

**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**PROSTAT KANSERİNDE EPİGENETİK KALITIMIN
YERİ VE ÖNEMİ**

**Dr. Davran KILINÇ
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI:
Prof. Dr. E.Yener GÜLTEKİN**

**SİVAS
2009**

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
DEKANLIĞI'NA

Bu çalışma, jürimiz tarafından Üroloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan :

Üye :

Üye :

Üye :

Üye :

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

...../...../2009

DEKAN

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulunun 12.03.2002 tarih ve 2002/1 sayılı kararı ve Cumhuriyet Üniversitesi Rektörlüğünün 28.03.2002 tarih ve 463 sayılı yazısı ile uygun görülen Tez Yazma Klavuzuna göre hazırlanmıştır.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

TEŞEKKÜR.....	vii
ÖZET	viii
İNGİLİZCE ÖZET.....	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	x
TABLolar ve ŞEKİLLER.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. PROSTAT	2
2.1.1. Anatomi	2
2.1.2.Embriyoloji.....	4
2.1.3.Histoloji.....	4
2.2. PROSTAT KANSERİ.....	5
2.2.1. İnsidansı ve Epidemiyoloji.....	5
2.2.2. Risk Faktörleri.....	5
2.2.3. Klinik Özellikleri ve Tanı	6
2.2.4. Patolojik Özellikleri	8
2.2.5. Prostat Adenokarsinomunda Evreleme ve Derecelendirme.....	9
2.2.6. Prognostik Faktörler, Onkogenler ve Tümör Supresör Genler... 15	
3.HÜCRE DÖNGÜSÜ.....	19
4.APOPTOZİS.....	21
5. EPİGENETİK HAKKINDA GENEL BİLGİ	22
5.1. EPİGENETİK MEKANİZMALARI.....	23
5.1.1. DNA Metilasyonu.....	23
5.1.2. Histon odifikasyonları.....	23
5.1.3. RNA ile indüklenen sessizleşme.....	24
5.2.TEDAVİ YAKLAŞIMLARI.....	24

GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
BULGULAR.....	26
TARTIŞMA.....	30
SONUÇLAR.....	34
KAYNAKLAR.....	35

TEŞEKKÜR

Eđitim sürem boyunca engin bilgi, görgü ve tecrübeleri ile bana önderlik ederek bilimsel ufkumu genişleten, bu çalışmayı gerçekleştirebilecek düzeye gelmemi sağlayan uzmanlık eğitimim süresince her konuda desteğini sürekli yanımda hissettiğimiz, asistanı olmaktan gurur duyduğum hocalarım Prof. Dr. E. Yener GÜLTEKİN'e, Prof. Dr. Semih AYAN'a ve Doç. Dr. Gökhan GÖKÇE'ye asistanlığım boyunca sorumluluğu ve pekçok bilgiyi paylaştığım değerli asistan arkadaşlarıma, çalışma ortamını dostlukları ile aile ortamına çeviren, servis, poliklinik ve ameliyathanede bir ekip oluşturduğumuz hemşire, sekreter, teknisyen ve personel arkadaşlara, bu tezin oluşumunda önemli rolleri olan hastanemiz Genetik A.D. ve Biyoistatistik A.D.'daki hocalarım ve çalışma arkadaşlarıma tezimin hazırlığındaki bütün aşamalarda yardımcı olan değerli hocam ve tez danışmanım Prof.Dr. E. Yener GÜLTEKİN'e ve hayat boyu desteklerini hiç esirgemeyen sevgili eşime ve aileme, sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

ÖZET

Bu çalışmada, prostat kanserinde epigenetik kalıtımın yeri ve önemi, tümör supresör genlerinden SFPR2, P16, DAPK1, HIC1 ve MGMT'nin metilasyon durumlarına göre epigenetik profillerine bakılarak prospektif olarak incelendi.

Çalışmaya Ocak 2008 – Aralık 2008 tarihleri arasında TUR(P) ve radikal prostatektomi yapılan ve prostat kanser tanısı konulan 30 hasta dahil edildi. Prostat kanseri tanısı alan hastaların doku örneklerinden daha sonra incelenmek üzere DNA bankası oluşturuldu. Hasta örneklerinin öncelikle total genomik DNA analizleri yapıldı, multipleks temelli PCR ve bisüfit metil modifikasyon yöntem ile de hedef genler analiz edildi.

30 hastada SFPR2, P16, DAPK1, HIC1 ve MGMT'nin metilasyon durumlarına göre epigenetik profilleri gleason skorundan bağımsız olarak incelendiğinde; genler için fullmetilasyon durumları sırasıyla 12(%40), 1(%3.4), 9(%30), 21(%70) ve 3(%10) olarak bulundu. Bu genlerden sadece HIC1'de hipermetilasyon oranı istatistiksel olarak anlamlı idi.

Gleason skorlarına göre hastalar düşük ve yüksek dereceli olarak gruplandırıldı. Bu gruplarda çalışılan tümör supresör genlerinin metilasyon durumları incelendi. Gleason skorlamasına göre ayrılan düşük dereceli ve yüksek dereceli prostat adenokarsinomu olan 29 hastada, gleason skoru yüksek olanlarda SFPR2'de metilasyon, P16'da ise unmetilasyon istatistiksel olarak anlamlı idi. MGMT farkı ise anlamsızdı. DAPK1 ve HIC1 de metilasyon oranı yüksek olmasına rağmen istatistiksel analiz yapılamadı.

Sonuç olarak epigenetik kalıtımın öneminin fark edilmesi ve bu kalıtımda görevli genler üzerinde yapılacak daha geniş çalışmalar ile metilasyonların erken dönemde saptanması, prostat kanserinin tanı ve tedavisinin planlanmasında prognostik faktör olarak rol oynayabilir. Metilasyon ile kanser patogenizi arasındaki bu ilişkinin açığa çıkarılması için ileri ve daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Prostat kanseri, DAPK1, HIC1, P16, SFPR2, MGMT, Epigenetik

The role and importance of epigenetic heredity in prostate cancer

SUMMARY

This prospective study was performed to detect the importance of epigenetic heredity in prostate cancer via investigating the methylation profiles of tumor suppressor gene SFPR2, P16, DAPK1, HIC1, and the MGMT gene.

Thirty patients underwent TUR (P) and the radical prostatectomy and diagnosed as prostate cancer were included into the study between January 2008 and December 2008. Total genomic DNA analysis of the samples were done and targeted genes were analysed with multiplex based PCR ve bisulphit methyl modification.

In 30 patients, without regarding the gleason scores fullmethylation rates of tumor suppressor genes; SFPR2, P16, DAPK1, HIC1, and MGMT were as follows; 12 (40%), 1 (% 3.4), 9 (30%), 21 (70%) and 3 (10%) respectively. Only HIC1 hypermethylation rate of these genes was statistically significant.

According to gleason scores, the patients were divided into low and high grade groups. In high grade group, methylation for SFPR2 and unmetihylation for P16 were statistically significant. The difference in MGMT was not meaningful. Although DAPK1 and HIC1, methylation were higher in high grade group statistical analysis could not be done.

In conclusion, awareness of hereditary epigenetics which need to be clarified with larger studies may play a prognostic role in early recognition of prostate cancer and treatment.

Key Words: Prostate cancer, DAPK1, HIC1, P16, SFPR2, MGMT, Epigenetics

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

BPH	Benign Prostat Hiperplazisi
EAU	Avrupa Üroloji Birliđi
EGF	Epidermal büyüme faktörü
EPE	Prostat dışı yayılım
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
HAM	Hücre Adezyon Molekülleri
IGF-I	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
LNI	Lenf nodu invazyonu
PCPT	Prostat Kanseri Önleme Çalışması
PIN	Prostat İntraepitelyal Neoplazi
PKa	Prostat Kanseri
PRM	Parmakla Rektal Muayene
PSA	Prostat spesifik antijen
PSAP	Prostat Spesifik Asit Fosfataz
PSMA	Prostat Spesifik Membran Antijeni
TUR(P)	Transüretral Prostat Rezeksiyonu
TRUS	TransRektal Ultrasonografi
USG	Ultrasonografi
VSİ	Vesiküla seminalis invazyonu
DNA	Deoksiribonükleik asit
SFRP2	Secreted frizzled-related protein 2
CDKN2A	Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A
DAPK1	Death-associated protein kinase 1
HIC1	Hypermethylated in cancer 1
MGMT	O ⁶ -methylguanine-DNA methyltransferase
GSTP 1	Glutathione S-transferase pi
APC	Adenomatosis poliposis koli
RAR β_2	Retinoik asit reseptör- β_2
N33	Tumor Suppressor Candidate 3
CRBP1	Retinol Binding Protein 1, cellular
RASSF1A	Ras-Association (RalGDS/AF-6) domain family member 1A

MMTV	Mouse mammary tumor virus
P14/ARF	P14/ alternate reading frame
CDH1	Catherin 1, Type 1, E-Catherin (Epitelial)
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu

TABLolar VE ŞEKİLLER

	Sayfa
Tablo 1. Prostat Kanseri 2002 TNM Evrelemesi	11
Tablo 2. Prostat Kanseri Patolojik Evreleme	12
Tablo 3. Gleason Derecelendirme Sistemi	13
Şekil 1. Gleason derecelendirme sisteminin őeması	14
Tablo 4: Hastaların Gleason Skoruna G6re Dağılımları	26
Tablo 5: T6m6r S6pres6r Genlerin Epigenetik Profili	27
Tablo 6: Gleason Skorlamasına G6re T6m6r S6press6r Genlerin Metilasyon Profili	29

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Prostat kanseri (PKa) erkeklerde en sık görülen malign tümördür. Metastaz potansiyelinin yüksek olması nedeniyle erkeklerde akciğer kanserinden sonra ikinci sıklıkta morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. Prostat kanseri sık rastlanılan bir tümör olmasına rağmen karsinogenezin moleküler temelleri konusunda çok az bilgi elde edilebilmiştir. Genellikle yavaş büyüyen ve geç bulgu veren bir tümördür. Heterojen bir yapıya sahip olması nedeniyle tümörün seyri oldukça değişkendir. Otopsi serilerinde 80-89 yaş arasındaki kişilerde %71 oranında prostat karsinomu belirlenmektedir(1-3).

Son yıllarda tümörlerin çoğu tarama programları çerçevesinde insidental olarak belirlenmekte ve bu tümörlerin malignite potansiyeli kesin olarak bilinmemektedir. Bu vakalarda gereksiz tedavileri önlemek ve bazen çok agresif seyredabilen tümörleri ayırabilmek için yeni metodlara ihtiyaç duyulmaktadır. Halen prostat kanserinin değerlendirilmesi ve taramasında PSA ile PRM kullanılmaktadır. Fakat bu belirleyicilerin sensitivitesi ve spesifisitesi düşüktür. Prostat kanserinin prognozunu değerlendirmede kullanılan mevcut metodlar; Klinik evreleme, nomogramlar (Kattan, Partin vs.), histopatolojik değerlendirme ve hücre kinetik çalışmalarıdır. Hücre proliferasyon hızının ölçülmesi, tümör fenotipi hakkında prognostik bilgi sağlar. DNA metilasyon profilindeki değişiklikler kanserin tanısında, yatkınlığın saptanmasında, kemoterapötik ajanlara verilen cevabın ve yan etkilerin önceden belirlenmesinde belirleyici olarak kullanılabilir(4-7).

Bu çalışmada, prostat kanserinde epigenetik kalıtımın yeri ve önemi, tümör supresör genlerinden SFPR2, P16, DAPK1, HIC1 ve MGMT'nin metilasyon durumlarına göre epigenetik profillerine bakılarak prospektif olarak incelendi.

2. GENEL BİLGİ

2.1 PROSTAT

2.1.1 Prostat Anatomisi

Erkek genital sisteminin en büyük aksesuar bezi olan prostat, mesane boynu ile ürogenital diyafram arasında, gerçek pelviste yer alır. Pubis simfizisin alt sınırının arkasında ve rektumun önünde bulunur Prostat bezi, tabanı proksimalde mesane boynu ve veziküla seminalis giriş noktalarında, apeksi distalde ürogenital diyaframda olan ters çevrilmiş koniye benzeyen, prostatik üretrayı çevreleyen fibromusküler glandüler bir organdır(3,8-10). 20 yaşındaki erkekte, transvers çapı tabanda 4,5 cm, vertikal çapı 3,5-4 cm, anteroposterior çapı 3 cm olan prostat bezi, ortalama 20 gr ağırlığındadır Prostatik üretra, bezin merkezinde vertikal olarak ilerlerken, verumontanum seviyesinde öne doğru yaklaşık 35°lik açılanma oluşturur. Denonviller fasyası olarak bilinen ince bağ dokusu tabakası, posteriorda prostat ve veziküla seminalisleri rektumdan ayırır(1,3,11).

Prostat kanlanmasını başlıca arteria vezikalis inferior, rectalis media ve arteria pudenda interna'dan sağlar. Prostat venleri presakral vertebral pleksuslarla (Batson venleri) anastomoz yaparlar. Bu yapı prostat kanserinin erken vertebral yayılımını açıklar. Son olarak internal iliak venlere drene olurlar. Lenfatikleri ise bezin çevresinde pleksus oluşturarak internal iliak lenf düğümlerine boşalır. Prostatın sinirleri, inferior hipogastrik pleksustan gelmektedir(8,10,12).

