



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

**PROSTAT ADENOKARSİNOMLARINDA
TÜMÖR İLİŞKİLİ MAKROFAJLARIN HEXİM1/SMAD_{2,7}/TGFβ
DÖNGÜSÜ ÜZERİNE ETKİSİ VE BU ETKİNİN TÜMÖR
PROGRESYONU AÇISINDAN ÖNEMİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Alev OK ATILGAN

ANKARA, 2014



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

**PROSTAT ADENOKARSİNOMLARINDA
TÜMÖR İLİŞKİLİ MAKROFAJLARIN HEXİM1/SMAD_{2,7}/TGFβ
DÖNGÜSÜ ÜZERİNE ETKİSİ VE BU ETKİNİN TÜMÖR
PROGRESYONU AÇISINDAN ÖNEMİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Alev OK ATILGAN

**TEZ DANIŞMANI:
Prof. Dr. B. Handan ÖZDEMİR**

ANKARA, 2014

**02.03.2012 Tarih ve KA 12-49 nolu sayı
Bu Tez çalışması Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.**

TEŞEKKÜR

Bu yaşama olan inancımı kırmadan, beni hep bir adım ileriye taşımak için emek veren hocalarıma; bu yoğun çalışma temposu içerisinde hep saygıyı öğreten ve gülümsemeyi bilen hocalarıma; dantela işler gibi patolojiyi yüreklere, bilgiyi beyinlere işleyen hocalarıma; sevgi dolu yürekleri ile herkesi kucaklayan hocalarıma; bitmeyen şefkatleri ile bu bölümü aile yapan hocalarıma; başta Anabilim Dalı Başkanımız ve tez hocam Prof.Dr. B.Handan ÖZDEMİR olmak üzere Prof.Dr.Özlem ÖZEN'e, Doç.Dr.Nihan HABERAL'a, Yrd.Doç.Dr.Ayşen TERZİ'ye, Yrd.Doç.Dr.Merih TEPEOĞLU'na, Uzm.Dr.Şebnem AYVA'ya, Uzm.Dr.Eda YILMAZ AKÇAY'a, Dr.Yasemin Sezgin'e sonsuz teşekkürler. Daha önce aramızdan ayrılan, yüreğimde hep olan hocalarım Prof.Dr.Beyhan DEMİRHAN'a, Prof.Dr. Banu BİLEZİKÇİ'ye, Uzm.Dr.Eylem AKAR ÖZKAN'a, Uzm.Dr.Çiğdem VURAL'a yarım kalan emekleri için teşekkürler. Tezimin hazırlanışında yardımları için Biyoistatistik Anabilim Dalı'na teşekkürler.

Asistanlık yolculuğumun başında beraber olduğumuz Uzm.Dr.Gülnur GÜVEN ve Uzm.Dr.Berrin ÇAYLAK'a, aramızdan ayrılan Dr.Halit ÜNER'e; birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarım Dr.Semih KAZANCI'ya, Dr.Zeynep TAŞLICA'ya, Dr.Ebru DENİZ'e, Dr.Zeyneb TUNCA'ya ve biyolog arkadaşlarım Özlem ATAOL, Ayşegül YÜCEL POLAT'a, Funda GERÇEKER'e var oldukları, bizimle oldukları için teşekkürler.

Patoloji Anabilim Dalında, gülümsemeleri ve sabırları hiç tükenmeyen birlikte çalıştığımız arkadaşlarım sevgili Ayten ŞAHİN'e, Ümit YILMAZ'a, Neşe GÜNEŞ'e, Sema BEHLÜLGİL'e yardımları için teşekkürler. Patoloji mutfağında birlikte çalıştığımız arkadaşlarım, Halil ÖZCAN'a, Leyla BAŞKAN'a, Fatma YALÇIN'a, Esra ASLAN'a, Hatice ÖZEN'e, Hacer DİKME'ye, Gülnur ÇİFTÇİ'ye teşekkürler. Güleryüzleri ve çalışkanlıkları ile rahat çalışmamız için emek veren Mustafa AKDEMİR'e, Huriye AKSU'ya, aramızdan daha önce ayrılan Sultan DEĞİRMENCİ'ye ve güvenliğimiz Gülden ÜNAL'a teşekkürler.

