle erken evre NSCLC'de prognostik bir belirteç olarak kullanılabilmesi ileri sürülmüştür (Liao ve ark 2009).

Nazofarenjiyal karsinom hücre (NPC) dizilerinde ve immortalize nazofarenjiyal epitelyum hücrelerinde normal nazofarenjiyal epitelyum hücrelerine göre CENP-H'in daha yüksek düzeyde eksprese olduğu gözlenmiş ve CENP-H ekspresyonunun hastanın yaşam süresi için bağımsız bir prognostik belirteç olabileceği ileri sürülmüştür (Liao ve ark 2007). Shigeishi ve ark (2006) oral skuamöz hücre karsinomlarında CENP-H'in artmış ekspresyonunun karsinogenez ile ilintili olduğunu bulmuşlardır.

CENP-H ekspresyonunun çalışıldığı bütün kanser tiplerinde karsinogenez sürecinde anöploidiler ve dolayısı ile kromozomal instabilite önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmalarda CENP-H'in kanserli dokularda fazla eksprese oluyor olması, bu kanserlerin doğasında zaten var olan kromozomal instabilite ile uyumlu gözükmektedir. Oysa çalışmamızda incelediğimiz prostat dokusunun karsinogenezinde anöploidi ya da poliploidiler primer role sahip değildir. Prostat kanseri tümorogenezinde kromozomal instabiliteye götüren kromozom sayısı düzensizliklerinin yaygın olmaması aslında bizim CENP-H ekspresyonunda bir artış tespit edememiş olmamızın bir açıklaması olabilir. Buradan hareketle CENP-H ekspresyonunda anormalliklere götüren süreç Prostat kanseri tümorogenezi için geçersiz gibi gözükmektedir.

Biz çalışmamızda prostat kanserinde normal doku ile tümör dokusu arasında CENP-H ekspresyonu bakımından bir farklılık tespit edemedik. Çalışmamızın çeşitli kanser tiplerinde CENP-H ekspresyonunun arttığını bulan çalışmalardan farklı bir sonuca ulaşmış olmasının nedenlerini üç ana başlıkta toplamak mümkündür:

Birincisi, karsinogenezde genetik ve fenotipik varyasyonda intertumoral ve hatta intratumoral heterojenitenin olmasıdır. Her kanserin ve kanser hücrelerinin doğası ve özellikleri birbirinden farklılık gösterir. Tümörler arasındaki genetik çeşitliliğin en önemli kaynağını da genomik instabilite oluşturur. Hem tümörler

arasındaki hem de tümörler içerisindeki bu genetik heterojenite anahtar kanser yollarını etkiler, fenotipik varyasyonu yönlendirir ve hatta bireysel kanser tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde zorluklara ve başarısızlıklara neden olur (Burrell ve ark 2013). Genomik instabilite gen düzeyinde ya da kromozomal düzeyde olabilir. Kromozomal düzeyde olan genomik instabilite “kromozomal instabilite” olarak adlandırılır ve solid tümörlerin çok büyük bir kısmında ve bazı hematolojik malignansilerde gözlenir. Kromozomal instabilite sayısal ya da yapısal anomalileri kapsar ve aynı zamanda anöploidinin temel nedeni olarak düşünülür (Weaver ve ark 2007). Sayısal kromozomal instabiliteye yol açabilen olası dört mekanizma vardır. Mitotik kontrol noktası defektleri, kardeş kromatidlerin kohezyon defektleri, sentrozom amplifikasyonu ve hiperstabilize kinetokor-mikrotübül etkileşimleridir (Holland ve ark 2012).

Bazı kanser türlerinde yüksek oranda meydana gelen kromozomal instabilite, tümörün agresifliği, ilaç direnci ve kötü prognozu ile ilişkilendirilmektedir. McGranahan ve ark (2012), 10 kanser tipindeki kromozomal instabiliteyi değerlendiren 19 çalışmanın sonuçlarının derlendiği çalışmadan küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, meme kanseri, over kanseri, endometriyal kanser, sinoviyal sarkom, oral kanser (skuamöz hücre karsinomu) ve diffüz büyük B hücre lenfomasında kromozomal instabilitenin kötü prognoz ile; yine meme kanserinde lenf metastazı ve östrojen reseptör negatifliği ile, endokrin pankreatik tümörlerde metastaz ile, kolon kanserinde hastalığın tekrarlaması ile ve oral kanserde bölgesel tümör büyümesi ile ilişkili olduğu anlaşılmaktadır. Bu kanser tiplerinden üçü (küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, kolon kanseri ve skuamöz hücre kanseri) CENP-H ekspresyonunun yüksek bulunduğu kanserlerdir. Kromozomal instabilitenin yaygın olduğu bu kanser tiplerinde CENP-H ekspresyonunun yüksek çıkması bu kanserlerin patogenezinde kromozomal instabilite oluş mekanizmalarından hiperstabilize kinetokor-mikrotübül etkileşimlerinin rol oynuyor olması muhtemel gibi görünmektedir. Kromozomal instabilite sonuçları derlenen bu 10 kanser içerisinde malesef prostat kanseri bulunmamaktadır. Tümoral heterojenite çıkış noktasından hareketle prostat tümörogenezinde işleyen sürecin CENP-H ekspresyonunun yüksek bulunduğu diğer kanserlerin tümöröenez sürecinden farklı seyrediyor olabileceği düşünülebilir. Ayrıca kromozomal instabilite prostat karsinogenezinde primer bir etkiye sahip olsa bile CENP-H ile doğrudan ilişkili olabilecek mekanizmanın

dışındaki diğer mitotik kontrol noktası defektleri, kardeş kromatid kohezyon defektleri ve sentrozom amplifikasyonu gibi mekanizmaların sonucunda da ortaya çıkmış olabilir.

Kinetokor bileşenlerinin yüksek ekspresyonu normal kinetokor birlikteliğini bozarak kromozomal instabiliteye yönlendirebilmektedir. Kuşkusuz doğru dozaj iş-kontrol noktası sinyal iletimi için de önemlidir (Yuen ve ark 2005). Kromozomal instabilite aynı zamanda DNA replikasyonu, tamiri ve mitoz için gerekli proteinlerin düzeylerinde de artışa yol açmakta ve bu da hücre sel büyüme ve transformasyona götüren süreçteki genetik değişikliklerin meydana gelmesini kolaylaştırmaktadır (Duesberg ve ark 1999). Dolayısı ile “acaba çeşitli kanserlerde gözlenen CENP-H ekspresyonundaki artış kromozomal instabilitenin bir sonucu mudur, yoksa kromozomal instabilite CENP-H ekspresyonundaki artışın bir sonucu mudur?” şeklinde çözülmesi gereken bir paradoks ortaya çıkmaktadır.

İkincisi, metodolojideki sınırlamalar. Biz çalışmamızda Gleason skoru 9’a kadar olan prostat tümörlerindeki CENP-H ekspresyonunu değerlendirebildik. Daha ileri evre tümörleri invazyonun yüksek olması, non-tümoral normal dokunun saptanamaması ve/veya tümoral doku ile non-tümoral normal doku alanları arasındaki sınırın net olmaması nedeniyle değerlendirmeye alamadık. Eğer ileri evre prostat tümörlerinde ekspresyon analizi yapabileseydik biz de CENP-H ekspresyonunda artış tespit edebilecek ve bu durumu kromozomal instabiliteye atfedebilecektik. Nitekim Özen ve ark (2000), çalışmalarında erken evre prostat kanseri tümörlerinin normal diploid kromozom kuruluşunda olduklarını ve bu tümörlerdeki en yaygın kromozomal değişikliğin 8. Kromozom anomalileri olduğunu bildirmişlerdir. Yine prostat kanseri vakalarının bir kısmında tümörün evresinin ilerlemesinin diploidden anöploidide geçiş ile birlikte gerçekleştiği öne sürülmüştür (Verma ve ark 1999).

Üçüncüsü, çalışmalar arasındaki metodolojik farklılıklar. CENP-H ekspresyonunun değerlendirildiği diğer çalışmalarda daha çok kültüre alınmış hücre dizileri ve taze ameliyat dokuları kullanılmış ve ekspresyon analizi için real time PCR yöntemi ile birlikte western blot ve/veya immunohistokimyasal yöntem uygulanmıştır.