Zonal Anatomi

Orta hattın palpasyonuna dayanarak, sağ ve sol lobdan söz edilse de, prostat dokusu teorik olarak, iç ve dış zonlara ayrılmaktadır. Genelde iç zon benign prostat hiperplazisinin (BPH), dış zon ise karsinomun geliştiği anatomik bölgelerdir(1,3,10). Ancak bazı karsinomlar iç zonda yerleşebileceği gibi, BPH nodülleri de dış zonda bulunabilir(13). Prostat dokusu, en çok kabul gören McNeal'in anatomik modelinde, prostatik üretra ile olan ilişkisine göre, dört farklı bölgeye ayrılır. Anterior veya ventral fibromusküler bölge; glandin ventral yüzeyinde yer alır ve nonglandüler bölümü oluşturur, santral zon, periferik zon ve preprostatik bölge ise glandüler bölümü oluşturur(1,8,11,14).

A- Glandüler Prostat Dokusu

a) Santral zon: Glandüler prostat dokusunun yaklaşık %25'ini oluşturur. Apeksi verumontanumda, tabanı mesane boynunda, ters bir koni şeklinde, ejakülatuar duktusları sarar ve lateral köşesi, proksimal periferal zon köşesi ile birleşir. Santral zon duktusları, verumontanumda ejakülatuar duktus ağzlarının yanına açılır(8,14,15). Santral zon histolojisinin önemi, buradaki duktusların yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi (PİN)'yi taklit edecek şekilde psödostratifikasyon göstermesi ve kribriiform yapı içermesidir.

b) Periferik zon: Glandüler prostat dokusunun %70'ini oluşturur. Prostat bezinin bazal kısmında, santral ve transizyonel zonu çevreleyerek, distalde posterior, posterolateral ve lateral yönde uzanır ve distal prostatik üretrayı sarar. Periferik zon asinusleri küçük ve yuvarlaktır. Hücreleri düzenlidir ve stroması gevşektir(15). Periferik zon, prostat dokusunu çevreden sınırlar. İnflamasyon, karsinom ve PİN'in en sık görüldüğü bölgedir ve karsinomların %70-75'i bu bölgeden köken alır(8,11,14).

c) Preprostatik bölge: Periüretral duktusları ve transizyonel zonu içerir. Normal glandüler prostat dokusunun yaklaşık %5'ini oluşturur. Transizyonel zon, proksimal prostatik üretra etrafında yerleşir(8,11,14). Transizyonel zon, BPH'de en çok tutulan bölgedir. Prostat karsinomlarının yaklaşık %15-20'si transizyonel zondan köken alır(16).

B- Nonglandüler Prostat Dokusu: Tüm prostat dokusunun 1/3'ünü oluşturan en geniş parçasıdır. Preprostatik sfinkter, çizgili sfinkter, anterior fibromusküler stroma ve prostat kapsülünden oluşur(8,11).

a) Proksimal (preprostatik) sfinkter: Proksimal üretra segmenti etrafında, düz kas liflerinden oluşan, manşon tarzında yapıdır. Ejakülasyon sırasında proksimal segmentin kapanmasını sağlayarak, seminal sıvının retrograd akışını önler. Ayrıca istirahat tonisitesi ile de proksimal üretral segmentin kapanmasını sağlar(8,11,12).

b) Çizgili sfinkter: Verumontanum ve prostat apeksi arasında bulunur. Prostat apeksinin altında eksternal üretral sfinkter ile devam eder(8,11).

c) Anterior fibromusküler stroma: Prostatın anteromedial yüzeyinde yer alır. Mesane boynundan aşağıya doğru genişleyerek ilerleyen doku, prostat apeksinde

daralarak üretra ile birleşir. Yoğun fibröz doku ve düz kas liflerinden oluşmuştur, çok az bez yapısı içerir.

d) Prostat kapsülü: Fibromusküler stromanın periferde yoğunlaşmasından oluşur ve prostatın eksternal yüzeyinin çoğunu çevreler. Prostatın posterior ve lateral yüzeylerini saran kapsül, ön tarafta anterior fibromusküler stroma ile devam eder. Santral ve periferik zonlardaki terminal asinuslar kapsüle ulaşırken, transizyonel bölgenin terminal asinusları, anterior fibromusküler stromaya ulaşır. Prostatın apeksinde, anterolateral bölgede, kapsül ortadan kalkar ve bezler, eksternal sfinkterinkiler de dahil olmak üzere çizgili kaslarla iç içe uzanır. Mesane boynunda da kapsül bulunmaz ve stroma mesane boynu düz kas lifleriyle iç içe geçer(11).

2.1.2 Prostat Embriyolojisi

Prostatik üretra epiteli, ürogenital sinüs endoderminden köken alır. Embriyonel gelişimin üçüncü ayında prolifer olmaya başlayarak çevresindeki mezanşimal doku içine penetre olan bazı tomurcuklanmalar gösterir. Prostatın glandüler bez epiteli bu endodermal hücre tomurcuklarından gelişirken, epitel hücreleriyle ilişkili mezenşimden ise, organın stroması ve düz kasları meydana gelmektedir(17,18). Üretral orta noktada, verumontanum seviyesinde prostata açılan ejakülatuar duktuslar ve etrafındaki mezankim dokusu, Wolff kanalı (mezonefrik kanal) kökenlidir. Bu nedenle prostat çift embriyonik kökenlidir(11). Neonatal dönemde çapı 1 cm'den az olan prostat, puberteye kadar gelişerek 2 cm'den küçük çapa ulaşır. Puberteden sonra prostatın matürasyonu hızlanır. 20 yaşında erişkin halini alır(11).

2.1.3 Prostat Histolojisi

Prostat epitelyal ve stromal hücrelerden oluşur. Epitelyal hücreler, prostatik üretraya açılan duktuslardan başlayıp, asinuslarda sonlanan bez yapılarını oluştururlar. Prostat duktus ve asinusu arasındaki ayırım, primer olarak küçük büyütmedeki yapısal özelliklere dayanılarak yapılır. Duktuslar, dallanma gösteren, uzun tübüler yapılar şeklinde izlenirken; asinuslar, lobüler üniteler halinde gruplanma gösteren, yuvarlak bez yapılarından oluşur. Enine kesitlerde duktuslar

asinuslardan ayırt edilemez. Glandüler prostat epiteli; sekretuar, bazal ve nöroendokrin hücrelerden oluşur(16,19,).

2.2. PROSTAT KANSERİ

2.2.1 Prostat Kanserinin İnsidansı Ve Epidemiyolojisi

Prostat kanseri; Avrupa, Kuzey Amerika ve Afrika'nın bazı bölgelerinde erkeklerde görülen en yaygın kanserdir ve kansere bağlı ölümlerin ikinci en sık nedenidir. Prostat kanseri, erkeklerdeki tüm kanserlerin %9.7'sini oluşturmaktadır. Ülkemizdeki insidansı ile ilgili net veriler mevcut değildir. ABD'de prostat kanseri insidansı yıllık olarak; 1975-1985 yılları arasında %2,3, 1985-1989 yılları arasında %6, 1989-1992 yılları arasında %18,4 artış gösterirken; 1992-1995 yılları arasında ise %14 azalma göstermiştir(20-22).

2.2.2 Risk Faktörleri

Yaş: Prostat kanseri ileri yaş erkeklerin hastalığı olup, yeni tanı konmuş hastaların %75'inden fazlası 65 yaşın üstündedir(1,2,23). 85 yaşında, prostat kanseri riski tüm dünyada %0.5-20 arasında değişir. Otopsi çalışmaları sonuçlarına göre; 30 yaşındaki erkeklerin % 30'u, 50 yaşındaki erkeklerin %50'si ve 85 yaş üstündeki erkeklerin büyük çoğunluğunda histolojik (latent) prostat kanseri saptanmıştır. 50 yaşından küçük erkeklerde prostat kanseri teşhisi % 0,1'in altındadır(20).

Coğrafi Özellikler: Prostat kanseri insidansı etnik populasyonlar ve ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Asyada, özellikle Çinlilerde ve Japonlarda (yıllık olarak 1.9/100.000) düşük oranda saptanırken; Kuzey Amerika ve İskandinav ülkelerinde yüksek orandadır (yıllık olarak 137/100.000) (1, 3, 20).

İrk: Siyah ırkta görülme oranı beyazlara göre yaklaşık bir buçuk kez daha fazladır(1,2).

Hormonal Faktörler: Prostat kanserinin gelişimi ve ilerlemesi androjenlerden etkilenir. Medikal veya cerrahi kastrasyon ile testosteronun kesilmesi sonucu tümör geriler(1,2,20). İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I), tümör hücrelerinin proliferasyon, diferansiyasyon ve apoptozisini düzenler. Prostat kanseri riski, yüksek plazma IGF-I düzeyi ile doğru orantılıdır(20,23).

Diyet: Latent veya histolojik prostat kanserinin, klinik kansere dönüşümünde diyetin rol oynayabileceğine dair kanıtlar mevcuttur. Kırmızı etin fazla tüketimi prostat kanseri ile ilişkilidir. Soya yüksek oranda fitoöstrojen içerir ve prostat kanseri riskini azaltır. Domates bazlı ürünlerin sık alımı da prostat kanseri riskini azaltır. Selenyum tümör oluşumunu; antioksidan etki, immün sistemin uyarılması, apoptozun indüklenmesi ve testesteron oluşumunu inhibe etmesiyle engeller. Bir çalışmada vitamin E (α -tokoferol) alan hasta grubunda, almayanlara göre prostat kanser insidansı ve mortalitesinde azalma saptanmıştır (1,20,23).

2.2.3 Klinik Özellikler ve Tanı

Prostat kanseri erken dönemde nadiren semptom oluşturur. Mikroskopik kanserler asemptomatiktir. Otopsilerde veya BPH gibi nedenlerle çıkarılan prostat dokusunda tesadüfen tesbit edilirler. Lezyon, rektal muayenede şüpheli nodül veya yükselmiş serum PSA düzeyi ile tespit edilir. Klinik olarak ilerlemiş prostat kanserli hastalarda; idrar yapmada zorluk, yanma, sık idrara çıkma ve hematüri gibi üriner semptomlar görülebilir. Dikkatli dijital rektal muayene ile bazı posterior lokalizasyonlu prostat kanserleri erken tespit edilebilmekle birlikte, sensivite ve spesifitesi düşüktür. Transrektal ultrasonun (TRUS) prostat kanser tanısındaki esas rolü; diagnostik kullanımından ziyade biyopsi alımında yol gösterici olmasıdır. TRUS, 5 mm'ye kadar olan hipoekoik prostat tümörlerini saptayabilmesine rağmen, izoekoik olanların %30 kadarını tespit edememektedir. Kesin tanı için transperineal veya transrektal biyopsi gereklidir. Bilgisayarlı tomografi ve magnetik rezonans görüntüleme ile lenf nodundaki mikroskopik metastazlar tespit edilemediği için birçok merkez evreleme için pelvik lenfadenektomiye kullanır(1-2). PSA, prostat kanserinin tarama, tanı ve takibinde yaygın olarak kullanılan bir tümör belirleyicisidir(24). PSA, hem normal hem de tümöral prostatik epitel tarafından üretilmektedir. PSA prostatik asinusların içine yüksek yoğunlukta salgılanır ve oradan seminal sıvıya geçip, seminal sekresyonların akışkan durumda kalmasını sağlayarak, spermlerin hareket yeteneğini artırır. Serum PSA yüksekliği, ilerlemiş kanserde olduğu gibi lokalize kanserde de görülebilir. Kanserli prostat dokusu, normal postat dokusuna göre yaklaşık 10 kat daha fazla PSA oluşturabilmektedir. PSA, organ spesifiktir ancak kanser spesifik değildir. Serum PSA değerleri; BPH,

prostatit, prostatik infarktüs, prostatın enstrümantasyonu ve ejakülasyon gibi durumlarda da yükselir. Lokalize prostat kanserli hastaların %20-40'ı 4.0 ng/mL veya daha az PSA değerine sahiptir. PSA değerlerinin hesaplanması ve yorumlanması için bir kaç yol mevcuttur. Bunlar: serum PSA değerinin prostat gland volümüne oranı (PSA dansitesi), PSA değerinin zamanla değişkenlik oranı (PSA velocity), yaşa spesifik referans değerlerinin kullanımı ve serumdaki serbest ve bağlı PSA oranıdır(1,2,24).

Serum PSA dansitesi; prostat dokusunun gramı başına oluşturduğu PSA'yı yansıtır. Serum PSA'sının normal kişilerde tavsiye edilen yaşa spesifik üst referans değerleri; 40-49 yaş için 2.5 ng/ml, 50-59 yaş için 3.5 ng/ml, 60-69 yaş için 4.5 ng/ml, 70-79 yaş için 6.5 ng/ml'dir. Prostat kanseri ile ilişkili en iyi göstergelerden biri de yıllık değişkenliğin 0.75 ng/ml olmasıdır. Bunu değerli kılmak için 1.5-2 yıllık sürede bakılan en az üç PSA ölçümü gerekir. Son serum PSA testi normal sınırlarda bile olsa, serum PSA düzeylerindeki anlamlı artış anormaldir (1). Total PSA düzeyleri 4-10 ng/ml arasında ise serbest PSA yüzdesi, benign ve malign hastalığın ayırımında daha değerlidir. Serbest PSA; total PSA'nın %25'inden yüksekse kanser riski düşük, %10'undan azsa kanser riski yüksektir (1,2).