Yaşama merhaba dememi sağlayan, beni kollayıp yarımına hazırlayan, sevgileriyle yaşatan elleri öpülesi annem Yıldız OK'a, babam Kemal OK'a; sevgilerin en masumanesi olan kardeş sevgisini yaşatan Elif OK'a, Arzu Esra ADIGÜZEL'e, eşi Engin ADIGÜZEL'e ve afacan Çağan Ege ile Kağan Efe'ne sevgiler. Ayrıca sevgileri ve destekleri hep üzerimde olan annem Medine ATILGAN, babam Bekir ATILGAN ve Canan ATILGAN'a sevgiler.

Tüm dünya bir yana sen bir yana dediğim sevgilim, eşim Cem ATILGAN'a ve evrenin tüm güzelliklerini üzerinde toplamış yavrumuz DEFNE'me hayatımı sevgileri ve varlıkları ile anlamlı kıldıkları için...

Hepiniz iyi ki varsınız. Hepinizi çok seviyorum...

Alev OK ATILGAN

ANKARA, 2014

ÖZET

Tümör mikroçevresinin bir komponenti olan tümör ilişkili makrofajların (TAM; Tumor-associated macrophages) bir takım sitokinler salgılayarak tümörün büyümesine, ilerlemesine, anjiyogenezis ve metastaz yapabilme yeteneği kazanmasına yol açtığı bilinmektedir. Bu inflamasyon ilişkili programın onkogenleri aktive etmesi ve sonucunda inflamatuvar durumun kansere yol açtığı düşünülmektedir. Bu yolda ise transkripsiyon faktörleri, sitokinler ve kemokinler rol almaktadır. TAM'lardan salınan "Transforming growth factor β (TGF β)", tümör hücrelerinde büyümeyi tetikler ve endotelde stimülasyona neden olarak tümör vaskülaritesini artırır. TAM' lardan salınan MMP9 tümör stromasında ekstrasellüler matrikste yeniden yapılanma ve sonucunda tümör hücre migrasyonu, invazyonu ve metastazına zemin hazırlamaktadır. TGF β sinyali, nükleusa SMAD bağımlı yol ile aktarılır. Prostat hücre kültürü çalışmasında bu yolda rol alan SMAD2 gen ekspresyon kaybında hücrelerde malign transformasyon olduğu gösterilmiştir. Yine SMAD7 aşırı ekspresyonunun TGF β aracılı karsinogenezis, inflamasyon ve fibrozis etkilerini antagonize ettiği bilinmektedir. Ayrıca HEXİM1 gen heterozigotitesisi sonucu SMAD proteinleri, AR, TGF β bağımlı transkripsiyon faktörleri gibi CDK9 bağımlı proteinlerde artma sonucu prostat kanser oluşumu ve kanser ilerlemesi olabileceği düşünülmüş olup HEXİM1 proteinin TGF β /SMAD aktivitesinde modülatör olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte HEXİM1 ekspresyonun kanserli hücrelerde ve kanser oluşum aşamasında arttığı çalışmalarda gösterilmiştir.

Çalışmamızda Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış 100 prostat karsinom olgusu retrospektif olarak incelendi, H&E kesitleri tekrar gözden geçirildi; klinikopatolojik parametreler değerlendirildi. Ayrıca HEXİM1, TGF β , SMAD2, SMAD7, MMP9, CD68 antikorları immunohistokimyasal yöntem ile tüm olgularda çalışıldı.