Çalışmamızda tümörün evresine bağlı olarak CENP-H ekspresyonunda bir değişiklik olup olmadığını değerlendirdiğimizde CENP-H ekspresyonu ile tümörün evresi arasında anlamlı bir ilişki bulamadık.

Bu sonuca ulaşmamızdaki muhtemel nedenlerden birisi de yüksek evreli tümörleri metodolojik nedenlerden dolayı değerlendirememiş olmamızdır. Yüksek evreli tümörleri de değerlendirme şansımız olsaydı belki CENP-H ekspresyonunda evreye bağlı bir değişiklik saptayabilirdik.

Bununla birlikte çalışmamızın bazı sınırlılıkları da vardır:

- Yüksek Grade'li tümörleri değerlendiremediğimiz için tümör evresi-CENP-H ekspresyon ilişkisini de değerlendirememiş olduk.

- Çalışmada housekeeping gen olarak literatürde diğer kanser dokularında da kullanılan GADPH'ı kullandık. Ancak GADPH'ın bizim çalışmamız için uygun bir housekeeping gen olup olmadığına yönelik bir ön değerlendirme yapamadık.

Sonuç olarak daha önceki çalışmalarda çeşitli kanser türlerinde CENP-H ekspresyonunun artmış olduğunun bulunmasına ve CENP-H ekspresyonunun hastalığın erken evresinde ve hastalığın ilerlemesinde tanısal bir belirteç olarak kullanılabileceğinin öne sürülmüş olmasına rağmen, biz çalışmamızda prostat kanserinde CENP-H ekspresyonunda bir artış tespit edemedik. Dolayısıyla CENP-H ekspresyonu prostat kanserinde özellikle de erken evrede tanısal bir değere sahip gibi görünmemektedir. Ancak CENP-H'ın karsinogenezdeki muhtemel rolünün prostat kanserinin kendi moleküler yapısı ve biyolojisi içinde değerlendirildiği daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu çalışmalar CENP-H ekspresyonunun hem prostat kanseri hücre dizilerinde hem de hastalardan çıkarılan taze ameliyat materyallerinde hem transkripsiyonel hem de translasyonel olarak değerlendirildiği araştırmalarla desteklenmelidir. Böylece prostat kanseri tedavi stratejilerinin belirlenmesinde de CENP-H regülasyonunun terapötik bir hedef olarak göz önünde bulundurulup bulundurulamayacağı netlik kazanacaktır.

6. KAYNAKLAR

1. Abate Shen C, Shen MM. Molecular genetics of prostate cancer. *Genes Dev.* 2000; 14: 2410-2434.
2. Abuassaly R, Thompson IM, Platz EA, Klein EA: Epidemiology Etiology and Prevention of Prostate Cancer In: *Campell-Walsh Urology*. Eds: Wein A J, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peter CA. WB Saunders Company 2011 10th edition Philadelphia p: 2704-2725
3. Adams RR, Eckley DM, Vagnarelli P, Wheatley SP, Gerloff DL, Mackay AM, Svingen PA, Kaufmann SH, Earnshaw WC. Human INCENP colocalizes with the Aurora-B/AIRK2 kinase on chromosomes and is over expressed in tumor cells. *Chromosoma.* 2001; 110: 65-74.
4. Ali IU, Schriml LM, Dean M. Mutational spectra of PTEN/MMAC1 gene: Tumor suppressor with lipid phosphatase activity. *J National Cancer Inst.* 1999; 91: 1922-32.
5. Aman A. The spindle check point. *Current Opinion Genetics Dev.* 1999; 9: 69-75.
6. Amaro AC, Samora CP, Holtackers R, Wang E, Kingston IJ, Alonso M, Lampson M, McAnish AD, Meraldi P. Molecular control of kinetochore microtubule dynamics and chromosome oscillations. *Nature Cell Biol.* 2010; 12: 319-329.
7. Ambros S, Prueitt PL, Hudson RS, Howe TM, Petrocca F, Wallece TA, Liu CG, Volina S, Calin GA, Yfountis HG, Stephens RM, Croce CM. Genomic profiling in prostate cancer. *Cancer Res.* 2007; 67: 6130-6135.
8. Amor Dj, Choo KHA. Neocentromeres: Role in human disease, evolution and centromere study. *Cell.* 2002; 71(4): 695-714.
9. Arcangeli S, Pinzi V, Arcangeli G. Epidemiology of prostate cancer and treatment remarks. *World J Radiol.* 2012; 4(6): 241-246.
10. Bakhom SF, Compton DA. Kinetochores and disease: Keeping microtubule dynamics in check. *Current Opinion In Cell Biol.* 2012; 24: 64-70.
11. Baydar DE. Prostat kanserinin patolojisi. *Üroonkoloji Kitabı*. Eds: Özen H, Türkeri L. Ertem Basın Yayın. 2007: 549-570.
12. Bedford MT, Van Helden PD. Hypomethylation of DNA in pathological conditions of the human prostate. *Cancer Res.* 1987; 47(20): 5274-5276.
13. Bentel JM, Tilley WD. Androgen receptors in prostate cancer. *J Endocrinol.* 1996; 151: 1-11.

14. Berman DM, Rodriguez R, Weltri RW: *Development Molecular Biology and Physiology of the prostate In: Campell-Walsh Urology. Eds: Wein A J, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peter CA. WB Saunders Company 2011 10th edition Philadelphia p: 2533-2569*
15. Bernard D, Pourtier-Manzanedo A, Gil J, David H. Beach author information, article notes: *MYC confers androgen independent prostate cancer cell growth. J Clin Invest.2003; 112(11): 1724–1731.*
16. Bircan MK. Prostat kanserinde tümör belirliyecileri. Prostat. Ed: Balbay D Ankara, Güneş Tıp Kitapevi. 2008: 225-234.
17. Black BE, Bassett EA. The histone variant CENP-A and centromere specification. *Current Opinion In Cell Biol.* 2008: 91-100.
18. Bladle GW. Eposible inflonce of the spindle fibre on crossing over in drosophila. *Prov Not Acad Sci USA.* 1932; 18: 160-165.
19. Bookstein R, Bova GS, MacGrogan D, Levy A, Isaacs WB. Tumour supressor genes in prostatic oncogenesis: a positional approach. *Br J Urol.* 1997; 79: 28-36.
20. Brown MT, Goetsch L, Hartwell LH. MIF 2 is required for mitotic spingle integrity during anaphase spindle along gation in sacchoramyces cerevisia. *J Cell Biol.*1993; 123: 387-403.
21. Bostwick DG, Burke HB, Djakiew D, Euling S, Ho S, Landolph JMD, Morrison H, Sonawane B, Shifflett T, Waters DJ, Timms B. Human protaste cancer risk factors. *Cancer supplement.* 2004; 101(10): 2371-2490.
22. Bratt O. Hereditary prostate cancer: Clinical aspects. *J Urol.* 2002; 168(3): 906-913.
23. Buhmedia A, Pyrhönen S, Laoto M, Colland Y. Prognostic factors in prostat cancer. *Diagnostic pathol.* 2006: 1: 4.
24. Burrell RA, McGranahan N, BartekJ, SwantonC. The causes and concequences of genetic heterogency in cancer evolution. *Nature.* 2013; 501: 338-345.
25. Cahill DP, Kinzler KW, Vogelstein B, Lengouer C. Genetic instability and darwinion selection in tumorous. *Trends Cell Biol.* 1999; 9: 57-60.
26. Cairns P, Okami K, Halachmi S, Halachmi N, Esteller M, Herman JG, Jen J, Isaacs WB, Bova GS, Sidransky D. Frequent inactivation of PTEN/MMAC1 in primary prostate cancer. *Cancer Res.* 1997; 57(22): 4997-5000.