PSA prostat kanserinde taramada, tanıda, evrelemede ve tedavi sonrası izlemde yaygın olarak kullanılmaktadır. Prostat kanserinin önlenmesi faz 3 klinik çalışma, Prostat Kanseri Önleme Çalışması (PCPT; Prostat Cancer Prevention Trial) ile araştırıldı. PCPT'de PSA değeri 4 ng/ml altında olan erkeklerde %15.2 oranında, PSA değeri 3.1-4.0 ng/ml olan grupta %26.9 kanser saptanmıştır. Saptanan kanserlerin çoğu düşük gradeli olmakla birlikte azımsanmayacak oranda yüksek gradeli kanser varlığı gözlenmektedir. PCPT ile ilgili vurgulanması gereken en önemli noktalardan birisi ise PSA değeri 4 ng/ml altında olan erkeklerde kanser yok denilebilecek değerin olmamasıdır. PCPT sonuçlarına göre PSA değeri 0.5 ng/ml'nin altında ve 0.6-1.0 ng/ml arasında olan erkeklerde sırasıyla %6.6 ve %10.1 oranında kanser saptanmıştır. PSA değeri arttıkça prostat kanseri riski de artmaktadır(25). The National Comprehensive Network klavuzuna göre PSA değeri 2.5 ng/ml'nin üzerinde erkeklerde prostat biopsisi yapılmasını önerilirken, Avrupa Üroloji klavuzlarında öneride bulunabilmek için daha fazla veri toplama gerekliliğini ifade etmektedir.(26).

2.2.4 Patolojik Özellikler

Prostat kanserleri iki ana gruba ayrılır.

- 1- Periferik duktus ve asinuslerin adenokarsinomu
- 2- Büyük duktusların karsinomu

Morfolojik ayırım klasik olarak iki tümörün farklı orijin yeri temel alınarak yapılır ve her iki patern sıklıkla birarada görülür. Tümörlerin çoğu birinci gruptadır. Grade, evre, prognoz ve tedavi konusundaki çalışmaların çoğunda bu gruptaki kanserler referans alınır(2).

A-Periferik duktus ve asinusların karsinomu: Prostat karsinomlarının yaklaşık %70'i periferal zonda, çoğunlukla posterior bölgede yerleşir. Makroskopik incelemede neoplastik doku, etrafındaki non-neoplastik parankimden sert, gri veya sarı renkli, kötü sınırlı alanlar olarak ayrılır(27,28).

Prostat karsinomları, rektal muayenede sıklıkla unilateral gözükmele birlikte, patolojik incelemede %70'inden fazlası bilateraldir. Olguların %85'inden fazlasında multifokal adenokarsinom mevcuttur. Bunlar tümörün intraglandüler yayılımından çok gerçek multisentrik özelliğini gösterir. Santral bölgede lokalize olan tümörlerde multisentrisite daha az görülür. Prostat adenokarsinomları için dört mikroskobik patern tariflenmiştir: orta çaplı glandlar, küçük glandlar, diffüz tek hücre infiltrasyonu ve kribriiform yapı. Adenokarsinomların çoğu histolojik olarak; iyi sınırlı, kolaylıkla ayırt edilebilen gland patterni oluşturur. Nöroendokrin özellik gösteren karsinom, müsinöz adenokarsinom, taşlı yüzük hücreli adenokarsinom, adenoskuamoz karsinom, skuamoz hücreli adenokarsinom, adenoid bazal hücreli tümör (adenoid kistik-karsinom benzeri tümör), bazaloid karsinom, lenfoepitelyoma benzeri karsinom, tübülokistik berrak hücreli adenokarsinom, sarkomatoid karsinom, periferik duktus ve asinus adenokarsinomu varyantlarıdır(2,3,27).

B- Büyük duktusların karsinomu (primer): Periüretal bölgede bulunan büyük duktuslardan köken alır ve çoğunlukla verumontanumda veya etrafında yerleşim gösterir. Prostat karsinomlarının % 0,4-0,8'i duktuslardan köken alır. Sistoskopik muayenede sıklıkla polipoid villöz veya infiltratif üretral komponent olarak görülür. Mikroskobik olarak tanımlanan tipler şunlardır (2,3,29):

1. Büyük (prostatik) duktus adenokarsinomu
2. Endometrial tip (endometrioid) adenokarsinom
3. Primer transizyonel hücreli (üretelial) karsinom
4. Miks adenokarsinom-transizyonel hücreli karsinom.

2.2.5 Prostat Adenokarsinomunda Evreleme Ve Derecelendirme

Prostat karsinomunun evrelemede iki amaç vardır; prognozu tayin etmek ve hastalığın yaygınlığına göre uygun tedaviyi belirlemek(30). Prostat kanseri TNM sistemine göre evrelendirilmektedir. En son çıkan versiyon 2002 yılında çıkmış ve bir anlamda T kategorisinin evrelendirmesinde 1992 sistemine geri dönüş yapılmıştır. Diğer kategoriler 1997 sistemi ile aynı kalmıştır. Prostat kanserinde klinik evrelendirme (cTNM) ve patolojik evrelendirme (pTNM) vardır. Patolojik evrelendirme klinik evrelendirme ile aynıdır, ancak patolojik evrelendirmede T1 kategorisi yoktur. Klinik evrelendirmenin T kategorisi için, PRM ve TRUS gibi görüntüleme yöntemlerinin bulguları kullanılır. İğne biyopsilerinin sonucu dikkate alınmaz. Tek lobun yarısından azında nodül olduğu halde her iki lobda iğne biyopsilerinin pozitif gelmesi klinik evreyi T2a'dan T2c'ye atlatmaz. M ve N kategorisi tayini için bilgisayarlı tomografi, MRG, kemik iliği için MRG, kemik sintigrafisi kullanılabilir. Bu sınıflandırma adenokarsinomlar içindir ; sarkom ya da prostatın değişici epitel hücreli kanserlerini kapsamaz. Prostatın değişici epitel hücreli kanseri uretra tümörü olarak sınıflandırılır. Bu nedenle hastalığın patolojik olarak kesinleştirilmesi şarttır. 2002 TNM sistemi Tablo 1'de gösterilmiştir. Patolojik evreleme ise makroskopik ve mikroskopik incelemeye dayandırılır (Tablo 2). Patolojik evreleme, prognozu belirlemede klinik evrelemeden daha faydalıdır. Çünkü tümör volümü, cerrahi sınır, ekstrakapsüler yayılımın boyutu, veziküla seminalis ve pelvik lenf nodu tutulumu hakkında bilgi verir(30-32).

Prostat adenokarsinomunun değerlendirilmesinde birçok derecelendirme sistemi mevcut olmasına rağmen en çok kabul gören Gleason derecelendirmesidir (Şekil 1, Tablo 3). Gleason sistemi; tümörün, küçük büyütmeye tespit edilen, glandüler diferansiyasyon ve büyüme paterninin, stroma ile ilişkisine dayanır. Sitolojik özellikler tümör derecelendirmesinde rol oynamaz. Primer (en sık) ve sekonder (ikinci en sık) yapısal paternler belirlenip, 1'den 5'e kadar derecelendirilir.

1 en iyi diferansiyasyonu, 5 en kötü diferansiyasyonu gösterir. Bulunan iki sayı toplanarak Gleason skor elde edilir. Patolojik derecelendirme ise şöyle yapılır: (Gx) Derece değerlendirilemiyor, (G1) İyi Diferansiye (Hafif anaplazi), (G2) Orta Diferansiye (Orta derece anaplazi), (G3-4) Kötü Diferansiye veya İndiferansiye (Belirgin anaplazi). Bilimsel araştırmalarda Gleason Toplamına göre gruplandırmak gerektiğinde aşağıdaki gruplandırma tavsiye edilir: Gleason Skoru (Toplamı) 2-4 ise İyi Diferansiye, 4-6 ise Orta Diferansiye, 7 ise Orta-Kötü Diferansiye, 8-10 ise Kötü Diferansiye(1,2,33-35).

Tablo 1. Prostat Kanseri 2002 TNM Evrelemes**Primer Tümör (T)**

- Tx** Primer tümör değerlendirilemiyor.
- T0** Primer tümör varlığına dair bir belirti yok.
- T1** Tümör klinik olarak saptanamıyor; palpe edilemiyor ya da görüntülenemiyor.
- T1a** Tümör rezeke edilen dokunun % 5'inden azında insidental olarak mevcut.
- T1b** Tümör rezeke edilen dokunun % 5'inden fazlasında insidental olarak mevcut.
- T1c** Tümör ancak iğne biopsisi ile belirlenebiliyor(Örneğin, PSA'nın yüksek bulunması nedeniyle biopsi istenmesi sonucu.)
- T2** Tümör palpabl ve prostat dışına çıkmamış.
- T2a** Tümör tek bir lobun yarısında ya da daha azında sınırlı.
- T2b** Tümör tek bir lobun yarısında daha fazla yer kaplıyor.
- T2c** Tümör her iki lobu da kaplıyor.
- T3** Tümör kapsülden prostat dışına çıkıyor.
- T3a** Kapsül dışına taşma (tek taraflı ya da çift taraflı).
- T3b** Tümör seminal vezikülleri invaze ediyor.
- T4** Tümör fikse ya da seminal veziküller dışındaki dokuları invaze ediyor (Mesane boynu, eksternal sfinkter, rektum, levator kaları ve / veya pelvis duvarı).

Bölgesel Lenf Düğümleri (N)

- Nx** Bölgesel lenf düğümleri değerlendirilemiyor.
- N0** Bölgesel lenf düğümlerinde metastaz yok.
- N1** Bölgesel lenf düğüm/lerinde metastaz var.

Uzak Metastaz (M)***

- Mx** Uzak metastaz değerlendirilemiyor (hiç bir şekilde deerlendirilmemiş).
- M0** Uzak metastaz yok.
- M1** Uzak metastaz var.
- M1a** Bölgesel olmayan lenf düğüm/lerinde metastaz.
- M1b** Kemik/lerde metastaz var.
- M1c** Kemik metastazı olsun / olmasın başka bölgelerde metastaz var.

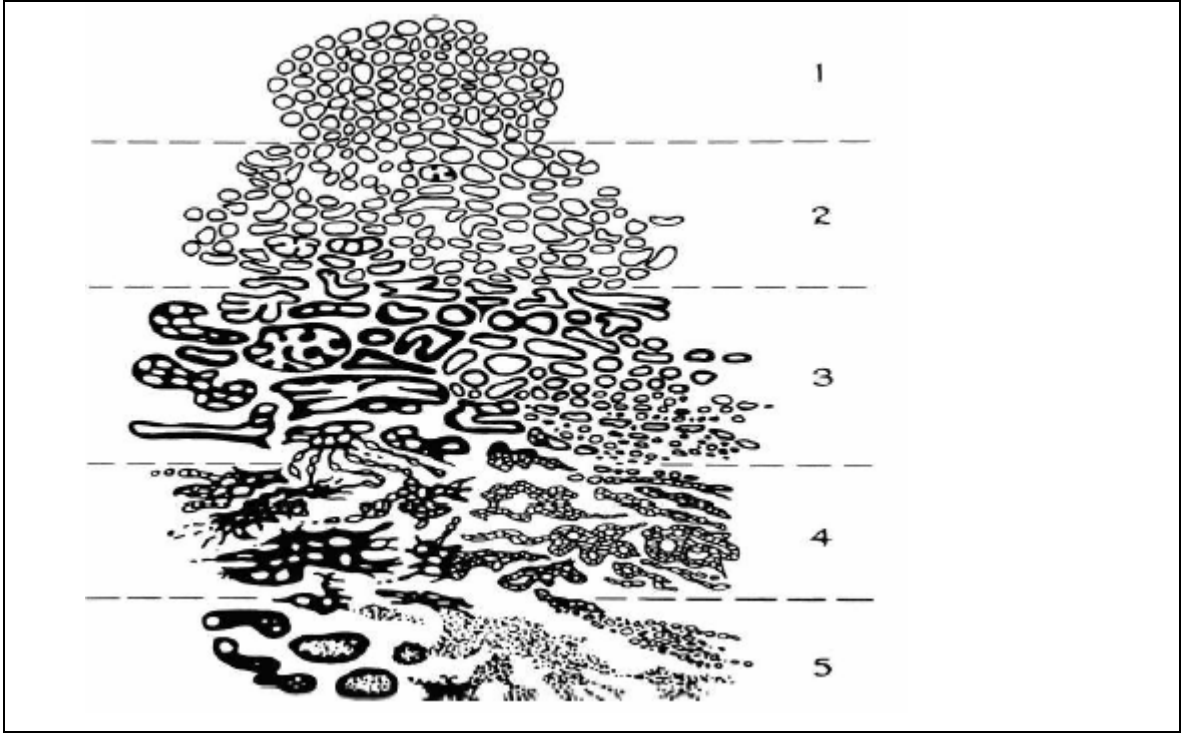
*** Birden çok lokalizasyonda metastaz olduğu durumlarda en ileri kategori tayin edilir. En ileri kategori pM1c'dir.