Çalışmamızda prostat adenokarsinom progresyonunda TGF β / SMAD2/ SMAD7 döngüsü ve HEXİM1 ekspresyonu üzerinde TAM etkisini araştırmaya çalıştık. TGF β /SMAD2 yolağının prostat adenokarsinomlarında tümör progresyonunu hızlandırdığını, tümör hücre invazyon, migrasyon ve metastaz yeteneğini kazandırdığını bilmekteyiz. Çalışmamızda TGF β /SMAD2 ve HEXİM1 ekspresyon şiddeti yüksek olan tümörlerde lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, ekstrakapsüler yayılımın fazla olduğunu gördük. Ayrıca bu olgularda tümörün Gleason skorunun yüksek olduğunu

saptadık. SMAD7'nin TGF β 'nin etkilerini antagonize ederek, karsinom progresyonunu engellediğini bilmekteyiz. Çalışmamızda da SMAD7 ekspresyon şiddeti fazla olan olgularda ekstrakapsüler yayılımın az olduğunu, tümörde lenfovasküler invazyon, perinöral invazyonun az olduğunu izledik. Ayrıca TAM'ların prostat kanseri progresyonunda, özellikle TGF β / SMAD2/ SMAD7 döngüsü ve HEXİM1 ekspresyonu üzerinde önemli rol aldığını gösterdik. Bu çalışma sonucunda bu yolda rol alan proteinlerin terapötik tedavi potansiyeli olabileceklerini düşünmekle beraber bu konuda daha fazla olgu üzerinde çalışma yapılması gerektiğini söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Tümör İlişkili Makrofaj, TAM, HEXİM1, TGF β /SMAD yolağı

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR	v
ŞEKİLLER.....	vi
RESİMLER	vii
TABLolar	ix
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Prostat Embriyolojisi.....	3
2.2. Prostat Anatomisi	5
2.3. Prostatın Zonal Anatomisi.....	6
2.4. Prostat Histolojisi	7
2.5. Prostatın Makroskopik Örneklemesi	9
2.6. Prostatik Tümörlerin Sınıflandırılması (WHO 2004)	10
2.7. Prostat Adenokarsinomu	10
2.8. Prostat Adenokarsinom Varyantları	13
2.9. Histopatolojik Derecelendirme	20
2.10. Evreleme	26
2.11. Tedavi.....	29
2.12. Prostat Adenokarsinomunda Prognostik Faktörler.....	30
2.13. DNA Transkripsiyonu	37
2.14. Hücre ve Hücre Döngüsü	38
2.15. Tümör İlişkili Makrofajların Tümör Progresyonundaki Rolü.....	39
2.16. Kullanılan İmmunohistokimyasal Belirteçler Hakkında Bilgiler.....	40
GEREÇ VE YÖNTEM	47
3.1. Olguların Genel Özellikleri.....	47
3.2. Hematoksilen&Eozin (H&E) Boyalı Kesitlerin Değerlendirilmesi.....	47
3.3. İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemleri.....	48
3.4. İmmunohistokimyasal Olarak Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi.....	50
3.5. İstatiksel Analiz.....	59
BULGULAR	60
TARTIŞMA	80
SONUÇ	93
KAYNAKLAR	94

KISALTMALAR

TGFβ	: “Transforming Growth Factor β ”
TβR	: Transforming Growth Factor Reseptörü
TAM	: Tumor-associated macrophages (Tümör İlişkili Makrofaj)
CDK	: Cyclin Dependent Kinase (Siklin bağımlı kinaz)
HEXİM1	: Hexamethylene bisacetamide (HMBA)-inducible protein 1
P-TEFb	: Pozitif-Transkripsiyon Elongasyon Faktör b
PSA	: Prostat Spesifik Antijen
PAP	: Prostat Asit Fosfataz
HMWCK	: Yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin
AJCC	: American Joint Committee on Cancer
ISUP	: International Society of Urological Pathology
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
RNA	: Ribo Nükleik Asit
mRNA	: Messenger Ribo Nükleik Asit
MMP9	: Matriks Metalloproteinaz 9

ŞEKİLLER

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Prostatın embriyolojik gelişimi	4
Şekil 2. Prostatın zonal anatomisi	7
Şekil 3. Türkiyede erkekler arasında en sık tanı alan kanserler ve en sık ölüme yol açan kanserler	11
Şekil 4. Gleason Gradeleme orijinal çizimleri	21
Şekil 5. Hücre döngüsünün şematik gösterilmesi	38
Şekil 6. TAM'ların hücre üzerine etkileri	40
Şekil 7. HEXİM1 proteinin hücre nükleusunda küçük P-TEFb ile birleşerek büyük P-TEFb kompleksi oluşturmasının şematik gösterilmesi.....	41
Şekil 8. HEXİM1 proteinin CDK9 üzerinden hücre transkripsiyonuna etkisinin şematik gösterilmesi	42
Şekil 9. TGFβ/SMAD yolağının şematik gösterilmesi.	45
Şekil 10. Biyokimyasal PSA rekürrensini Kaplan Meier eğrisi ile gösterilmesi	78
Şekil 11. Biyokimyasal PSA rekürrensi üzerine immunohistokimyasal belirteçlerin etkisinin Kaplan Meier eğrisi ile gösterilmesi	79