27. Calvo BF, Levine AM, Marcos M, Collins QF, Iococco MV, Caskey LS, Gregory CW, Lin Y, Whang YE, Earp HS, Mohler JL. Human epidermal receptor -2 expression in prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2003; 9(3): 1087-1097.
28. Carpton J, Nupponen N, Isaacs S, Sood P, Robbins C, Xu J, Faruque M. Germline mutations in the ribonuclease 1 gene in families showing linkage with HPC1. *Nat Genet.* 2002; 30 (2): 181-184.
29. Carroll CW and Straight AF. Centromere formation: from epigenetics to self-assembly. *Trends Cell Biol.* 2006; 16: 70-78.
30. Carter BS, Carter HB, Isaacs JT. Epidemiologic evidence regarding predisposing factors to prostate cancer. *Prostate.* 1990; 16(3): 187-197.
31. Carter BS, Bova GS, Beaty TH, Steinberg GD, Childs B, Isaacs WB, Wals BC. Hereditary prostate cancer: Epidemiologic and clinical features. *J Urol.* 1993; 150(3): 797-802.
32. Catz SD, Johnson JL. Bcl-2 in prostate cancer: a minireview. *Apoptosis.* 2003; 8(1): 29-37.
33. Chang M, Tsuchiya K, Batchelor RH, Rabinovitch PS, Kulander BG, Haggitt RC, Burner GC. Deletion mapping of chromosome 8p in colorectal carcinoma and dysplasia arising in ulcerative colitis: Prostatic carcinoma and malignant fibrous histiocytomas. *Am J Pathol.* 1994; 144: 1-6.
34. Cebeza-Arvelaiz Y, Sepulveda JL, Lebovitz RM, Thompson TC, Chinault AC. Functional identification of L2TSI as a candidate prostate tumor suppressor gene on human chromosome 8p22. *Oncogene,* 2001; 20: 4169-4179.
35. Cheeseman IM, Desai A. Molecular architecture of the kinetochore microtubule interface. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008; 9: 33-46.
36. Chia SJ, Tang WY, Elnatan J, Yap WM, Goh HS, Smith DR. Prostate tumors from Asian population: Examination of bax, bcl -2, p53 and identification of bax as a prognostic marker. *Br U Cancer.* 2000; 83: 761 -768.
37. Chung BI, Sommer G, Brooks J: Anatomy of the lower urinary tract and male genitalia In: *Campbell-Walsh Urology.* Eds: Wein A J, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peter CA. WB Saunders Company 2011 10th edition Philadelphia p: 33-70
38. Cicek MS, Liu X, Shumacher FR, Casey G, Write VS. Vitamin D receptor genotypes haplotypes and prostate cancer risk. *Cancer Epidem Biomark. Prev,* 2006; 15: 2549-2552.

39. Clements J and Mukhtar A. Glandular kallikreins and prostate-specific antigen are expressed in the endometrium. *J. CE&M.* 1994; 78 (6): 1536-1539.
40. Colleary JG, Smith SRG, Feneley MR. Surgical anatomy of the prostate. In: *Radical Prostatectomy .from open to robotic.* Eds: Kirby R, Montorsi F, Gontero P, Smith Jr JA. 2007; part1: 1-11.
41. Cooperberg MR, Lubeck DP, Meng MV, Mehta SS, Carroll PR. The changing face of low-risk prostate cancer: trends in clinical presentation and primary management. *J Clin Oncol.* 2004; 22(11): 2141-2149.
42. Cordon Cardo C, Koff A, Drobnjak M, Capodiceci P, Osman I, Millerd SS, Gaudin PB, Fazzari M, Zhang ZF, Massague J, Scher HI. Distinct altered patterns of p27Kip1 gene expression in benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 1998; 90: 1284-1291.
43. Counter CM, Avilion AA, LeFeuvre CE, Stewart NG, Greider CW, Harley CB, Bacchetti S. Telomere shortening associated with chromosome instability is arrested in immortal cells which express telomerase. *EMBO J.* 1992; 11(5): 1921-1929.
44. Cunningham JM, Shan A, Wick MJ, McDonnell SK, Schaid DJ, Tester DJ, Qian J, Takahashi S, Jenkins RB, Bostwick DG, Thibodeau SN. Allelic imbalance and microsatellite instability in prostatic adenocarcinoma. *Cancer Res.* 1996, 56: 4475–4482
45. Craig JM, Earnshaw WC, Vagnarelli P. Mammalian centromeres: DNA sequence, protein composition and role in cell cycle progression. *Exp Cell Res.* 1999; 246: p 249–262.
46. De Luca JG and Musacchio A. Structural organization of the kinetochore-microtubule interface. *Curr Opin Cell Biol.* 2012; 24(1): 48-56.
47. De Marzo AM, Meeker AK, Epstein JI, Coffey DS. Prostate stem cell compartments: expression of the cell cycle inhibitor p27Kip1 in normal, hyperplastic, and neoplastic cells. *Am J Pathol,* 1998; 153(3): 911-919.
48. De Marzo AM, Marchi VL, Epstein JL. Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: Implication for prostatic carcinogenesis. *AJP.* 1999; 155(6): 1985-1992.
49. De Marzo AM, Platz EA, Sutcliffe S, Xu J, Grönberg H, Drake CG, Nakai Y, Isaacs WB, Nelson WG. Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nat. Rev. Cancer.* 2007; 7(4): 256-269.

50. Dean M and Lou H. Genetics and genomics of prostate cancer. *Asian J. Andrology*. 2013 (15): 309-313.
51. Dela Guardia, Casiano CA, Trinidao D. CENP-F gene amplification and over expression in head and neck squamous cell carcinomas. *Head Neck*. 2001; 23: 104-112.
52. Dillioğlugil Ö, Çevik I. Prostat kanserinde tanı ve evrelendirme. *Üroonkoloji Kitabı*, Eds: Özen H, Türkeri L. Ethem Basın Yayın. 2007: 609-622.
53. Dinçel Ç, Bal K. Prostat kanserinde biopsi. *Üroonkoloji*. Ed: Dinçel,Ç, Meta Basım matbaacılık, 2007:45-56
54. Diniens WNM, Van Der Weiden MM, Schroeder FH, Bosman FT, Trapman J. Frequency and characterization of p53 mutations in primary and metastatic human prostate cancer. *Int J Cancer*. 1994; 56: 630 -633.
55. Divrik RT. Prostat kanserinin etyolojisi, epidemiyolojisi ve risk faktörleri. *Üroonkoloji Kitabı*. Eds: Özen, H, Türkeri L. Ertem Basın Yayın, 2007: 523-548.
56. Dobosy JR, Selker EU. Emerging connections between DNA methylation and histone acetylation. *Cell Mol Life Sci*. 2001; 58(5-6): 721-727.
57. Donaldson L, Ford-Ice C, Gilliland F, Smith A, Feddersen R, Joste N, Moyzis R, Griffin J. Association between outcome and telomere DNA content in prostate cancer. *J Urol*. 1999; 162: 1788 -1792.
58. Das PM, Signal R. DNA methylation and cancer. *J Clin Oncology*. 2004; 22: 4632-4642.
59. Duesberg P. Rasnick D, Li R, Winters L, Rausch C, Hehlmann R. How an euploid may cause cancer and genetic instability. *Anticancer Res*. 1999; 19: 4887-4906.
60. Edwards J, Krishna NS, Witton CW, Bartlett JMS. Gene amplifications associated with the development of hormone resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2003; 9: 2571-2581.
61. Ellinger J, Kahl P, Van Der Gathen J, Rogenhofer S, Heukamp LC, Gütgemann I, Walter B, Hofstädter F, Büttner R, Müller SC, Bastian PJ, von Ruecker A. Global levels of histone modifications predict prostate cancer recurrence. *Prostate*, 2010; 70(1): 61-69.
62. Egevad L, Granfors T, Karlberg L, Bergh A, Stattin P. Prognostic value of the gleason score in prostate cancer. *BJU Internationale*. 2002; (89): 538-542.