Tablo 2. Prostat Kanseri Patolojik Evreleme**Patolojik (pT)****pT2*** Organa sınırlı**pT2a** Tek taraflı, bir lobun yarısını veya daha azını tutan**pT2b** Bir lobun yarısından fazlasını tek taraflı tutan fakat her iki lobu tutmayan**pT2c** Tümör her iki lobu da kaplıyor**pT3** Kapsül dışına yayılım**pT3a** Kapsül dışına yayılım**pT3b** V. seminalis invazyonu**pT4** Mesane, rektum invazyonu

* Patolojik T1 evrelemesi yoktur

Tablo 3. Prostat Kanseri Gleason Dereceleme Sistemi

Derece	Açıklama
1	Uniform, tek, ayrı, sırt sırta vermiş, orta hacimli glandların oluşturduğu, nisbeten iyi sınırlı nodül.
2	Çok az miktardaki stroma ile ayrılan tek, ayrı, daha az uniform glandlar. Tümörün kenarı daha düzensizdir.
3A	Genellikle düzensiz olarak ayrılan tek tek, ayrı ve daha fazla değişken boyutta olan glandlar. Sırt sırta vermiş olabilir.
3B	3a gibidir. Fakat çok küçük glandlar veya küçük hücre kümeleri.
3C	Papiller veya kribriform yapıdaki tümörün keskin ve düzgün sınırlı yuvarlak kitlesi (papiller intraduktal tümör).
4A	Düzensiz kenarlı, düzensiz infiltran, birleşmiş glandüler tümör.
4B	4a gibi, daha büyük soluk hücrelerle birlikte (hipernefroid).
5A	Genellikle santral nekrozla birlikte olan, keskin sınırlı kribriform patern ve solid tümör kitleleri (komedokarsinom).
5B	Anaplastik karsinomun düzensiz kitlesi. (Adenokarsinom olarak yeterli gland oluşumu veya vakuoller tesbit edilir.)



Şekil 1. Gleason derecelendirme sisteminin şematik diyagramı

Nomogramlar

Nomogram, hastalar ya da hasta gruplarının akıbetleri ile ilgili sürekli risklerin tayini için kullanılan modellerin grafik olarak temsil edilmesidir. Ancak bu nomogramların bazıları grafik (Kattan), bazıları ise tablolar (Partin) şeklindedir(31,36).

Patolojik Evre Tahmini. Partin ve ark. tarafından oluşturulan bu tablolar, olasılıkları sürekli bir biçimde değil de kategorik olarak sunmaktadır. Yani kategorik olarak olasılık yüzdeleri vermektedir. Bu nomogramda pre-operatif tPSA (0-2.5, 2.6-4.0, 4.1-6.0, 6.1-10.0 ve > 10.0 ng/ml), klinik evre (T1c, T2a, T2b ve T2c) ve biyopsi Gleason toplamları (2 - 4, 5 - 6, 3+4=7, 4+3=7 ve 8 - 10) kullanılarak radikal prostatektomi sonrası muhtemel patolojik evreleri (organa sınırlı, prostat dışı yayılım-EPE, seminal vezikül invazyonu-SVI, lenf nodu invazyonu-LNI) yüzdesel olarak tahmin edilmeye çalışılmıştır(36).

Prognoz tahmini: Kattan ve ark. olasılıkları kategorik değil de sürekli bir skala üzerinde belirleyerek tahmin etmeye yarayan ilk nomogramları oluşturmuşlardır. Tedaviden sonraki yıllar içinde nüks (progresyon) olasılığının

belirlenmesi her bir klinik parametre için belirlenen puanların toplamının skala üzerinde işaretlenmesine dayanır. Skalada tedaviden sonra kaç yıl için tahmin yapıldığı yazılıdır. Preoperatif nomogramda preoperatif klinik parametreler (klinik evre, tPSA, biyopsi Gleason derecesi), postoperatif nomogramda ise patolojik parametreler (prostatektomi Gleason derecesi, EPE, cerrahi sınır durumu, SVI, LNI) ve ek olarak preoperatif tPSA kullanılır(36).

2.2.6 Prognostik Faktörler, Onkogenler ve Tümör Supresör Genler

Evre: Tümör invazyonunun prostat kapsülü içine veya kapsül boyunca yayılımı, yüksek tümör derecesi, büyük tümör volümü, lenf nodu metastazının varlığı ve makroskopik olarak görülüyor olması kötü prognoz ile birlikte(2,24,27).

Derece: Gleason skoru 2-4 düşük, gleason skoru 8-10 yüksek biyolojik malignite gösteren tümörlerdir(37).

Cerrahi Sınırlar: Pozitif cerrahi sınır ile tümör progresyonu arasında güçlü bir ilişki olduğu tespit edilmiştir(2).

Tümör volümü: Morfometrik tekniklerle ölçülen tümör volümü; Gleason derecesi, kapsül invazyonu, cerrahi sınırlar, vezikula seminalis invazyonu ve lenf nodu metastazı ile ilişkili bulunmuştur(2,3,27). 0.5 cc'den küçük tümörlerde ekstraprostatik yayılım nadirdir. 4 cc'den küçük tümörlerde lenf nodu metastazı veya vesikula seminalis invazyonu nadir olarak görülür. Tümör volümü derece ile de orantılıdır. Tümörün lokalizasyonu ve derecesi tümörün etkisini kontrol eder(38).

Yaş: Prostat kanseri ileri yaş erkeklerin hastalığı olup, yeni tanı konmuş hastaların %75' inden fazlası 65 yaşın üstündedir. 50 yaşından küçük erkeklerde prostat kanseri teşhisi % 0,1'in altındadır. 35 yaşın altındaki vakalar kötü diferansiyasyon ve çok agresif davranışla karakterize olsa da hasta yaşı önemli bir prognostik parametre olarak görülmemektedir(1,2,20,23).

İrk: Daha ileri evrede tespit edilmesinden dolayı, siyah erkeklerde ölüm oranı beyaz erkeklere göre iki kat daha fazladır. Evre ve derecelerine göre incelendiğinde her iki ırkta da sağkalım oranı belirgin farklılık göstermemektedir (2).

Başlangıç tanı metodu: TUR'la prostat karsinomu tanısı konan olgularda tümör yayılım insidansı, iğne biyopsisi ile tanı konulan olgulara oranla daha yüksektir. Bu durumun TUR yönteminin bir sonucu mu veya TUR ile tanı konabilen

tümörlerin genellikle daha ileri evre tümörler olmasından mı kaynaklandığı henüz aydınlatılamamıştır(2).

Serum PSA düzeyleri: Tümör volümünün, tümör yaygınlığının ve tedaviye yanıtın indirekt göstergesi olan serum PSA düzeyinin prostat karsinomunun prognozu ile ilişkili olduğu bilinmektedir. İleri evre hastalığı olanlar daha yüksek derece ve daha yüksek volüme sahiptir, tümörün gramı başına oluşturdukları PSA miktarı daha azdır(2,26,30).

PSAP ve PSA immünoreaktivitesi: Dokularında PSAP ve PSA immünoreaktivitesi zayıf olan veya gösterilemeyen prostat karsinomlu vakalar, daha agresif davranış gösterirler (2,26,32,39).

Perinöral invazyon: Perinöral invazyon, prostat karsinom tanısında değeri zamanla anlaşılan bir göstergedir, fakat prognostik değeri tartışmalıdır. Prostatın periferal zon adenokarsinomları prostat dışına perinöral boşluk aracılığıyla yayılır. Perinöral invazyon tek başına kötü prognoz oluşturmaz. Çünkü perinöral invazyon sadece tümörün azalmış dirençle birlikte bir bölgede yayılmasıdır, lenfatik içine invazyon değildir (2,3). Biopsilerde %38 oranında saptanır. Biopside tek malignite bulgusu olabilir. Malignite için önemli bir kanıttır, ancak patognomonik değildir, çünkü nadiren benign asinuslarda izlenebilir. Buna karşı siniri çepre çevre kucaklama, intranöral invazyon ve gangliyon invazyonu sadece kanserde görülür. İğne biopsilerinde saptandığında yüksek ekstraprostatik uzanım olasılığına işaret eder(40). Ancak gleason skoru, serum PSA ve kanser yaygınlığı göz önüne alındığında bağımsız bir prognostik faktör değildir(41), ancak varlığı ekstraprostatik uzanım ile ilişkilidir (%93-38) (42-43).

Lenfovasküler invazyon: Radikal prostatektomide vasküler invazyon nadiren tesbit edilir. 4 cc'den küçük tümörlerin sadece %7'sinde görülür. Radikal prostatektomide saptanan vasküler boşluklara yayılım ile Gleason skoru, ekstraprostatik yayılım, vesikula seminalis tutulumu ve tümör progresyonu ilişkili bulunmuştur(2,3).

Prostata spesifik membran antijeni (PSMA): Proteolitik aktivitesi olan bir membran glikoproteinidir. En çok prostattan eksprese olur ve serum düzeyi sıklıkla prostat kanserli hastalarda artar. Çeşitli solid tümörlerin yeni oluşan damarlarında PSMA'nın eksprese olduğu bildirilmiştir. Oysa normal damarlarda PSMA,

ekspresyonu, meme ,düodenum, böbrek ve prostat damarlarıyla sınırlıdır. Tümör görüntülemesinde kullanılan anti-PSMA monoklonal antikor J591'in tedavi amaçlı kullanılabilirliği araştırılmaya başlanılmıştır. Hem düşük dereceli hem de yüksek dereceli olan primer ve metastatik prostat kansinoma ek olarak, intraepitelyal neoplazmların da çoğu tarafından salınır. Oldukça kötü diferansiye ve metastatik kanserlerden salınır, fakat lenf nodu metastazı, vesikula seminalis invazyonu ve ekstraprostatik yayılım ile korele değildir(24,27).

Androjen reseptör durumu: Prostat kanserinde androjen reseptör ekspresyonu heterojendir. İmmünohistokimyasal olarak androjen reseptörleri tespit edilemeyen tümörlerde prognoz daha kötüdür. Metastatik prostat kansinoma androjen reseptör geninde mutasyonlar saptanmıştır ve bunlar androjen bağımsız tümörlerdir(2,27,33).

DNA flowsitometri durumu: Görüntüleme veya DNA flowsitometri ile saptanan tümör anaploidisi hem yüksek Gleason skoru, hem de daha yüksek lokal ve uzak yayılımla ilişkilidir. DNA flowsitometri durumu güçlü bir prognostik belirleyicidir, fakat klinikteki rolü tartışmalıdır(2,24,27,32).

Epitelyal Cadherinler: Kanser hücrelerinde normalde mevcut olan hücre-hücre etkileşimi kaybolmuştur. E-cadherin, adezyon proteinlerinden biridir. Kromozom 16q23'de haritalanır ve prostat kanserinde allelik kayıp bölgesidir. Prostat kanserinde özellikle kötü diferansiye tümörlerde E-cadherin ekspresyonu belirgin olarak azalmıştır(24,27,33).

Dolaşımdaki tümör hücreleri: PCR tekniği ile dolaşımdaki PSA oluşturan tümör hücrelerinin saptanması, tümör rekürrensini ve tümörün prostat glandına sınırlı olmama ihtimalinin yüksekliğini gösterebilir(2,32).

Heredite ve Genetik: Prostat kanserinin başlangıç ve ilerlemesine yol açan spesifik nedenler henüz bilinmemesine rağmen, genetik ve çevresel faktörlerin bu hastalığın oluşumunda rol oynadığı gösterilmiştir. Prostat kanseri gelişme riski etkilenen akrabaların sayısı ve onların teşhis anındaki yaşı ile ilişkilidir. Birinci derece akrabaların birinde mevcutsa risk 2 kat, iki-üçünde mevcutsa risk 5-11 kat artmaktadır. Prostat kanseri için güçlü aile hikayesi olan erkekler, daha erken yaşta hastalık geliştirmeye eğilimlidirler (2,20,23).

Prostat kanserlerinin %10'unun kalıtsal olduğuna inanılmaktadır(2,23). İsveç ve ABD' de yaşayan, prostat kanseri açısından yüksek riskli 91 ailenin genetik incelemesi, 1. kromozomun uzun kolunda bir major hassasiyet bölgesi (1q24-25) bulunduğunu ortaya koymuştur. Bu kişilerde prostat kanseri daha erken yaşta görülmektedir (1,23).

Onkogenler ve Tümör supresör genler(TSG): Normal genlerin (proto-onkogen) değişime uğramış şekli olan onkogenler sıklıkla hücre çoğalması ile ilgilidir. İsimlerinden anlaşılacağı üzere pek çok TSG normalde hücre büyümesini frenlemek ya da düzenlemekle birlikte hücre döngüsel fonksiyonlarında görev alır(44,45).

RAS onkogeni: Kromozom 11p15'de HRAS, 12p12 de KRAS, 1p13 de NRAS olmak üzere 3 adet RAS onkogeni; 21kDa RAS onkoproteinini kodlarlar. Bu genlerde oluşan nokta mutasyonları, normal hücre genleri, kontrol edilemeyen hücre proliferasyonuna ve tümör oluşmasına neden olan anormal şekilde aktive olmuş onkogenlere dönüştürür. RAS gen mutasyonları insan kanserleri içinde oluşan en yaygın mutasyonlardan biridir. Kolorektal kanser gibi bazı kanser tiplerinde olguların %50 sinde; prostat kanserlerinin ise %10 unda bu mutasyon görülür. Bu mutasyonlarla aktive edilmiş RAS proteinleri vasküler endotelial büyüme faktörünün(VEGF) üretimini artırır. Hatta RAS geni mutasyonu taşıyan tümörler, RAS mutasyonsuz tümörlere göre daha vasküler tümörlerdir(46).

p53: p53, G1S kontrol noktasının önemli bir düzenleyicisidir. Hücrenin DNA hasarı yada hücre dışı büyüme sinyalleri gibi durumlara yanıtında önemli bir protein transkripsiyon faktörü p53 dür. Aktif p53, p53'e cevap verebilen genin promotor bölgesine bağlanır, siklusun durması, DNA hasarının tamiri ve apoptozis için sorumlu genlerin transkripsiyonunu uyarır(47).Genitouriner sistem tümörlerinin yaklaşık %50'sinde p53 mutasyonları vardır(48). Lokal ileri prostat kanserinde; p53 mutasyonunun uzak metastaz artışı, azalmış progresyonsuz ve genel sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir(49). Bunun aksine P53 mutasyonu ile tümör evresi ya da derecesi arasında ilişki saptanamayan; fakat metastaz ile olan ilişkisini onaylayan çalışmalar vardır(50).