RESİMLER

	<u>Sayfa</u>
Resim 1. Duktal adenokarsinomun mikroskopik görünümü (x100 büyütme)	15
Resim 2. Atrofik adenokarsinomun mikroskopik görünümü (x200 büyütme)	15
Resim 3. Psödohiperplastik tip adenokarsinomun mikroskopik görünümü (x40 büyütme).....	16
Resim 4. Foamy gland karsinomun mikroskopik görünümü (x100 büyütme).....	16
Resim 5. Müsinöz adenokarsinomun mikroskopik görünümü (x100 büyütme)	18
Resim 6. Taşlı yüzük hücreli karsinomun mikroskopik görünümü (x100 büyütme).....	18
Resim 7. Glomerüloid özellikler içeren adenokarsinomun mikroskopik görünümü (x100 büyütme).....	19
Resim 8. Derece 2; stromayla çevre benign dokudan ayrılmış nispeten iyi sınırlı nodül oluşturan prostat asiner adenokarsinomu (x100 büyütme)	23
Resim 9. Derece 3; düzenli glandüler yapılardan oluşan prostat asiner adenokarsinomu (x200 büyütme).....	23
Resim 10. Derece 4; dış kenarları zigzaglı gruplardan oluşan prostat asiner adenokarsinomu (x200 büyütme).....	24
Resim 11. Derece 4; birbirleriyle birleşen ve kribriform yapı oluşturan glandlardan oluşan prostat asiner adenokarsinomu (x40 büyütme)	24
Resim 12. Derece 5; komedonekroz içeren kribriform gland yapılarından oluşan prostat asiner adenokarsinomu (x100 büyütme).....	25
Resim 13. Derece 5; solid tabakalardan oluşan prostat asiner adenokarsinomu (x100 büyütme)	25
Resim 14. Derece 5; Tek hücre kordonlarından oluşan prostat asiner adenokarsinomu (x200 büyütme).....	26
Resim 15. Ekstrakapsüler yayılım; nörovasküler demet içerisinde tümör grupları görülmektedir (x100 büyütme).....	33
Resim 16. Ekstrakapsüler yayılım; periprostatik yağ doku içinde tümör hücre grupları izlenmektedir (x100 büyütme).....	33
Resim 17. Tümörün cerrahi sınır boyası ile bitişik olduğu görülmektedir (x100 büyütme).....	34

Resim 18. Prostat asiner adenokarsinomunun vezikula seminalise invazyonu (x40 büyütme)	34
Resim 19. Lenfovasküler invazyonun mikroskopik görünümü (x200 büyütme)	36
Resim 20. Perinöral invazyonun mikroskopik görünümü (x200 büyütme)	36
Resim 21. CD68 antikoru ile skor 3 TAM yoğunluğu (x400 büyütme).....	50
Resim 22. Hafif derecede nükleer HEXİM1 ekspresyonu (x200 büyütme).....	52
Resim 23. Orta derecede nükleer HEXİM1 ekspresyonu (x200 büyütme).....	52
Resim 24. Şiddetli derecede nükleer HEXİM1 ekspresyonu (x200 büyütme).....	53
Resim 25. Hafif derecede nükleer ve sitoplazmik SMAD7 (x200 büyütme).....	53
Resim 26. Orta derecede nükleer ve sitoplazmik SMAD7 (x200 büyütme).....	54
Resim 27. Şiddetli derecede nükleer ve sitoplazmik SMAD7 (x200 büyütme).....	54
Resim 28. Hafif derecede sitoplazmik SMAD2 ekspresyonu (x200 büyütme)	55
Resim 29. Orta derecede sitoplazmik SMAD2 ekspresyonu (x200 büyütme).....	55
Resim 30. Şiddetli derecede sitoplazmik SMAD2 ekspresyonu (x200 büyütme)	56
Resim 31. Hafif derecede nükleer ve sitoplazmik TGFβ ekspresyonu (x200 büyütme).....	56
Resim 32. Orta derecede nükleer ve sitoplazmik TGFβ ekspresyonu (x200 büyütme).....	57
Resim 33. Şiddetli derecede nükleer ve sitoplazmik TGFβ ekspresyonu (x200 büyütme).....	57
Resim 34. Hafif derecede sitoplazmik MMP9 ekspresyonu (x200 büyütme).....	58
Resim 35. Orta derecede sitoplazmik MMP9 ekspresyonu (x200 büyütme)	58
Resim 36. Şiddetli derecede sitoplazmik MMP9 ekspresyonu (x100 büyütme).....	59