63. Epstein JI. How should atypical prostate needle biopsies be reported. *Controversies Regarding the term "ASAP"* Human Pathology 1999; 30 (12): 1401-1402.
64. Epstein JI: The prostate and seminal vesicles. In: Sternberg's diagnostic surgical pathology 4thed. Eds: Mill SE, Carter D, Reuter VE, Greenson JK, Stoler MH, Oberman HA. Lippincott Williams & Wilkins Philadelphia 2004 ; Vol 2, sec IX(45) p: 2083-2132.
65. Epstein JI: Pathology of the Prostatic Neoplasia Campbell-Walsh Urology. Tenth ed. Eds: Wein A J, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peter CA. Philadelphia WB Saunders Company. 2011: 2726-2734.
66. Elo JP, Härkönen P, Kyllönen AP, Lukkarinen O, Poutanen M, Vihko R, Vihko P. Loss of heterozygosity at 16q24.1-q24.2 is significantly associated with metastatic and aggressive behavior of prostate cancer. *Cancer*. 1997; 57(16): 3356-3359.
67. Elo JP, Härkönen P, Kyllönen AP, Lukkarinen O, Poutanen M, Vihko R and Vihko P. Loss of heterozygosity at 16q24.1-q24.2 is significantly associated with
68. metastatic and aggressive behavior of prostate cancer. *Cancer Res*. 1997, 57: 3356-3359.
69. Ermete M, Sarı AA. Prostat kanserinde patoloji, Üroonkoloji, Ed: Dinçel Ç. Meta Basım Marbaacılık. 2007: 17-26.
70. Esen T, Gökçe I, Önem K. Prostat kanseri tanısında prostat spesifik antijen, Üroonkoloji Kitabı. Eds: Özen H, Türkeri L. Ertem Basım Yayın, 2007: 581-592.
71. Eskiçorapçı SY. Prostat kanseri, doğal seyri, prognostik faktörler ve nomogramlar. Üroonkoloji Kitabı. Eds: Özen H, Türkeri L. Ertem Basım Yayın, 2007: 594-608.
72. Falzarano SM, Zhou M, Carver P, Tsuzuki T, Simmerman K, He H. ERG gene rearrangement status in prostate cancer detected by immunohistochemistry. *Virchows Arch*. 2011; 459(4): 441-7.
73. Foltz DR, Jansen LE, Black BE, Bailey BO, Yates JR, Clewley DW. The human CENP-A centromeric nucleosome associated complex. *Nature Cell Biology*. 2006; 8: 458-469.
74. Fukagawa T. Assembly of kinetochore in vertebrate cells. *Exp Cell Research*. 2004; 296: 21-27.
75. Gonzalgo ML and Isaacs WB. Molecular pathways to prostate cancer. *J Urol* 2003; (170): 2444 – 2452.

76. Grazioli L, Apostolopoulos E, Zappa N . Male reproductive system: Normal gross and microscopic anatomy. In: Imaging of Urogenital Diseases Eds. Olivetti L, Grazioli L. Springer Verlag Italia, 2008 p: 35-46.
77. Gregory CW, Fei X, Ponguta LA, He B, Bill HM, French FS, Wilson EM. Epidermal growth factor increases coactivation of the androgen receptor in recurrent prostate cancer. *J Biol Chem.* 2004; 179: 7119-7130.
78. Gregory PA, Bert AG, Peterson EL, Barry SC, Tsykin A, Farshid G, Vadas MA, Khew- Goodall, Goodall GJ. The mir -200 family and mir 205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting zeb1 and sip1. *Nat Cell Biol.* 2008; 10: 593-601.
79. Gu Z, Thomas G, Yamashiro J, Shintaku IP, Dorey F, Raitano A, Witte ON, Said JW, Loda M, Reiter RE. Prostate stem cell antigen (PSCA) expression increases with high gleason score, advanced stage and bone metastasis in prostate cancer. *Oncogene.* 2000; 19(10): 1288-96.
80. Gu G and Brothman AR. Cytogenomic aberrations associated with prostate cancer. *Cancer Genet.* 2011; 204(2): 57-67.
81. Gao XZ, Zhang G, Wang JY, Wan-LiL, Wang F, Dong J, Xu LH, Cao JY, Song L, Zeng M. Prognostic relevance of centromere protein H expression in esophageal carcinoma. *BMC Cancer.* 2008; 8: 233.
82. Gürel B, Iwata T, Koh CM, Jenkins RB, Lan F, Van Dang C, Hicks JL, Morgan J, Cornish TC, Sutcliffe S, Isaacs WB, Luo J, De Marzo AM. Nuclear MYC protein overexpression in early alteration in human prostate carcinogenesis. *Mol Pathol.* 2008; 21(9): 1156-1167.
83. Guyton AC, Hall JE. Reproductive hormonal functions of the male (and function of the pineal Gland) In: Textbook of medical physiology. Eds: Guyton AC, Hall JE. WB Saunders Company, 1996 10th edition p: 916-928.
84. Gürel B. Prostat kanseri patogenezi ve yeni gelişmeler ve prognostik yansımaları. *Üroonkoloji Bülteni.* 2013; 12 (4): 279-284.
85. Hackett JA and Greider CW. Balancing instability dual roles for telomerase and telomere dysfunction in tumorigenesis. *Oncogene.* 2002; 21: 619-626.
86. Haggman MJ, Wojno KJ, Pearsall CP, Macoska JA. Allelic loss of 8p sequences in prostatic intraepithelial neoplasia and carcinoma. *Urology.* 1997; 50: 643-647.

87. Haeusler J, Hoegel J, Bachmann N, Herkommer K, Paiss T, Vogel W, Maier C. Association of a CAV-1 haplotype to familial aggressive prostate cancer. *Prostate*. 2005; 63:369-384.
88. Halvorsen OJ, Hostmark J, Haukas S, Hoisaeter PA, Akslen LA. Prognostic significance of p16 and CDK 4 protein in localized prostate carcinoma. *Cancer*. 2000; 88: 416-424.
89. Heidenberg HB, Sesterhenn IA, Gaddipati JP, Weghorst CM, Buzard GS, Moul JW, Srivastava S. Alteration of the tumor suppressor gene p53 in a high fraction of hormone refractory prostate cancer. *J Urol*. 1995; 154: 414-21.
90. Helenius MA, Saramäki OR, Linja MJ, Tammela TL, Visakorpi T. Amplification of urokinase gene in prostate cancer. *Cancer Res*. 2001; 61(14): 5340-5344.
91. Hobisch A, Culig Z, Radmayr C, Bartsch G, Klocker H, Hittmair A. Distant metastases from prostatic carcinoma express androgen receptor protein. *Cancer Res*. 1995; 55: 3068-3072.
92. Holland AJ, Cleveland DW. Losing balance: The origin and impact of aneuploidy in cancer. *EMBO*. 2012; 13(6): 501-514.
93. Hori T, Okada M, Maenaka K, Fukagawa T. CENP-O class proteins form a stable complex and required for proper kinetochore function. *Mol Biol Cell*. 2008; 19: 843-854.
94. Howman EB, Fowler KJ, Newson AJ, Redward S, McDonald AC, Kalitsis P, Cuhoo KHA. Early disruption of centromeric chromatin organization in centromere protein A (CenpA) null mice. *Cross Mark*. 1999; 97(3): 1148-1153.
95. Hughes C, Murrpy A, Martin C, Sheils O, O'Leary J. Molecular pathology of prostate cancer. *J Clin Pathol*. 2005; 58: 673-684.
96. Ittmann MM. Allelic loss on chromosome 10 in prostate adenocarcinoma. *Cancer Research*. 1996; 56: 2143-47.
97. Jackson P, Millar DD, Kingsley E, Yardley G, Ow K, Clark S, Russell PJ. Methylation of a CPG island with the promoter region of the KAI1 metastasis suppressor gene is not responsible for down-regulation of KAI1 expression in invasive cancers or cancer cell lines. *Cancer Lett*. 2000; 157: 169-176.
98. Jenkins R, Takahashi S, DeLacey K, Bergstrahl E, Lieber M. Prognostic significance of allelic imbalance of chromosome arms 7q, 8p, 16q, and 18q in stage T3NoMo prostate cancer. *Genes Chromos Cancer*. 1998; 21(2): 131-43.