SFRP2 (Secreted frizzled-related protein 2) (4q31.3): SFPR2 apoptozis ile ilişkili bir yolak olan WNT (Wingless-type MMTV integration site family member) sinyal

yolağının ekstraselüler bir inhibitörüdür. Bu yolağın aberan aktivasyonu karsinogeneizde önemli rol oynar(51).

P16 (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A) (9q21): CDKN2A olarak da bilinir. CDKN2A geni tarafından kodlanan bir tümör supressor proteindir. CDK4 kinazında güçlü bir inhibitörüdür. P16 hücre siklusunun düzenlenmesinde önemli roller üstlenmektedir(52).

DAPK1 (death-associated protein kinase 1) (9q34.1): DAPK1 kalsiyum kalmodulin ile regüle edilen bir Serine/Threonine kinazdır. Apoptozisin düzenlenmesinde önemli rolü bulunmaktadır. DAPK1 in promotör bölge metilasyonları karsinogeneizde önemli yer tutar(53).

HIC1 (hypermethylated in cancer) (17p13.3): Bric a brac/poxviruses ve zinc-finger transkripsiyon faktör ailesine ait bir gendir. Hedef gen ekspresyonunu baskılayarak etki gösterir. Son dönem çalışmalar artmış P53 ekspresyonunun HIC1 mRNA'sını artırdığını göstermiştir. Bu genin kanser epigenetiğinde sıklıkla susturulmuş olduğu izlenmektedir(54.)

MGMT (O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase) (10q26): Birçok kanserde alkilleyici ajanların yol açtığı DNA'da alkile guanillerin onarımında etkinliği olan bir gendir. Bu genin promotör bölgesinin hipermetilasyonunun kanser gelişiminde etkili olduğu bildirilmiştir(55).

3. HÜCRE DÖNGÜSÜ

Hücrenin büyümesi genomu kopyalaması (DNA replikasyonu),bu iki kopyayı yavru hücrelere paylaşması ve nihayet iki yavru oluşturmak için bölünme sürecine, hücre döngüsü denir.

Hücre döngüsünün evreleri

1951'de Howard ve Pelc bu işlemi dört evreye ayırmışlardır. Bu evreler sırasıyla G1, S, G2 ve M fazlarıdır. Hücreler G1 fazında DNA sentezi yapmak için hazırlanırlar. Bunu takip eden S fazında DNA sentezi yapılır.G2 fazı ise bölünme öncesi hazırlık yapılan evredir. Son olarak M(mitotik) fazında hücre bölünmesi/çoğalma işlevi tamamlanır. Mitoz fazı kendi içinde sırasıyla; prometafaz, metafaz, anafaz, telofaz olarak dört bölüme ayrılır. Bu evreleri takiben sitokinezis denilen işlem sonucunda 2 yavru hücrenin oluşumu gerçekleşir. Hücrede G1-S ve G2-M kontrol noktası olarak

tanımlanan bu 2 denetim basamağı, DNA hasarı oluştuğunda döngünün durmasını sağlayarak, hatalı DNA replikasyonunu önler. Dolayısıyla, G1 ve G2 fazları hücre döngüsünün doğruluk ve uygunluk açısından büyük ölçüde denetlendiği evrelerdir(56).

Siklin ve siklin bağımlı kinazlar.

Hücre döngüsündeki geçişler siklinlerin dizgisel aktivasyonuna gereksinim gösterir: G1' de siklin D ve E; G1 ve S'de siklin A; G2 ve M'de siklin B. Her siklin bir siklin bağımlı kinaz (**cdk**) ile eşleşir. G1S'de sık bulunan siklin-cdk kompleksleri: siklinA-cdk2, sikline-cdk2, siklind-cdk4, siklinDcdk6'dır(57). Bu siklin-cdk kompleksleri hücrede G1'i geçip S fazına girmek için gereklidirler. Fazla ekspres olmaları G1S'de duraklamayı kısaltırken, ekspresyonun ya da aktivitenin baskılanması hücreleri G1'de durdurur(58). G1S kontrol noktasını kontrol edebilme yeteneği siklinleri önemli onkogenler olarak ortaya katar(59).

Siklin bağımlı kinaz inhibitörleri

Siklin-cdk komplekslerinin negatif düzenleyici proteinleri olarak işlev görürler. Bu proteinler 3 grupta toplanmaktadır:

- 1-INK4 protein ailesi;p15, p16, p18 ve p19
- 2-Cip/Kip protein ailesi: p21, p27 ve p57
- 3-pRb(retinoblastoma proteini): p107 ve p130(52)

Retinoblastoma (pRb) yolağı ve G1'den S fazına geçişin düzenlenmesi

Siklin D-cdk4 kompleksi hedef protein olan pRb'yi fosforile ederler. Fosforile pRb , transkripsiyon faktörü olan E2F'den ayrılır ve E2F aktif hale geçer.E2F'nin transkripsiyonunu düzenlediği genler; siklin A, siklin E, PCNA(proliferating cell nuclear antigen), timidin kinaz 1, Myc ve Myb onkogeni ve DNA polimeraz-alfa olarak sıralanmaktadır. Bu genler aracılığı ile sentezlenen proteinler ise hücre döngüsünün S fazına girmesinde görev alırlar (49,59). CDK inhibitörlerinden olan p16 proteini siklinD-CDK4 kompleksini inhibe etmektedir (52).

4. APOPTOZİS

Hücrelerin yaşam ve ölümü arasındaki dengenin, doku homeostazisinin sağlanmasında temel oluşturan mekanizmalardan biri, programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanan apoptozistir. Bu tanım 1972 yılında Kerr ve arkadaşları tarafında ortaya atılmıştır(60). Apoptozis prostat kanserinin tedaviye cevabı ve prognozu için önemli bir faktör olabilir. Bcl-2 proteini, hücre proliferasyonunda artışa ve hücre ölümünde azalmaya neden olur. Normal prostat dokusunda bcl-2 glandın bazal hücre tabakasından salınır, sekretuar hücrelerden salınmaz. Hormon dirençli prostat kanserinde bcl-2'nin ekspresyonu belirgin olarak artmıştır. Bu proteinin yükselmiş düzeyleri prostat kanser hücrelerine çevreden ve androjenlerden bağımsız yaşama yeteneği kazandırır (24,32,33). Bu onkoprotein pozitifliği istatistiksel olarak prostat karsinomunun rekurrensi ile ilişkili olabilir(2).

İntrinsik apoptozis yolağı:

Apoptotik sinyal iletimi mitokondri aracılı ile gerçekleşir. Hücreye gelen dış sinyal dış mitokondri membranını uyarır ve mitokondriden proapoptotik moleküllerin salınmasına yol açar. Kaspaz-9 bu yolağın aktivasyonunda başlangıç kaspazı olarak bilinmektedir(61).

Ekstrinsik apoptozis yolağı:

Bu apoptotik sinyal yolu, hücre yüzeyindeki ölüm resöptörleri (death receptor) aracılığı ile olur. Kaspaz-8 bu yolağın başlangıç kaspazı olarak bilinmektedir(61).

Kaspazlar:

Kaspazlar proteolitik etki gösteren moleküllerin oluşturduğu bir guruptur ve apoptoziste ortaya çıkan morfolojik değişiklikleri tetiklemektedir. İnsan hücrelerinde bir düzineden fazla kaspaz tanımlanmıştır(62).

5. EPİGENETİK HAKKINDA GENEL BİLGİ

Kalıtım materyali olan DNA molekülü, nükleotid olarak adlandırılan küçük yapı taşlarının birleşmesiyle oluşmaktadır. DNA'nın yapısı ve nükleotidlerin dizilişi bir canlının tüm hücrelerinde aynı olmakla birlikte, hücreler arası farklılıklar gen ifadesindeki değişikliklerden kaynaklanmaktadır. DNA dizisinden bağımsız olarak gen ifadesinde meydana gelen kalıtsal değişiklikler epigenetik olarak adlandırılmaktadır(63).

DNA metilasyonu ve kanser arasındaki ilişki ilk kez 1983 yılında ortaya çıkartılmış, kanser hücre genomlarının normale göre hipometile olduğu gösterilmiştir. Genomdaki tekrar dizilerinin hipometilasyonu ile transpozonlar aktive olarak genomik kararsızlık ve buna bağlı yeniden düzenlenmeler meydana gelmektedir. Ayrıca, metilasyon kaybının da hastalığın ciddiyetini ve metastazı etkilediği bilinmektedir(64).

Kanser hücrelerinde gene-özümlü hipermetilasyonlar da görülmektedir. Hipermetilasyon genellikle CpG adacıklarında meydana gelmekte, kromatin yapısını değiştirerek gen ifadesini baskılamaktadır. Hücre döngüsünde, sinyal iletim yolunda, DNA tamirinde ve apoptozda görev alan tümör baskılayıcı genlerin promotor bölgelerindeki hipermetilasyonla bu genlerin ifadesi baskılanmaktadır. Bu durum kanser hücrelerine büyüme ve çoğalma avantajı sağlamakta, metastazı kolaylaştırmaktadır. Tümör baskılayıcı genlerin inaktive olabilmesi için her iki allelinde de mutasyon bulunması gerekmektedir (Knudson'ın Two-Hit Modeli). Ailesel kanserlerle yapılan çalışmalar, tümör baskılayıcı genlerin bir allelinde mutasyon bulunduğunu, diğer allelin ise hipermetilasyonla baskılandığını göstermiştir(65).

DNA metilasyon profilindeki değişiklikler kanserin tanısında, yatkınlığın saptanmasında, kemoterapötik ajanlara verilen cevabın ve yan etkilerin önceden belirlenmesinde belirleyici olarak kullanılabilir(6,7).

5.1. EPİGENETİK MEKANİZMALARI

Epigenetik mekanizmalar, çevresel etkenler ve henüz tanımlanmamış bazı faktörlerin de katkısıyla epigenotip adı verilen bir profil kurulmaktadır. Genotipin bu profil üzerindeki yansımasıyla fenotip ortaya çıkmaktadır(63).

Epigenetik mekanizmalar üç ana başlıkta toplanmaktadır(66):

1. DNA metilasyonu,
2. Histon modifikasyonları,
3. RNA ile indüklenen sessizleşme (RNA-induced silencing).

Bu mekanizmaların birlikte çalışması sonucu gen ifadesinde kalıtsal değişiklikler meydana gelmektedir. Mekanizmaların herhangi birindeki hata, genlerin ifadesinin aşırı artmasına veya baskılanmasına neden olarak epigenetik hastalıklara yol açmaktadır(66)

5.1.1.DNA Metilasyonu

DNA metilasyonu en çok çalışılan epigenetik mekanizma olup, gen ifadesinin baskılanmasını sağlamakta, embriyonik gelişim, transkripsiyon, kromatin yapısı, X-kromozom inaktivasyonu, genomik “imprinting”in düzenlenmesi ve kromatin kararlılığının korunmasında fonksiyon görmektedir(64).

DNA metilasyonu, DNA metil transferaz (DNMT) enzimleri tarafından katalizlenmekte ve DNA genellikle CpG bölgelerindeki sitozinden (C) metillenmektedir. Genomda tekrar dizilerinin ve transpozonların bulunduğu heterokromatinin CpG bölgelerinde metilasyon oranı yüksek görülmekte, bu sayede transkripsiyon baskılanmakta ve transpozonların genom içerisindeki hareketi engellenerek kromozomun kararlı halde kalması sağlanmaktadır(63,64). CpG adacıkları ise genlerin promotor bölgelerinde bulunan, yaklaşık 500 baz çifti uzunluğunda ve %55’ten fazla CG içeren, metilasyon oranı düşük olan korunmuş dizilerdir(66).

5.1.2. Histon Modifikasyonları

Histon modifikasyonları kromatin yapı ve fonksiyonunu değiştirmeleri nedeniyle epigenetik modifier olarak bilinmektedir(63). Histon modifikasyonlarıyla DNA metilasyonu arasında direkt ilişki olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Ökaryotik hücrelerde DNA, beş tip histon proteini ile paketlenerek nükleozom yapısını oluşturmaktadır(67). Bir genin ifade edilmesi, histon proteinleri-DNA arasındaki paketlenmenin gevşemesi ve nükleozom yapısının yer değiştirmesi olarak bilinen remodelling sonucu mümkün olmaktadır(68). Histon proteinlerinin amino ucunda asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon, ubiquitinizasyon, ADP ribozilasyon ve sumozilasyon gibi çeşitli posttranslasyonel modifikasyonlar görülmektedir. Modifikasyonların histonların elektrostatik yükünü etkileyerek kromatin yapısını değiştirdiği ve protein kompleksleri için tanıma bölgesi oluşturduğu düşünülmektedir. Böylece histon-DNA ve histon-histon ilişkisi etkilenmekte, DNA paketlenmesi, replikasyonu, tamiri ve gen ifadesinin kontrolü gibi birçok biyolojik olay kontrol edilebilmektedir. Modifikasyonlar tek başlarına veya farklı kombinasyonlarda bulunarak kromatine bazı anlamlar yüklemekte veya bu anlamları değiştirebilmektedir(69-72).