99. Jeronimo C, Bastian PJ, Bjartell A, Carbone GM, Catto JW, Clark SJ, Henrique R, Nelson WG, Shariat SF. Epigenetics in prostate cancer: Biologic and clinical relevance. *Eur Urol*. 2011; 60(4): 753-66.
100. Kallakury BVS, Brien BT, Lowry CV, Muraca PJ, Fisher HAG, Kaufman RP, Ross JS. Telomerase activity in human benign prostatic tissue and prostatic adenocarcinomas. *Diagn Mol Pathol*. 1997; 6: 192-198.
101. Karki S and Holzbaur ELF. Cytoplasmic dynein and dynactin in cell division and intracellular transport. *Curr Opin in Cell Biol*. 1999;11(1): p. 45-53.
102. Kashefi C, Partin AW, Parsons JK. Serum markers and screening in early diagnosis and treatment of cancer: In: *Early Diagnosis and Treatment of Cancer: Prostate cancer*. Eds: Li-Ming Su, Yang SC. Saunders Elsevier, Philadelphia 2010 p:1-7.
103. Koşar A. Prostat kanserinde semptomatoloji ve bulgular. *Üroonkoloji*. Ed: Dinçel Ç. Meta Basım Matbacılık, 2007: 27-29.
104. Kinoshita M, Nakagawa T, Shimizu A, Katsuoka Y. Differentially regulated androgen receptor transcriptional complex in prostate cancer compared with normal prostate. *Int J Urol*. 2005; 12: 390-397.
105. Korver W, Guevara C, Chen Y, Neuteboona S, Bookstein R, Tavtigian S, Lees E. The product of the candidate prostate cancer susceptibility gene ELAC2 interacts with the gamma tubulin complex. *Int J of Cancer*. 2003; 104(3): 283-288.
106. Kong D, Li Y, Wang Z, Baneerje S, Ahmad A, Kim HR, Sarkar FH. miR-200 regulates PDGF-D-Mediated epithelial mesenchymal transition, adhesion, and invasion of prostate cancer cells. *Stem Cell*. 2009; 27: 1712-1721.
107. Kuo MH and Allis CD. Roles of histone acetyltransferases and deacetylases in gene regulation. *BioEssays*. 1998; 20(8): 615-26.
108. Lara PN, Mevera FV, Gray CR, Edwards RG, Gumerlock PH, Kouderer C, Tichauer G, Twardowski P, Dorosow JH, Ganara DR. HER-2/neu is overexpressed infrequently in patients with prostate carcinoma. *Cancer*. 2002; 94 (10): 2584-2589.
109. Latil A, Bièche I, Pesche S, Volant A, Valèri A, Fournier G, Cussenot O, Lidereau R. Loss of heterozygosity at chromosome arm 13q and RB1 status in human prostate cancer. *Hum Pathol*. 1999; 30(7): 809-15.
110. Latil A, Baron JC, Cussenot O, Fournier G, Soussi T, Boccon-Gibod L, Le Duc A, Rouëssé J, Lidereau R. Genetic alterations in localized prostate cancer:

- Identification of a common region of deletion on chromosome arm 18q. *Genes Chromosomes Cancer*, 1994, 11: 119–125.
- 111.Latil A, Cussenot O, Fournier G, Driouch K, and Lidereau R. Loss of heterozygosity at chromosome 16q in prostate adenocarcinoma: Identification of three independent regions. *Cancer Res.* 1997, 57: 1058–1062.
- 112.Lee CT, Capodieci P, Osman I, Fazzari M, Ferrara J, Scher HI, Cordon-Cardo C. Overexpression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p16 is associated with tumor recurrence in human prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 1999; 5(5): 977-83.
- 113.Lee N, Newhouse JH, Olsson CA, [Benson MC](#), [Petrylak DP](#), [Schiff PB](#), [Bagiella E](#), [Malyszko B](#), [Ennis RD](#). Which patients with newly diagnosed prostate cancer need a computed tomography scan of the abdomen and pelvis. An analysis based on 588 patients. *Urology* 1999;(54):490-494.
- 114.Lee YS, Kim HK, Chung S, Kim KS, Dutta A. Depletion of human micro-RNA miR-125b reveals that it is critical for the proliferation of differentiated cells but not for the down-regulation of putative targets during differentiation. *J Biol Chem.* 2005; 280: 16635-16641
- 115.Lengyel P. Tumor suppressor genes: News about the interferon connection. *Proc Natl Acad Ser USA.* 1993; 90(13): 5893-5.
- 116.Leube B, Drechsler M, Mühlmann K, Schäfer R, Schulz WA, Santourlidis S, Anastasiadis A, Ackermann R, Visakorpi T, Müller W, Royer-Pokora B. Refined mapping of allele loss at chromosome 10q23-26 in prostate cancer. *Prostate.* 2002; 50(3): 135-44.
- 117.Liao WT, Song LB, Zhang HZ, Zhang X, Zhang L, Liu LW, Feng Y, Guo BH, Mai HQ, Cao SM, Li MZ, Quin HD, Zeng YX, Zeng MS. Centromere protein H is a novel prognostic marker for Nasopharyngeal carcinoma progression and overall patient survival. *Clin Cancer Res.* 2007; 13: 508-514.
- 118.Liao WT, Yu CP, Wu DH, Zhang L, Xu LH, Weng GX, Zeng MS, Song LB, Li LH. Upregulation of CENP-H in tongue cancer correlates with poor prognosis and progression. *J Exper& Clinical Cancer Res.* 2009; 28: 74.
- 119.Liao WT, Wang X, Xu LH, Kong QL, Yu CP, Li MZ, Shi L, Zeng MS, Song LS. Centromere protein H is a novel prognostic marker for human nonsmall cell lung cancer progression and overall patient survival. *Cancer.* 2009; 115(7):1507-1517.

- 120.Lin D, Cui F, Bu Q, Yan C. The expression and clinical significance of GTP-binding Ras-like 3 (ARHI) and microRNA 221 and 222 in prostate cancer. *J Inter Med Res.* 2011; 39: 51870-1875.
- 121.Lessbrant IF, Stattin P, Wikstrom P, Damber JE, Egeved L, Bergh A. Tumor associated macrophage in human prostate cancer: Relation to clinicopathological variables and survival. *Int J Oncol.* 2000; 17(3): 445-451.
- 122.Liu ST, Rattner JB, Jablonsky SA, Yen TJ. Mapping the assembly pathways that specify formation of the trilaminar kinetochore plates in human cells. *J Cell Biol.* 2006; 175(1): 41-53.
- 123.Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis relative gene expression data using real time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT Method. *Methods* 25. 2001; 402-408.
- 124.Lloyd MD, Darley DJ, Wierzbicki AS, Threadgill MD. α -methylacyl-CoA racemase an 'obscure' metabolic enzyme takes centre stage. *FEBS J.* 2008; 275(6): 1089-102.
- 125.Loeb S, Carter H B: Early Detection Diagnosis and Staging of Prostate Cancer In: Campell-Walsh Urology. Eds: Wein A J, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peter CA. WB Saunders Company 2011 10th edition Philadelphia p: 2763-2770
- 126.Lorenzo GD, Bianco R, Titora G, Ciardilla F. Involvement of growth factor receptor of the epidermal growth factor receptor family to androgen independence. *Clin Prost Cancer.* 2003; 2: 50-57.
- 127.Macossa JA, Trybus TM, Kojno KJ. 8p22 loss concurrent with 8 gain is associate with poor outcome in prostate cancer. *Urology.*2000; 55:776-782.
- 128.Macri E and Massimo L. Role of p27 in prostate carcinogenesis. *Cancer and Metas Rev.* 1999; 17(4): 337-344.
- 129.Magee JA, Araki T, Patil S, Ehrig T, True L, Humphrey PA, Catalona WJ, Watson MA, Milbrandt J. Expression profiling reveals hepsin overexpression in prostate cancer.*Cancer Res.* 2001; 61(15): 5692-5696.
- 130.Maney T, Hunter AW, Wagenbach M, Wordeman L. Mitotic centromere associated kinesin is importantfor anaphase chromosome segregation. *JCB.*1998; 142(3): 787-801.
- 131.Mani RS, Tomlins SA, Callahan K, Ghosh A, Nyati MK, Varambally S, Palanisamy N, Chinnaiyan AM. Induced chromosomal proximity and gene fusions in prostate cancer.*Science.* 2009; 326(5957):1230.