5.1.3.RNA ile indüklenen sessizleşme (RNA-induced silencing)

RNA'ların, histon modifikasyonlarının ve DNA metilasyonunun başlaması için itici güç oluşturduğu, bu sayede heterokromatin bölgenin oluşumuna katkıda bulunarak kalıtsal olarak sessizleştirilmesini sağladığı düşünülmektedir(66).

5.2. TEDAVİ YAKLAŞIMLARI

Son yıllarda, insanlarda görülen çoğu hastalığın epigenetik temellerinin olduğunun anlaşılması üzerine, epigenetik hataların düzeltilmesi amacıyla yürütülen ilaç araştırma-geliştirme çalışmaları hız kazanmıştır. DNA metilasyon ve histon modifikasyon profilini değiştirebilen ilaç adayları bileşikler geliştirilmeye başlanarak prelinik ve klinik aşamalara geçilmiştir. Geliştirilen ilaç adayları arasında en çok ümit vadeden bileşikler DNMT(DNA metiltransferaz) inhibitörleri ve HDAC (Histon deasetilaz) inhibitörleridir(66).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Ocak 2008 – Aralık 2008 tarihleri arasında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Üroloji, Patoloji ve Genetik Anabilim Dalında yapıldı. Çalışmaya TUR(P) ve radikal prostatektomi yapılan ve prostat kanseri tanısı konulan 30 hasta dahil edildi.

Radikal prostatektomi ve daha önce prostat kanseri tanısı alan ve radikal prostatektomi için uygun olmayıp TUR(P) yapılan hastalarda materyal patolojiye gönderildi. Genetik analiz için küçük bir parça % 100'lük etil alkol içeren özel tüplere konularak hızla genetik laboratuvarına ulaştırıldı ve -20°C'de muhafaza edildi.. Prostat kanseri şüphesi olan hastalarda doku aynı şekilde saklandı Patolojik tanı kanser olarak rapor edildiğinde saklanan örnekler de genetik analiz için değerlendirildi..

Genomik DNA izolasyonu ve Epigenetik Modifikasyon

Yaklaşık 10 ng ağırlığında tümör dokularından total genomik DNA izole edildi. Bunun için Invitex(Invisorb, Austria) DNA izolasyon kiti kullanıldı. İzole edilen genomik DNA'lar multipleks PCR analizi için kullanıldı. PCR öncesi tümör doku DNA'ları epigenetik analiz için Bisülfite tekniği ile modifiye edildi. Hedef tümör supressör gen promotor bölgeleri modifiye edildikten sonra uygun primerler(Vienna lab, Austria) kullanılarak multipl amplifikasyonları yapıldı. Amplifiye gen ürünleri revers hibridizasyon Strip Assay tekniği ile genotiplendirildi. Her bir gene ait promotor bölge modifikasyonları tekniğe birlikte sağlanan belirteç ile karşılaştırılarak; metile-aktif fonksiyonel gen, kısmen (heterozigot) metile-heterozigot inaktif gen ve fullmetile-tamamen (homozigot) inaktif gen olarak sınıflandırıldı.

İstatistik Analiz: Çalışmamızın verileri SPSS (Ver: 14.0) programına yüklenerek verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde Fishers's Exact Test, Chi-Square ve Bağımsız gruplarda iki yüzde arasındaki farkın önemlilik testi kullanıldı.

Tüm testlerde, $p < 0,05$ istatistiksel önemi göstermek için kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 30 prostat kanserli hastanın ortalama yaşı 70.23 ± 8.43 (51-85) yılıdır. Hastaların 22'sine (%73) TUR(P), 8'ine (%27) radikal prostatektomi operasyonu yapıldı. Preop serum tPSA değeri ortalama 71.76 ± 23.94 (0.003- 1237) ng/ml olarak ölçüldü.

Prostat kanserli 30 hastanın 29'unda prostat adenokarsinomu saptandı ve bunlar gleason skorlamasına göre; 5'i (%16.6) düşük dereceli (Gleason skoru ≤ 6), 24 tanesi (%80) yüksek dereceli (Gleason skoru ≥ 7) olarak iki gruba ayrıldı (Tablo 4). Hastalardan 1'inde de küçük hücreli prostat kanseri saptandı.

Tablo 4: Hastaların Gleason Skoruna Göre Dağılımları

Grup 1 (Gleason skoru ≤ 6)			Grup 2 (Gleason skoru ≥ 7)		
	n	%		n	%
Gleason skoru 6:	5	17.4	Gleason skoru 7:	7	24.2
			Gleason skoru 8:	6	20.6
			Gleason skoru 9:	6	20.6
			Gleason skoru 10:	5	17.4
Toplam	5	17.4	Toplam	24	82.6

Tümör Supresör Genlerin Epigenetik Profili

Çalışmaya katılan 30 hastada SFPR2, P16, DAPK1, HIC1 ve MGMT tümör supresör genlerinin metilasyon durumları, gleason skorundan bağımsız olarak incelendi.

Genler için unmetilasyon durumları sırasıyla 17(%56.6), 29(%96.6), 20(%66.6), 6(%20) ve 27(%90) olarak saptandı. Genlerin fullmetilasyon oranları sırasıyla 12(%40), 1(%3.4), 9(%30), 21(%70) ve 3(%10) idi. Parsiyel metilasyon P16 ve MGMT genlerinde izlenmedi. SFRP2 bir hastada, DAPK1 bir hastada ve HIC1 ise üç hastada vardı.

Az sayıda olan parsiyel metile genler (SFRP2, DAPK1 ve HIC1) full metile genler ile birlikte istatistiksel olarak değerlendirildi. SFPR2 geni metilasyon yönünden incelendiğinde, unmetile hastaların sayısının metile olanlardan fazla olmasına

rağmen, bu durum istatistiksel olarak anlamlı değildi. P16, DAPK1 ve MGMT genlerinin unmetilasyon oranı, metile olanların oranından istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazla idi ($p<0.05$). HIC1 geninde ise hipermetilasyon oranı unmetile olanlardan istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazla idi ($p<0.05$), (Tablo 5).

Tablo 5: Tümör Supresör Genlerin Epigenetik Profili

Tümör supresör genler	n	%	t ve P değerleri
SFRP2	U 17	56.6	t=0.103
	F 12	40.0	p= 0.203
	P 1	3.4	p>0.05
P16	U 29	96.6	t= 20.2
	F 1	3.4	p=0.00
	P 0	0.0	p<0.05
DAPK1	U 20	66.6	t= 2.74
	F 9	30.0	p=0.00
	P 1	3.4	p<0.05
HIC1	U 6	20.0	t= 6
	F 21	70.0	p=0.00
	P 3	10.0	p<0.05
MGMT	U 27	90.0	t= 10.38
	F 3	10.0	p=0.00
	P 0	0.0	p<0.05

U:Unmetile-tamamen aktif gen

F:Full metile-tamamen inaktif gen

P:Kısmen inaktif gen

Gleason Skorlamasına Göre Tümör Supresör Genlerin Metilasyon Profili

Adenokarsinom tanısı alan 29 hasta Gleason skorlamasına göre düşük ve yüksek dereceli olarak 2 guruba ayrıldı. Her iki gurubun SFPR2, P16, DAPK1, HIC1

ve MGMT tümör supresör genlerinin metilasyon durumlarına göre epigenetik profilleri incelendi.

Gleason skoru ≤ 6 olan 5 hastanın tamamında SFPR2 unmetile olarak saptandı. Gleason skoru ≥ 7 olan 24' hastanın 12'sinde (% 50) SFPR2 unmetile iken diğer 12'sinde(% 50) fullmetile durumdaydı. Gleason skoru ≥ 7 olan hastalarda, SFPR2 hipermetilasyonu, gleason skoru ≤ 6 olanlardan istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazlaydı ($p < 0.05$).

P16 geni gleason skoru ≤ 6 olan 5 hastanın tamamında, gleason skoru ≥ 7 olan 24' hastanın 23'ünde (% 95.8) unmetile iken, 1 (% 4.2) hastada P16 tümör supresör geni fullmetile olarak saptandı ($p > 0.05$).

DAPK1 geni gleason skoru ≤ 6 olan 5 hastanın tamamında unmetile idi. Gleason skoru ≥ 7 olan 24' hastanın 15'inde (% 62.5) gen unmetile iken, 8'inde (% 33.3) fullmetile ve 1 (% 4.2) hastada parsiyel metile durumda idi. DAPK1 için veriler Chi-Square testinin varsayımlarını yerine getirmediği için anlamlılık p değeri ile gösterilememiş, veriler yüzde olarak ifade edilmiştir.

Gleason skoru ≤ 6 olan 5 hastanın 1 inde (% 20) HIC1 tümör süpressör geni unmetile, 3 ünde (% 60) fullmetile ve 1 inde de (% 20) parsiyel metile olarak saptandı. Gleason skoru ≥ 7 olan 24' hastanın 4'ünde (% 16.7) gen unmetile iken , 18'inde (% 75.0) fullmetile ve 2 sinde (% 8.3) parsiyel metile olarak saptandı. Bu gruptaki verilerde Chi-Square testinin varsayımlarını yerine getirmediği için anlamlılık p değeri ile gösterilememiş ve veriler yüzde olarak ifade edilmiştir.

Gleason skoru ≤ 6 olan 5 hastanın tamamında MGMT tümör supresör geni unmetile olarak saptandı. Gleason skoru ≥ 7 olan 24' hastanın 21'sinde (%87.5) gen unmetile iken diğer 3'ünde (% 12.5) fullmetile durumdaydı. Gleason skoru ≥ 7 ve ≤ 6 olan hastaların . MGMT geninde hipermetilasyon sayısı istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$), (Tablo 6).

Tablo 6: Gleason Skorlamasına Göre Tümör Supresör Genlerin Metilasyon Profili

SFRP2						
		U	F	P	Toplam	P
Gleason	≤ 6	5 (% 100)	0 (%0)	0 (%0)	5 (%100)	p=0.039
	≥ 7	12 (% 50)	12 (% 50)	0 (%0)	24 (% 100)	P<0.05
Toplam		17 (% 58.6)	12 (% 41.4)	0 (%0)	29 (% 100)	
P16						
		U	F	P	Toplam	P
Gleason	≤ 6	5 (% 100)	0 (% 0)	0 (%0)	5 (% 100)	p=0.642
	≥ 7	23 (% 95.8)	1 (% 4.2)	0 (%0)	24 (% 100)	p>0.05
Toplam		28 (% 96.6)	1 (% 3.4)	0 (%0)	29 (% 100)	
DAPK1						
		U	F	P	Toplam	P
Gleason	≤ 6	5 (% 100)	0 (%0)	0 (%0)	5 (% 100)	*
	≥ 7	15 (% 62.5)	8 (% 33.3)	1 (% 4.2)	24 (% 100)	
Toplam		20 (% 69.0)	8 (% 27.6)	1 (% 3.4)	29 (% 100)	
HIC1						
		U	F	P	Toplam	P
Gleason	≤ 6	1 (% 20)	3 (% 60.0)	1 (% 20.0)	5 (% 100)	*
	≥ 7	4 (% 16.7)	18 (% 75.0)	2 (% 8.3)	24 (% 100)	
Toplam		5 (% 17.2)	21 (% 72.4)	3 (% 10.3)	29 (% 100)	
MGMT						
		U	F	P	Toplam	P
Gleason	≤ 6	5 (% 100)	0 (% 0)	0 (%0)	5 (% 100)	p=0.404
	≥ 7	21(% 87.5)	3 (% 12.5)	0 (%0)	24 (% 100)	p>0.05
Toplam		26 (% 89.7)	3 (% 10.3)	0 (%0)	29 (% 100)	

U:Unmetile-tamamen aktif gen

F:Full metile-tamamen inaktif gen

P:Kısmen inaktif gen

* Bu gruptaki veriler Chi-Square testinin varsayımlarını yerine getirmediği için anlamlılık p değeri ile gösterilememiş, veriler yüzde olarak ifade edilmiştir.

TARTIŞMA

Gelişmiş ülkelerde kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci en sık ölüm nedeni malign tümörlerdir (73). Kansere bağlı ölümlerden sorumlu tümörler arasında ikinci sırada gelen prostat kanseri erkeklerde en sık saptanan malign tümördür(74-78). Otopsi serilerinde 80-89 yaş arasındaki kişilerde %71 oranında prostat kanseri belirlenmektedir(76). Halen prostat kanserinin değerlendirilmesi ve taramasında PSA ile PRM kullanılmaktadır. Fakat bu belirleyicilerin sensitivitesi ve spesifitesi düşüktür. Prostat kanserinin prognozunu değerlendirmede kullanılan mevcut metodlar; Klinik evreleme, nomogramlar histopatolojik değerlendirme ve hücre kinetik çalışmalarıdır(4). Prostat kanserinde prognozu preoperatif olarak belirlemek günümüzde zordur. Ancak patolojik evre ile ilişki kurulabilir(76,79-81). Özellikle ekstraprostatik yayılım, ileri görüntüleme yöntemlerine rağmen ancak radikal prostatektomi materyalinde patolojik olarak belirlenebilmektedir(78,79).

Genetik alanındaki araştırmalar, supresör genlerde olan fonksiyonel kaybın tümör patogeneğinde önemli rol oynadığını göstermektedir. Prognozu belirlemede genetik değişikliklerin önceden bilinmesi halen önemli ve üzerinde çalışılan konulardan biridir. Promoter bölge hipermetilasyonuna bağlı olarak susturulan ve böylece kanserlere neden olan aday tümör supresör genlerinin büyüyen bir listesi bulunmaktadır. Bu genler, önemli bir DNA tamir geni kodlayan O⁶-metilguanin-DNA metiltransferaz (MGMT), bir hücre döngüsü regülatörü siklin- bağımlı kinaz inhibitörü 2B (CDKN2B) olan p15 ve fonksiyonu bilinmeyen bir proteini kodlayan RAS onkogenine bağlanabilen RASSF1A'yı içermektedir. Tümör supresör grubunda önemli yerleri bulunan bu genlerin susturulmalar sonucunda, örneğin DNA hasarının tamiri uygun olarak yapılamayacağı için, mutasyonlar ortaya çıkacaktır. Örneğin, MGMT geninin promoter bölge hipermetilasyonu, aktif bir enzimin sentezlenmesini engeller. Bu durumda MGMT, DNA tamir enzimi olarak görevini yerine getiremez ve genomda tamir edilemeyen mutasyonlar artar. Bunlar genellikle Guanin → Adenin değişimine neden olan mutasyonlardır. MGMT geni kolon, karaciger ve lenfoid tümörlerinde promoter bölge hipermetilasyonuna bağlı olarak susturulmuştur. Susturulmuş MGMT alellerini içeren tümörlerde, K-RAS ve tümör protein p53 (TP53) gibi anahtar genlerin de mutasyonlardan etkilenmiş oldukları

görülmüştür(82). Promoter bölge hipermetilasyonu, birçok insan tümöründe karsinogenezin ilk olgusudur. Prostat kanserinin ilerlemesinde birçok metillenmiş gen etkilidir: GSTP1, APC, RASSF1A, RAR β 2, CRBP1, Metalloproteinaz Doku inhibitörü 3 (tissue inhibitor of metalloproteinase 3, TIMP3), Metilguanin DNA Metiltransferaz (MGMT) ve Prostaglandin Endoperoksidaz Sentez 2 (prostaglandin endoperoxidase synthase 2, PTGS2) gibi. Bu gibi genlerin metilasyon sıklıkları prostat kanserinin ön aşamalarında, yani daha büyük bir tümör kitlesi oluşmadan, metaplazi ve displazi aşamalarında saptanabilir(83-85). HGPIN ve hastalığın gelişme evresi arttıkça metilasyon sıklığının da arttığı gözlenmektedir(84,86).

Yegnasubramanian ve arkadaşlarının 2004 yılında primer ve metastatik prostat kanserli hastalarda yapmış oldukları çalışmada, aberan DNA metilasyon paterni incelenmiş, GSTP1, APC, RASSF1a, PTGS2 ve MDR1 genlerinin prostat kanserli hastalarda %85'in üzerinde hipermetile olmasına karşın ,DAPK1, TIMP3, MGMT, CDKN2b, P14/ARF ve CDH1 genlerinin ise hipermetile olmadığını gösterilmiştir(86). Çalışmamızda DAPK1 ve MGMT tümör supresör genlerinde hipermetilasyon tespit edilmiş olmasına karşın istatistiki bir anlamlılık saptanamadı. Kekeeva ve arkadaşlarının 2007 yılında prostat kanserli hastalarda yaptıkları çalışmada; epitelyal ve stromal hücrelerde P16, HIC1, N33 ve GSTP1 genlerindeki aberan metilasyonları incelenmiş ve bu genlerdeki metilasyon oranları yüksek bulunmuştur. Hatta tümöre komşu normal stromal dokularda bile yüksek gen metilasyonu saptanmıştır. Aynı çalışmada non-neoplastik hücrelerin promotor bölge metilasyonlarının kanser gelişimi ve progresyonunda önemli bir rol oynuyor olabileceği ifade edilmiştir(87). Bizim çalışmamızda ise P16 tümör supresör geninde meydana gelen metilasyon anlamlı bulunmazken, HIC1 tümör supresör genindeki metilasyon oranları anlamlı şekilde yüksek olarak bulunmuştur.

Gleason Skoru yüksek olan prostat kanseri olgularında genellikle metilasyon oranı yüksek bulunmuştur. Bununla ilgili olarak, Konishi ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, GSTP1 promoter bölge hipermetilasyonunun, kötü prognoz belirtisi olan Gleason Skor ≥ 7 olgularda, daha yüksek oranda olduğu gösterilmiştir (88) Çalışmamızda SFPR2, P16, DAPK1, HIC1 ve MGMT tümör supresör genlerinin metilasyon durumları gleason skoruna göre karşılaştırıldığında, Gleason skoru ≥ 7 olanlarda SFPR2 geninde metilasyon, gleason skoru ≤ 6 olanlardan anlamlı şekilde

yüksek bulunmuştur. Gleason skoru ≥ 7 olan hastalarda P16, DAPK1, HIC1 ve MGMT gen metilasyonu , gleason skoru ≤ 6 olanlardakinden daha fazla gösterilmiş olmasına rağmen, P16 ve MGMT için istatiki anlamsızlık söz konusu idi. DAPK1 ve HIC1’de ise, sayısal yetersizlik nedeni ile istatikselsel analiz yapılamamıştır.

Cheng ve arkadaşlarının 2007 yılında primer gastrik kanserli hastalar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, SFRP2 geninde promotor bölgenin belirgin şekilde hipermetile olduğu gösterilmiştir(89). Rathi ve arkadaşları pediatrik tümörlerde yaptıkları bir çalışmada, HIC1’deki aberan metilasyonunun, tümör patogenezinin erken evresinde rol oynayabilen bir faktör olduğunu göstermişlerdir(90).

Prostat kanserinin erken tanısında halen kullanılan dijital rektal muayene ve serum prostat spesifik antijeninin sınırlı duyarlılığı ve özgüllüğünden dolayı prostat kanserinin erken evresi, güvenilir olarak belirlenemez (86). Uygulanan bu rutin klinik uygulamalara ek olarak, prostat kanserinin erken tanı ve etkili tedavisinde genetik mutasyonların yanı sıra epigenetik değişikliklerin de bilinmesi gerekli olabilir(91). Ellinger ve arkadaşları prostat kanseri ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, serbest serum DNA’sında GSTP1 hipermetilasyonunun, yüksek spesifitesi olan non invaziv bir biyomarker olduğunu, prostat kanseri ve BPH ayırımında önemli bir marker olarak yardımcı olabileceğini ve gereksiz biopsilerin sayısını azaltabileceğini göstermişlerdir(92). DNA metilasyon profilindeki değişikliklerin kanser tanısında, kansere yatkınlığının saptanmasında, kemoterapotik ajanlara verilen cevabın ve yan etkilerin önceden belirlenmesinde belirleyici olarak kullanılabilceği bildirilmiştir(93,94). Ayrıca GSTP1 promotor metilasyonu , idrar ve semen gibi vücut sıvılarında prostat kanseri için bir biyo-belirteç olarak moleküler tanıda kullanılmaktadır(95).

Çalışmamızda; gleason skorundan bağımsız değerlendirildiğinde HIC1 geni hariç, çalışılan tüm genlerde hipermetilasyon oranı anlamlı bulunmamıştır. HIC1 geninde %70 tamamem metile ve %10 kısmen metile olmak üzere toplam %80 oranında metilasyon saptanmıştır. Toplam 5 gen , gleason skorundaki derecelere göre değerlendirildiğinde ise, SFPR2 için tümörün histolojik derecesi arttığında metilasyonun istatistiki olarak anlamlı bir şekilde arttığı gösterilmiştir. Bu özellik prostat kanserinde kötü prognozun bir belirtisi olabilir.

Sonuç olarak epigenetik kalıtımın öneminin fark edilmesi ve bu kalıtımda görevli genler üzerinde yapılacak daha geniş çalışmalar ile metilasyonların erken dönemde saptanması, prostat kanserinin tanı ve tedavisinin planlanmasında prognostik faktör olarak rol oynayabilir. Metilasyon ile kanser patogenizi arasındaki bu ilişkinin açığa çıkarılması için ileri ve daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

SONUÇLAR

1- Çalışmamızda; gleason skorundan bağımsız değerlendirildiğinde HIC1 geni hariç, çalışılan tüm genlerde hipermetilasyon oranı anlamlı bulunmamıştır. HIC1 geninde %70 tamemem metile ve %10 kısmen metile olmak üzere toplam %80 oranında metilasyon saptanmıştır.

2- Toplam 5 gen, gleason skorundaki derecelere göre değerlendirildiğinde ise, SFPR2 için tümörün histolojik derecesi arttığında metilasyonun istatistiki olarak

anlamalı bir şekilde arttığı gösterilmiştir. Bu özellik prostat kanserinde kötü prognozun bir belirtisi olabilir.

3- Sonuç olarak epigenetik kalıtımın önemini fark edilmesi ve bu kalıtımda görevli genler üzerinde yapılacak daha geniş çalışmalar ile metilasyonların erken dönemde saptanması, prostat kanserinin tanı ve tedavisinin planlanmasında prognostik faktör olarak rol oynayabilir. Metilasyon ile kanser patogenizi arasındaki bu ilişkinin açığa çıkarılması için ileri ve daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Epstein J. The Lower Urinary Tract and Male Genital System. In: Kumar V, Abbas A, Fausto N. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Philadelphia, Pennsylvania. Elsevier Saunders Company. 2005. 1023-1058.
2. Rosai J. Male Reproductive system. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 2004. Volume 1: 1361-1411.

3. Estein J. The prostate and seminal vesicles. Carter D, Reuter V, Greenson J, Stoler M, Oberman H. Stenberg's diagnostic surgical pathology, Fourth ed. Philadelphia, Baltimore. Lippincott Williams & Wilkins. 2004. Volume 2: 2083-2132.
4. Raymond W, Leong A, Bolt J, Milios J, Jose J. Growth fractions in human prostatic carcinoma determined by Ki-67 immunostaining. *J Pathol.* 1988. 156: 161-167.
5. McLoughlin J, Foster C, Price P, Williams G, Abel P. Evaluation of Ki-67 monoclonal antibody as prognostic indicator for prostatic carcinoma. *British J of Urol.* 1993. 72: 92-97.
6. Miyamoto K, Ushijima T. Diagnostic and therapeutic applications of epigenetics. *Jpn J Clin Oncol* 2005; 35:293-301.
7. Laird WP. The power and the promise of DNA methylation markers. *Nature Rev Genet* 2003; 3:253-66.
8. Dikson J, Gosling J. Macro-anatomy of the prostate. Kirby R, McConnell J, Fitzpatrick J, Roehrborn C, Boyle P. *Textbook of Benign Prostatic Hyperplasia.* Oxford. Synthelabo. 1996. 1-10.
9. Snell R. The Pelvis: Part II The Pelvic cavity. *Clinical Anatomy for Medical Students.* Third ed. Boston, Toronto. Little, Brown and Company. 1986. 331-71,
10. Williams P, Warwick R. Splanchnology. *Gray's Anatomy,* Edinburgh, London, Melbourne and New York. Churchill Livingstone. 1980. 1228-1465.
11. McNeal J. Prostate. Stenberg S. *Histology for Pathologists.* Second ed. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers. 1997. 997-1018,.
12. Burak T, Bülent S. Alt üriner sistem ve erkek genital sistem anatomisi. Çeviri Editörleri: Kadri A, M. Önder Y: *Campbell Üroloji.* 2005. Sekizinci Baskı Cilt 1:41-70.
13. Oyen R, Van de Vorde W, Van Poppel H, Brys P, Emeye F, et al. Benign hyperplastic nodules that originate in the peripheral zone of the prostate gland. *Radiology.* 1993. 189: 707-711.
14. McNeal J. The zonal anatomy of the prostate (abstract). *Prostate.* 1981. 2(1): 35-49.
15. Yörükoğlu K. Prostat kanseri patolojisi. *Prostat Kanseri Tanı ve Tedavi. Üroonkoloji Derneği Yayınları-2.* 2004. 7-34.

16. Epstein J. The Normal and Hyperplastic Prostate. Prostate Biopsy İnterpretation. Second ed. Philadelphia, New York. Lippincott-Raven Publishers. 1995. 1-13.
17. Bařaklar C. Ürogenital sistem. Langman's Medikal Embriyoloji. Palme Yayıncılık. 1993. 246-282.
18. Polat S. Ürogenital sistem. Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H. İnsan Embriyolojisi. 2002. 303-348.
19. Epstein J. Neuroendocrine Differentiation in the Benign and Malignant Prostate. Prostate Biopsy İnterpretation. Second ed. Philadelphia, New York. Lippincott-Raven Publishers. 1995. 179-185.
20. Grönberg H. Prostate cancer epidemiology. The Lancet. 2003. 361: 859-64.
21. American Cancer Society: Cancer facts and figures. Atlanta, GA: American Cancer Society. 2005.
22. Hankey B, Feuer E, Clegg L, Hayes R, Legler J, et al. Cancer Surveillance Series: İnterpreting trends in prostate cancer- Part-I: Evidence of the effects of screening in recent prostate cancer incidence mortality, and survival rates. Journal of the National Cancer Institute. 1999. 91(12): 1017- 1024.
23. Reiter R, Kernion J. Epidemiology, Etiology, and Prevention of Prostate Cancer. In: Walsh P, Retik A, Vaughan E, Wein A. Campbell's Urology. 2002. Volume 4: 3003-3024.
24. Neri D, Bicknell R. Tumor vascular targetting. Naturel Rev Cancer 2005.5:436-446.
25. Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ et al. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate specific antigen level < 4.0 ng per milliliter. N Engl J Med 2004. 350: 2239- 2246.
26. Catalona WJ, Loeb S: Making prostate specific antigen testing more effective. Urol Oncol 2006.24:177-179.
27. Ross J, Sheehan C, Dolen E, Kallakury B. Morphologic and molecular prognostic markers in prostate cancer. Advances in Anatomic Pathology. 2002. 9(2): 115-128.
28. Pins M, Betlej T, Dysico G, Spitz D. Male Genitourinary System. In: Haber M, Gattusu P, Spitz D, David O. Differential Diagnosis in Surgery Pathology. 2002. 519-90.