132. Marcelli M, Ittmann M, Mariani S, Sutherland R, Nigam R, Murthy L, Zhao Y, DiConcini D, Puxeddu E, Esen A, Eastham J, Weigel NL, Lamb DJ. Androgen receptor mutations in prostate cancer. *Cancer Res.* 2000; 60: 944-949.
133. McClland SE, Borusu S, Amaro AC, Winter JR, Belwal M, McAinsh AD, Meraldi P. CENP-A NAC/CAD kinetochore complex controls chromosome congression and spindle bipolarity. *The EMBO J.* 2007; 1-19.
134. McDonnell TJ, Troncoso P, Brisbay SM, Logothetis C, Chung LW, Hsieh JT, Tu SM, Campbell ML. Expression of the protooncogene bcl-2 in the prostate and its association with emergence of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res.* 1992; 52(24): 6940-6944.
135. McGranahan N, Burrell RA, Endesfelder D, Novelli MR, Swanton C. Cancer chromosomal instability: The therapeutic and diagnostic challenges. *EMBO Reports.* 2012; 13(6): 528-538.
136. McNeal JE. The zonal anatomy of the prostate: The prostate. 1981 (2): 35-39.
137. McNeal JE. Prostate In: *Histology for pathologist.* Ed: Sternberg, SS 1997 2nd edition. Philadelphia p: 997-1017.
138. Medina R, Zaidi SK, Liu CG, Stein JL, van Wijnen AJ, Croce CM, Stein GS. MicroRNAs 221 and 222 bypass quiescence and compromise cell survival. *Cancer Res.* 2008; 68(8): 2773-2780.
139. Meeker AK, Hicks JL, Platz EA, March GE, Bennett CJ, Delannoy MJ, De Marzo AM. Telomere shortening is an early somatic DNA alteration in human prostate carcinogenesis. *Cancer Res.* 2002; 62: 6405-6409.
140. Mercatelli N, Coppola V, Bonci D, Miele F, Costantini A, Guadagnoli M, Bonanno E, Muto G, Frajese GV, de Maria R, Spagnoli LG, Farace MG, Ciafrè SA. The inhibition of the highly expressed mir-221 and mir-222 impairs the growth of prostate carcinoma xenografts in mice. *PLoS One.* 2008;3:4029.
141. Metin A. Prostat kanseri tanısında transektal Ultrasonografi ve prostat iğne biopsisi. *Prostat.* Ed: Balbay D, Güneş Tıp Kitapevleri. 2008; 235-243.
142. Mikami Y, Hori T, Kimura H, Fukagawa T. The functional region of CENP-H interacts with the Nuf2 complex that localizes to centromeres during mitosis. *Mol. Cell. Biol.* 2005; 25(5): 1958-1970.
143. Mikuz G, Algaba F, Beltran ALP, Montironi R. Prostate carcinoma: atrophy or not atrophy that is a question. *Eur. Urol.* 2007; (52): 1923-1926.

144. Mitchell PS, Parkin RK, Krom EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agatjanyan EL, Peterson A, Noteboom J, O'Briant KC, Allen A, Lin DW, Urban N, Drescher DW, Knutsen BS, Stirewalt DR, Genfleman R, Vesella RL, Nelson PS, Martin DB, Tewari M. Circulating MicroRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008; 105: 10513-10518.
145. Mottet N, Bastian PJ, Belmont J, van den Bergh RCN, Bolla M, van Casteren NJ, Cornford P, Joniau S, Mason MD, Matveev M, van der Kwast TH, van der Poel T, Rouvière O, T. Wiegel. Guidelines on Prostate Cancer. European Association of Urology (EAU). 2014; 9-172.
146. Musacchio A, Salmon ED. The spindle-assembly checkpoint in space and time. *Nat Review Mol Cell Biol*. 2007; 8: 379-393.
147. Musacchio A, Ciliberto A. The spindle assembly checkpoint and the beauty of self destruction. *Nature Struct & Mol Biol*. 2012; 19: 1059-1061.
148. Myoshi Y, Uemura H, Fujinami K, Mikata K, Harada M, Kitamura H, Koizumi Y, Kubota Y. Fluorescence in situ hybridization evaluation of c-myc and androgen receptor gene amplification and chromosomal anomalies in prostate cancer in Japanese patients. *Prostate*. 2000; 43: 225-232.
149. Nagle RB, Brawer Mk, Kittelson V, Clark V. Phenotypic relationships of prostatic intraepithelial neoplasia to invasive prostatic carcinoma. *Am J. Pathol*. 1991; 138: 119-128.
150. Nakashima J, Tachibana M, Horiguchi Y, Oya M, Ohigashi T, Asakura H, Murai M. Serum Interleukin 6 as a prognostic factor in patients with prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2000; 6: 2702-2706.
151. Nakayama M, Bennett CJ, Hicks JL, Epstein JI, Platz EA, Nelson WG, De Marzo AM. Hypermethylation of the human Glutathione S-transferase- π gene (GSTP1) CpG island is present in a subset of proliferative inflammatory atrophy lesions but not in normal or hyperplastic epithelium of the prostate: A detailed study using laser-capture microdissection. *Am J Pathol*. 2003; 163(3): 923-933.
152. Netter FH. Atlas of human anatomy WB. Saunders Company 2006 4th edition Philadelphia USA p:305
153. Noordzij MA, Van Steenbrugge GJ, Verkaik NS, Schröder FH, Van Der TH. The prognostic value of CD44 isoforms in prostate cancer patients treated by radical prostatectomy. *Clin Cancer Res*. 1997; 3: 805-815.

154. Nuhoglu B. Prostat kanserinde moleküler genetik ve moleküler biyoloji. Üronkoloji. Ed: Dinçel Ç. Meta Basım Matbacılık. 2007: 5-15.
155. Nupponen NN, Kakkola L, Koivisto P, Visakorpi T. Genetic alterations in hormone refractory recurrent prostate carcinomas. *Am J Pathol.* 1998; 153(1): 141-156.
156. O'Conner C. Without centromeres, Cells cannot divide properly and the overall process of mitosis fails: Why are these small chromosomal regions so essential to such major cellular process? *Scitable*, 2008; (1): 28.
157. Oh WK, Hurwitz M, D'Amico AV. Neoplasm of the prostate. In: *Holland & Frei Cancer Medicine* Eds: Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR et al. BC Dexter Inc Hamilton 2003 6th edition. London. p:1707-1740.
158. Okada M, Cheeseman IM, Hori T, Okawa K, McLeod IX, Yates JR, Desai A, Fukagawa T. The CENP-H-I complex is required for the efficient incorporation of newly synthesized CENP-A into centromeres. *Nature Cell Biol.* 2006; 8: 446-457.
159. Okada M, Okawa K, Isobe T, Fukagawa T. CENP-H Containing complex facilitates centromere deposition of CNPA-A in cooperation with FACT and CHD1. *Molec Biol of the Cell.* 2009; 20(18): 3986-3995.
160. Ozen M and Pathak S. Genetical terations in human prostate cancer: A review of current literature. *Anticancer Res.* 2000; 20: 1905-1912.
161. Ozen M, Creighton CJ, Ozdemir M, Ittmann M. Widespread deregulation of microRNA expression in human prostate cancer. *Oncogene.* 2008; 27: 1788-1793.
162. Öztürk M, Karaman İ. Prostat kanserine giriş. *Prostat.* Ed: Balbay D. Güneş Tıp Kitapevleri, 2008; 199-208.
163. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics-2002: CA cancer. *J Clin.* 2005; (55): 74-108.
164. Payne DA. Applied educational assessment. Ed. Belmont CA. Wadsworth /Thomson Learning 2003.
165. Peng X, Guo W, Liu T, Wang X, Tu X, Xiong D, Chen S, Lai Y, Du H, Chen G, Liu G, Tang Y, Huang S, Zou X. Identification of mirs-143 and 145 that is associated with bone metastasis of prostate cancer and involved in the regulation of EMT. *PLoS One.* 2011; 6 e20341.
166. Porkka KP, Pfeiffer MD, Waltering KK, Vesella RL, Tammela TL, Visakorpi T. MicroRNA expression profiling in prostate cancer. *Cancer Res.* 2007; 67: 6130-6135.