- 29.** Montironi R, Bostwick D, Bonkhoff H, Cockett A, Helpap B, et al. Workgroup 1: Origins of prostate cancer. *Cancer*. 1996. 78(2): 362-5.
- 30.** Carter H. Diagnosis and staging of prostate cancer. In: Walsh P, Retik A, Vaughan E, Wein A (eds). *Campbell's Urology*. 2002. Volume 4. 3055-3079.
- 31.** Aus G., Abbou C., Bolla M., Heidenreich A., van Poppel H., Schimid H., Wolff J, Zattoni F. Guidelines on prostate cancer, EAU Guidelines. 2005. 1–106.
- 32.** Grignon DJ, Hammond EH. College of American Pathologists Conference XXVI on clinical relevance of prognostic markers in solid tumors. *Arch Pathol Lab Med*. 1995. 119: 1122-1126.
- 33.** Epstein J. Pathology of Prostatic Neoplasia. In: Walsh P, Retik A, Vaughan E, Wein AJ (eds). *Campbell's Urology*. 2002. Volume 4: 3025-3037,.
- 34.** Gleason DF. Histologic grading of prostate cancer: A perspective. *Hum Pathol* 1992. 23: 273-279.
- 35.** Montie J. Current prognostic factors for prostate carcinoma. *Cancer*. 1996. 78: 341- 4.
- 36.** Partin A, Kattan M, Subong E et al: Combination of prostate-specific antigen, clinical stage and Gleason score to predict pathological stage of localized prostate cancer, *JAMA*. 1997. 277: 1445-51.
- 37.** Epstein J. Grading of prostatic adenocarcinomas. *Prostate Biopsy Interpretation*. Second ed. Philadelphia, New York. Lippincott-Raven Publishers. 1995. 65-85.
- 38.** Matsuno F, Haruta Y, Kondo M, Tsai H, Barcos M, et al. Induction of lasting complete regression of preformed distinct solid tumors by targeting the tumor vasculature using two new anti-endoglin monoclonal antibodies. *Clin Can Res*. 1999. 5: 371-82.
- 39.** Peterson R. Prostate and seminal vesicles. In: *Urologic Pathology*. 1992.575-648.
- 40.** Bastacky SI, Walsh PC, Epstein JI. Relationship between perineural tumor invasion on needle biopsy and radical prostatectomy capsular penetration in clinical stage B adenocarcinoma of the prostate. *Am J Surg Pathol*.1993.17(4):336-41
- 41** Byar DP, Mostofi FK.Carcinoma of the prostate: Prognostik evaluation of certain pathologic features in 208 radical prostatectomies. Examined by the step–section technique. *Cancer* 1972.30:5-13.

- 42.** Algaba F, Arce Y, Oliver A, Barandica C, et al. Prognostic parameters other than gleason score fort he daily evaluation of prostate cancer in needle biopsy. Eur Urol.2005.48:566-71.
- 43.** Vargas SO, Jiroutek M, Welch WR, et al .Perineural invasion in prostate needle biopsy specimens. Corelation with ekstraprostatic extension at resection. Am J Clin Pathol.1999.111:223-8.
- 44.** Cross M, Dexter TM: Growth factors in development, transformation, and tumorigenesis.Cell1991.64:271-280.
- 45.** Dr. Osman İnci: Moleküler genetik ve kanser biyolojisi. Çeviri Editörleri: M. Kadri A, M. Önder Y. Campbell Üroloji Sekizinci Baskı. 2005. Cilt 4: 2631.
- 46.** Stearns M,Tran J,Francs MK, et al. Activated Ras enhances insulinlike growth factor 1 inducton of vascular endothelial growth factor in prostate epthelial cells. Cancer Res. 2005.65(6):2085-2088
- 47.** Elledge SI: Cell cycle checkpoints: Preventing an identity crisis. Science 1996.274:1664-1672.
- 48.** Hollstein M,Sidransky D,Volgelstein B,Haris CC: p53 mutations human cancers. Science 1991.253:49-53
- 49.** Grignon DJ, Caplan R, Sarkar FH, et al.p53 status and prognosis of locally advanced prostatic adenocarcinoma: A study based onb RTOG 8610. J Nalt Cancer Inst. 1997.89:158-165.
- 50.** Meyers FJ, Gumerlock PH, Chi SG, et al. Very frequent p53 mutasyon in metastatik prostate and in matched primary tumors.Cancer1998; 83:2534-2539.
- 51.** Ming TC, Hung CL, Huey KS, Ming DY, YU LS, Cheng CC, Mu HY, Hang SL, Da WC, Ya WL. SFRP1 and SFRP2 suppress the transformation and invasion abilities of cervical cancer cells through Wnt signal pathway. Gynecologic Oncology 2009.112:646-653.
- 52.** Dr. Doğan AL: Hücre döngüsü ve hücre içi haberci sistemleri, Ed: Özen H, Türkeri L, Üroonkoloji kitabı birici basım,2007. cilt 1:15-24
- 53** Liu XF, Kong FM, Xu Z, Yu SP, Sun FB, Zhang CS, Huang OX, Zhou XT,Song ZW.Promoter hypermethylation of death-associated protein kinase gene in cholangiocarsinoma. Hepatobiliary Pancreat Dis Int.2007.6:407-11.

54. Britschgi C, Rizzi M, Grob TJ, Tschan MP, Hügli B, reddy VA, Andres AC, Torbett BE, Tobler A, Fey MF. Identification of the p53 family-responsive element in the promoter region of the tumor suppressor gene hypermethylated in cancer 1. *Oncogene*.2006.25:2030-9.
55. Han J,Hankinson SE, De Vivo I. Polymorphisms in ⁰⁶ methylguanine DNA methyltransferase and endometrial cancer risk. *Carcinogenesis*. 2006.27:2281-5.
56. DeWolf WC and Gaston SM The cell cycle and its relevance to urologist. *J Urol*.2004.171:1674-81
57. SherrCI: cancer cell cycles. *Science* 1996.274:1672-1677.
58. Resnitzky D,Gossen M,Bujard H,Reed SI: Acceleration of the G1/S phase transition by expression of cyclinsD1 and E with an inducible system. *Mol Cell Biol* 1994.14:1669-1679.
59. Strauss M, Lukas J, Bartek J:Unrestricted cell cycling and cancer. *Nat Med*.1995.1:1245-1246.
60. Kerr JFR, Wyllie AH and Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972.26.239.
61. Dr. Doğan AL: Apoptozis ve ürolojik tümörler açısından önemi, Ed: Özen H, Türkeri L, Üroonkoloji kitabı birici basım,2007. cilt 1:25-32
62. Riedl SJ and Shi Y. Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2004.5:897-907.
63. Jiang Y, Bressler J, Beaudet LA. Epigenetics and human disease. *Annu Rev Genet* 2004. 5:479-510
64. Robertson DK. DNA methylation and human disease. *Nature Rev Genet* 2005. 6:597-610.
65. Jones AP, Baylin BS. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nature Rev Genet* 2002. 3:415-8
66. Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones AP. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* 2004. 429:457-63
67. Cooper MG, Hausman ER. *The cell a molecular approach*.3rd ed. USA, 2004. 150-4.
68. Klung SW, Cummings RM. Genetik kavramlar (concepts of genetics. 6. baskıdan çeviri, Çev. Ed. Öner C.). 2002. 434-42.

- 69.** Strahl DB, Allis D. The language of covalent histone modifications. *Nature* 2000. 403:41-5.
- 70.** Grant AP. A tale of histone modifications. *Genome Biol* 2001. 2:1-6.
- 71.** Peterson LC, Laniel M. Histones and histone modifications. *Curr Biol* 2004. 14:546-51.
- 72.** Lizuka M, Smith MM. Functional consequences of histone modifications. *Curr Opin Genet Dev* 2003. 13:154-60.
- 73.** Saraydaroğlu Ö, Özuysal S, Bilgin T. İnvaziv serviks karsinomlarında anjiogenezin prognostik faktörler üzerine etkisi. *Türk Patoloji Dergisi*. 2004. 20(1-2): 14-17.
- 74.** Grönberg H. Prostate cancer epidemiology. *The Lancet*. 2003. 361: 859-64.
- 75.** American Cancer Society: Cancer facts and figures. Atlanta, GA: American Cancer Society. 2005.
- 76.** Weidner N, Carrol P, Flax J, Blumenfeld W, Folkman J. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma. *Am J Pathol*. 1993. 143: 401-409.
- 77.** Lissbrant I, Stattin P, Damber J, Bergh A. Vasculer density is a predictor of cancer-specific survival in prostatic carcinoma. *The Prostate*. 1997. 33: 38-45.
- 78.** Yörükoglu K, Sağol O, Özkara E, Mungan U, Kırkalı Z. Comparison of microvascularization in diagnostic needle biopsies and radical prostatectomies in prostate carcinoma. *Eur Urol*. 1999. 35: 109-112.
- 79.** Brawer M, Deering R, Brown M, Preston S, Bigler S. Predictors of pathologic stage in prostatic carcinoma (the role of neovascularity). *Cancer*.1994. 73: 678-87.
- 80.** Rubin M, Buyyounouski M, Bagiella E, Sharir S, Neugut A, et al. Microvessel density in prostate cancer: Lack of correlation with tumor grade, pathologic stage, and clinical outcome. *Urology*. 1999. 53: 542-7.
- 81.** Bostwick D, Wheeler T, Blute M, Barret D, MacLennan G, et al. Optimized microvessel density analysis improves prediction of cancer stage from prostate needle biopsies. *Urology*. 1996. 48: 47-57.
- 82.** Esteller M, Corn PG, Baylin SB, Herman JG. A gene hypermethylation profile of human cancer. *Cancer Res*.2001. 61:3225–9.

- 83.** Jeronimo C, Usadel H, Henrique R, Oliveira J, Lopes C, Nelson WG & Sidransky D .Quantitation of GSTP1 methylation in non-neoplastic prostatic tissue and organ-confined prostate adenocarcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 2001. 93: 1747-1752.
- 84.** Kang GH, Lee S, Lee HJ, Hwang KS. . Aberrant CpG island hypermethylation of multiple genes in prostate cancer and prostatic intraepithelial neoplasia. *J Pathol.* 2004.202(2):233-40.
- 85.** Maruyama R, Toyooka S, Toyooka KO, Virmani AK, Zochbauer-Muller S, Farinas AJ, Minna JD, McConnell J, Frenkel EP & Gazdar AF Aberrant promoter methylation profile of prostate cancers and its relationship to clinicopathological features. *Clin Cancer Res.* 2002. 8 514-519.
- 86.** Yegnasubramanian S, Kowalski J, Gonzalo ML, Zahurak M, ġiantadosi S, Walsh PC, Bova GS, De Marzo AM, Isaacs WB, Nelson WG. Hypermetilatioon of CpG islands in primary and metastatic human prostate cancer. *Cancer Res.* 2004.15;64(6):1975-86.
- 87.** Kekeeva TV,Popova OP,ShegaiPV,Aleksevv BIa,Andreeva IuIu,Zaletaev DV,Nemtsova MV.Abberant methylation of p16,HIC1,N33 and GSTP1 genes in tumor epitelyumium and tumor associated stromal cells of prostate cancer.*Mol. Biol.*2007.41(1):79-85.
- 88.** Konishi N, Nakamura M, Kishi M, Nishimine M, Ishida E, Shimada K. DNA hypermethylation status of multiple genes in prostate adenocarcinomas. *Jpn J Cancer Res.*2002.93(7):767-773.
- 89.** Cheng YY, Yu J, Wong YP, Man EP, To KF, Jin VX, Li J, Tao Q, Sung JJ, Chan FK, Leung WK. Frequent epigenetic inactivation of secreted freezed-related protein 2 (SFRP2) by promotor methylation in human gastric cancer. *Br J Cancer.* 2007 8;97(7):895-901.
- 90.** Rathi A, Virmani AK, Harada K, Timmos CF, Miyajima K, Hay RJ, Mastrengelo D, Maitra A, Tomlinson GE, Gazdar AF. Aberran methylation of the HIC1 promoter is a frequent event in spesific pediatric neoplasms. *Clin Cancer Res.* 2003 1;9(10):3678-8.
- 91.** Jeronimo C., Varzim G., Henrique R., Oliveira J., Bento MJ., Silva C., Sidransky, D. I105V polymorphism and promoter Lopes C methylation of the

GSTP1 gene in prostate adenocarcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*; 2002. 11(5):445-50.

92. Ellinger J, Haan K, Heukamp LC, Kahl P, Büttner R, Müller SC, Ruecker AV, and Bastian PJ. CpG Island Hypermethylation in Cell-Free Serum DNA Identifies Patients With Localized Prostate Cancer. *The Prostate* 2008.68:42- 49

93. Miyamoto K, Ushijima T, Diagnostic and therapeutic application of epigenetics. *Jpn J Clin Oncol* 2005.35.293-301.

94. Laird WP. The power and promise of DNA methylation markers. *Nature Rev Genet* 2003.3:253-66.

95. Bastian PJ, Yegnasubramanian S, Palapattu GS, et al. Molecular Biomarker in prostate cancer: The Role of CpG Island Hypermethylation. *Eur Urol.* 2004;46:698-708.