167. Ribas J, Ni X, Haffner M, Wentzel EA, Salmasi AH, Chowdhury WH, Kudrolli TA, Yegnasubramanian S, Luo J, Rodriguez R, Mendell JT, Lupold SE. Mir-21 and androgen receptor regulated microRNA that promotes hormone: dependent and hormone independent prostate cancer growth. *Cancer Res.* 2009; 69(18): 7165-7169.
168. Rokman A, Ikonen T, Seppala EH, Nupponen N, Bailey-Wilson J, Trent V, Carpten J, Matikainen MP. Germline alterations of the RNASEL gene, a candidate HPC1 gene at 1925, in patients and families with prostate cancer. *AM J Hum Genet.* 2002; 70 (5): 1299-304.
169. Ross JS, Jennings TA, Nazeer T, Sheehan CE, Hugh A.G. Fisher, Kauffman RA, Anwar S, and Kallakury BVS. Prognostic factors in prostate cancer. *Am J. Clin Pathol.* 2003; (120): 85-100.
170. Saramäki OR, Tammela TL, Matikainen PM, Vessella RL, Visakorpi T. The gene for polycomb group protein enhancer of zeste homolog 2 (ezh2) is amplified in late-stage prostate cancer. *Genes Chromosomes Cancer.* 2006; 45(7): 639-645.
171. Saric T, Brkanac, Z, Troyer DA, Padalecki SS, Sarosdy M, Williams K, Abadesco L, Leach RJ and O'Connell P. Genetic pattern of prostate cancer progression. *Int. J. Cancer,* 1999. 81: 219–224.
172. Sato K, Qian J, Slezak JM, Lieber MM, Bostwick DG, Bergstralh EJ, Jenkins RB. Clinical significance of alterations of chromosome 8 in high-grade, advanced, nonmetastatic prostate carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 1999; 91(18): 1574-1580.
173. Schaffer DR and Scher HI. Prostate cancer: A dynamic illness with shifting targets. *Lancet.* 2003; 4: 407-414.
174. Schulz WA, Elo JP, Florl AR, Pennanen S, Santourlidis S, Engers R, Buchardt M, Seifert HH, Visakorpi T. Genome wide DNA hypomethylation is associated with alterations of chromosome 8 in prostate carcinoma. *Genes Chrom Cancer.* 2002; 35(1): 58-65.
175. Seligson DB, Horvath S, Shi T, Grunstein M, Kudistani SK. Global histone modification patterns predict risk of prostate cancer recurrence. *Nature.* 2005; 435(7046): 1262-6.
176. Shand RL, Gelmann EP. Molecular biology of prostate cancer pathogenesis. *Curr Opin Urol.* 2006; 16(3): 123-131.
177. Shen MM and Abate-Shen C. Molecular genetics of prostate cancer: New prospects for old challenges. *Gene Dev.* 2010; 24(18): 1967-2000.

178. Singal R, Ferdinand L, Reis IM, Schlesselman JJ. Methylation of multiple genes in prostate cancer and the relationship with clinicopathological features of disease. *Oncol Rep* 2004; 12:631-637.
179. Shigeishi H, Higashikawa K, Ono S, Mizuta K, Ninomiya Y, Yoneda S, Taki M, Kamata N. Increased expression of CENP-H gene in humoral oral squamous cell carcinoma harboring high-proliferative activity. *Oncology Reports*. 2006; 16: 1071-1075.
180. Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics-2014. *CA Cancer. J Clin*, 2014; (64): 9-29.
181. Sommerfeld HJ, Mecker AK, Piatyzek MA, Bova GS, Shay JW, Coffey DS. Telomerase activity: A prevalent marker of malignant human prostate tissue. *Cancer Res*. 1996; 56: 218-222.
182. Stamey TA, Caldwell M, Mc Neal JE, [Nolley R](#), [Hemenez M](#), [Downs J](#). The prostate specific antigen era in the United States is over for prostate cancer. What happened in the last 20 years? *J. Urol*. 2004; (172): 1294- 1301.
183. Steinberg GD, Epstein JI, Piantodosi S, Wals PC. Management of stage D1 adenocarcinoma of the Prostate: The John Hopkins experience 1974 to 1987. *J Urol* 1990;144(6): 1425-1432.
184. Stephan C, Yousef GM, Scorilas A, Jung K, Jung M, Kristiansen G, Hauptmann S, Kishi T, Nakamura T, Loening SA, Diamandis EP. Hepsin is highly over expressed in and a new candidate for a prognostic indicator in prostate cancer. *J Urol*. 2004; 171(1): 187-191.
185. Sugata N, Munekata E, Todokoro K. Characterization of a novel kinetochore protein, CENP-H. *Journal of Biol Chemistry*, 1999; 274: 27343-27346.
186. Sugata N, Li S, Earnshaw WC, Yen TJ, Yoka K, Masumoto H. Human CENP-H multimers colocalize with CENP-A and CENP-C at active centromere kinetochore complex. *Human Mol Genetics*. 2000; 9: 2919-2926.
187. Sun T, Wang Q, Balk S, Brown M, Lee GS, Kantoloff P. The role of microRNA-221 and microRNA-222 in androgen: Independent prostate cancer cell lines. *Cancer Res*, 2009; 69: 3356-3363.
188. Tahir SA, Ren C, Timme TL, Gdor Y, Hoogeveen R, Morrisett JD, Frolov A, Ayala G, Wheeler TM, Thompson TC. Development of an immunoassay for serum caveolin-1: a novel biomarker for prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2003; 9: 3653-3659.

189. Takahashi S, Kimoto N, Orita SI, Cui L, Sakakibara M, Shirai T. Relationship between CD44 expression and differentiation of human prostate adenocarcinomas. *Cancer Lett.* 1998; 129: 97-102.
190. Takahashi H, Lu W, Wartanabe M, Katah T, Furusato M, Tsukino H, Nakao H, Suda A. Ser217Leu polymorphism of the HPC2 / ELAC2 gene associated with prostatic cancer risk in Japanese men. *Int J Cancer* 2003; 107(2): 224-228.
191. Takahashi S, Shan AL, Ritland SR, Delacey KA, Bostwick DG, Lieber MM, Thibodeau SN, and Jenkins RB. Frequent loss of heterozygosity at 7q31.1 in primary prostate cancer is associated with tumor aggressiveness and progression. *Cancer Res.* 1995. 55: 4114–4119.
192. Takeuchi K, Fukagawa T. Molecular architecture of vertebrate kinetochores. *Exper Cell Res.* 2012; 318(12): 1367-1374.
193. Tamimi Y, Bringuier PP, Smit F, van Bokhoven A, Debruyne FM, Schalken JA. p16 mutations/deletions are not frequent events in prostate cancer. *Br J Cancer*, 1996; 74(1): 120-122.
194. Tanaka TU and Desai A. Kinetochores microtubule interactions: the mean to end. 2008; 20(1): 53–63.
195. Tavtigian SV, Simard J, Teng DH, Abtin V, Baumgard M, Beck A, Camp NV, Carillo AR. A candidate prostate cancer susceptibility gene at chromosome 17p. *Nat Genet.* 2001; 27(2): 172-180.
196. Tefekli AH. Prostat kanserinde yeni belirteçler ve Phi skoru. *Türk Ürol. Seminer.* 2012; (3): 61-69.
197. Tilley WD, Wilson CM, Marcelli M, McPhaul MJ. Androgen receptor gene expression in human prostate carcinoma cell lines. *Cancer Res.* 1990; 50: 5382-5386.
198. Thompson TC. Metastasis-related genes in prostate cancer: The role of caveolin-1. *Cancer Metast Rev.* 1998; 17: 439-442.
199. Tomas D, Kruslin B, Rogatsch H, Schäfer G, Belicza M, Mikuz G. Different types of atrophy in the prostate with and without adenocarcinoma. *Eur Urol.* 2007;(51): 98-104.
200. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, Dhanasekaran SM, Mehra R, Sun XW, Varambally S, Cao X, Tchinda J, Kuefer R, Lee C, Montie JE, Shah RB, Pienta KJ, Rubin MA, Chinnaiyan AM. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science.* 2005; 310: 644-648.

201. Tomonaga T, Matsushita K, Yamaguchi S, Oohashi T, Shimada H, Ochiai T, Shimada H, Ochiai T, Yoda K, Nomura F. Overexpression and mistargeting of centromere protein A in human primary colorectal cancer. *Cancer Res.* 2003; 63: 3511-3516.
202. Tomanaga T, Matsushita K, Ishibashi M, Nezu M, Shimada H, Ochiai T, Yoda K, Nomura F. Centromere protein H is up-regulated in primary human colorectal cancer and Its overexpression induces aneuploidy. 2005; 65(11): 4683-4689.
203. Tooley JG, Miller SA, Stukenberg PT. The Ndc80 complex uses a tripartite attachment point to couple microtubule depolymerization to chromosome movement. *Mol Biol Cell.* 2011; 22(8): 1217-1226.
204. Tricoli JV, Gumerlock PH, Yao JL, Chi SG, D'Souza SA, Nestok BR, deVere White RW. Alterations of the retinoblastoma gene in human prostate adenocarcinoma. *Genes Chromosomes Cancer.* 1996; 15(2): 108-114.
205. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Kanser Daire Başkanlığı. 2009 Kanser İnsidansları, Türkiye Kanser İstatistikleri, 2009.
206. Umbas R, Isaacs WB, Bringuier PP, Schaafsma HE, Karthaus HFM, Oosterhof GON, Debruyne FMJ, Schalken JA. Decreased e-cadherin expression is associated with poor prognosis in patients with prostate cancer. *Cancer Res.* 1994; 54: 3929-3933.
207. Van Hooser AA, OuspenskiI, Gregson HC, Starr DA, Yen TJ, Goldberg ML, Yokomori K, Earshaw WC, Sullivan KF, Brinkley BR. Pecification of kinetochore forming chromatin by the histone H3 variant CENP-A. *J Cell Sci.* 2001; 114: 3529-3542.
208. Van Veldhuizen PJ, Sadasivan R, Cherian R, Wyatt A. Urokinase- type plasminogen activator expression in human prostate carcinomas. *Am J Med Sci.* 1996; 312(1): 8-11.
209. Varambally S, Dhanasekaran SM, Zhou M, Barrette TR, Kumar-Sinha C, Sanda MG, Ghosh D, Pienta KJ, Sewalt RG, Otte AP, Rubin MA, Chinnaiyan AM. The polycomb group protein ezh2 is involved in progression of prostate cancer. *Nature.* 2002; 419(6907): 624-629.
210. Vaux DL, Cory S, Adams JM. Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature,* 1988; 335(6189): 440-442.

211. Vecchione A, Gottardo F, Gomella LG. Molecular genetics of prostate cancer: Clinical translational opportunities. *J Exp Clin Cancer Res.* 2007; 26: 25-37.
212. Ven-Dekken H, Alers JC, Damen IA, Vissers KJ, Krijtenburg PJ, Hoedemaeker RF, Wildhagen MF, Hop WC, van der Kwast TH, Tanke HJ, Schröder FH. Genetic evaluation of localized prostate cancer in a cohort of forty patients: gain of distal 8q discriminates between progressors and nonprogressors. *Lab Invest.* 2003; 83: 786-796.
213. Verma RS, Manical M, Conte RA, Godec CJ. Chromosomal basis of adenocarcinoma of the prostate. *Cancer Invest.* 1999; 17: 441-447.
214. Vestergaard EM, Nexø E, Ttring N, Borre M, Omtoft TF, Sorensen KD. Promoter hypomethylation and upregulation of trefoil factors in prostate cancer. *Int J Cancer.* 2010; 127: 1857-65.
215. Wan X, O'Quinn RP, Pierce HL, Joglekar AP, Gall WE, DeLuca JG, Carroll CW, Liu ST, Yen TM, McEwen BF, Stukenberg PT, Desai A, Salmon ED. Protein architecture of the human kinetochore microtubule attachment site. *Cell.* 2009; 137(4): 672-684.
216. Wang Q, Li W, Zhang Y, Yuan X, Xu K, Yu J, Chen Z, Beroukhim R, Wang H, Lupien M, Wu T, Regan MM, Meyer CA, Carroll JS, Manrai AK, Jänne OA, Balk SP, Mehra R, Han B, Chinnaiyan AM, Rubin MA, True L, Fiorentino M, Fiore C, Loda M, Kantoff PW, Liu XS, Brown M. Androgen receptor regulates a distinct transcription program in androgen-independent prostate cancer. *Cell.* 2009 ; 138(2): 245-256.
217. Warburton PE, Cooke CA, Bourassa S, Vafa O, Sullivan BA, Stetten G, Gimelli G, Warburton D, Tyler-Smith C, Sullivan KF, Poirier GG, Earnshaw VC. Immunolocalization of CENP-A suggests a distinct nucleosome structure at the inner kinetochore plate of active centromeres. *Cell.* 1997; 7(11): 901-904.
218. Weaver BAA, Silk AD, Montagna C, Verdiner-Pinard P, Cleveland DW. Aneuploidy acts both oncogenically and as a tumor suppressor. *Cancer Cell.* 2007; 11: 25-36.
219. Westermann S, Schleiffer A. Family matters: Structural and functional conservation of centromere associated proteins from yeast to humans. *Trends Cell Biol.* 2013; 23(6): 260-269.
220. Westhorpe FG and Straight AF. Functions of the centromere and kinetochore in chromosome segregation. *Curr Opin Cell Biol.* 2013; 25(3): 334-340.

221. Xu J, Zheng SL, Komiva A, Mvchalecky JC, Isaacs SD, Chang B, Turner AR, Ewing JM. Germline mutations and sequence variants of the macrophage scavenger receptor 1 gene are associated with prostate cancer risk. *Nat Genet.* 2002; 32(2): 321-5.
222. Xu J, Zheng SL, Komiva A, Mvchalecky JC, Isaacs SD, Chang B, Turner AR, Ewing JM. Common sequence variants of the macrophage scavenger receptor 1 gene are associated with prostate cancer risk. *Am J Hum Genet.* 2003; 72(1): 208-212.
223. Yamane K, Toumazou C, Tsukada Y, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Wong J, Zhang Y. JHDM2A, a JMJC-containing H3K9 demethylase, facilitates transcription activation by androgen receptor. *Cell.* 2006; 125: 483-495.
224. Yang G, Truong LD, Timme TL, Ren C, Wheeler TM, Park SH, Nasu Y, Bangma CH, Kattan MW, Scardino PT, Thompson TC. Elevated expression of caveolin is associated with prostate and breast cancer. *Clin Cancer Res* 1998; 4: 1873-1880.
225. Yang G, Truong LD, Wheeler TM, Thompson TC. Caveolin-1 expression in clinically confined human prostate cancer a novel prognostic marker. *Cancer Res.* 1999; 59: 5719-572.
226. Yuen K W Y, Monpetit B, Hieter P. The kinetochore and cancer: What's the connection? *Curr Opin Cell Biol.* 2005; 17: 576-582.
227. Yücel AH. Erkek genital sistemi: Sistemik anatomi. Ed: Gökmen FG. İzmir Güven Kitapevi. 2003; 14: 548-564.
228. Zhang W, Kapusta LR, Slingerland JM, Klotz LH. Telomerase activity in prostate cancer, prostatic intraepithelial neoplasia and benign prostatic epithelium. *Cancer Res.* 1998; 58: 619-621.
229. Zhigang Z, Wenlv S. Prostate stem cell antigen (PSCA) expression in human prostate cancer tissues: Implications for prostate cancer. *Jpn J Clin Oncol.* 2004; 34(7): 414-419.
230. Zenklusen JC, Thompson JC, Troncoso P, Kagan J, Conti CJ. Loss of heterozygosity in human primary prostate carcinomas: A possible tumor suppressor gene at 7q31.1. *Cancer Res.* 1994, 54: 6370-6373.

7. EKLER

EK-1 Etik Kurul Onayı

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR DEĞERLENDİRME
KOMİSYON KARARI

Toplantı Sayısı:04

Toplantı Tarihi: 30.06.2010

Karar Sayısı:2010/091: Fakültemiz Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr. Hatice Gül DURSUN'un "Prostat Kanselerinde Sentromer H Proteinin Ekspresyonunun Değerlendirilmesi" başlıklı doktora tez çalışması ile ilgili 25.06.2010 tarihli dilekçesi ve ekleri görüşüldü, çalışmanın Fakültemiz Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr. Hatice Gül DURSUN'un sorumluluğunda yürütülmesinin uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
30.06.2010
ŞAZEN BİLGİN
Fakülte Sekreteri