TABLULAR

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Prostat tümörlerinin Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2004 yılı histolojik sınıflaması	10
Tablo 2. Prostat Kanserlerinde Histolojik Derecelendirme (AJCC, 7th edisyon, 2010)	27
Tablo 3. Prostat Kanserlerinde TNM Sınıflaması (AJCC, 7th edisyon, 2010)	27
Tablo 4. Prostat Kanserlerinde Evreleme (AJCC, 7th edisyon, 2010).....	29
Tablo 5. Gleason Skor ile Klinik Evreler ve Patolojik T Evreleri arasındaki ilişki	61
Tablo 6. Klinikopatolojik bulguların korelasyonu	65
Tablo 7. PSA Rekürrensi, Gleason skor, klinik ve patolojik T evrelerinin prognostik faktörler ile korelasyonu	66
Tablo 8. TAM Sayısı, HEXİM1 ekspresyonu ve TGFβ ekspresyonu ile klinikopatolojik bulguların korelasyonu	69
Tablo 9. SMAD2, SMAD7 ve MMP9 ekspresyonu ile klinikopatolojik bulguların korelasyonu.....	70
Tablo 10. TAM Sayısı, HEXİM1 ekspresyonu ve TGFβ ekspresyonu ile klinik bulguların korelasyonu.....	71
Tablo 11. SMAD2, SMAD7 ve MMP9 ekspresyonu ile klinik bulguların korelasyonu	71
Tablo 12. TAM Sayısı ile diğer immunohistokimyasal bulguların korelasyonu	74
Tablo 13. HEXİM1 ekspresyonu ile diğer immunohistokimyasal bulguların korelasyonu	74
Tablo 14. TGFβ ekspresyonu ile diğer immunohistokimyasal bulguların korelasyonu	74
Tablo 15. SMAD2 ekspresyonu ile diğer immunohistokimyasal bulguların korelasyonu	75
Tablo 16. SMAD7 ekspresyonu ile diğer immunohistokimyasal bulguların korelasyonu	75
Tablo 17. MMP9 ekspresyonu ile diğer immunohistokimyasal bulguların korelasyonu	75
Tablo 18. Cox Regresyon analizi sonucu biyokimyasal PSA rekürrensini etkileyen faktörler	78

GİRİŞ VE AMAÇ

Prostat adenokarsinomu tüm prostat malignitelerinin yaklaşık olarak %95'ini oluşturmaktadır (1). Dünyada erkeklerde akciğer kanserlerinden sonra ikinci en sık görülen kanser türü olup erkeklerde kanser ölümlerinde 2. sırayı almaktadır (2, 3). Prostat adenokarsinomları %97 oranında 50 yaş ve üstü hastalarda görülmektedir (3). İlerleyen yaş ile beraber görülme sıklığı ve riski artmaktadır (4). Değişik etnik gruplarda prostat adenokarsinom insidansı farklılıklar göstermektedir. Bunun nedeninin genetik pleomorfizm olduğu düşünülmektedir (1, 5).

Yapılan çalışmalar ile atrofik lezyonların prostat karsinogenezinde erken evre bir oluşum olduğu gösterilmiştir. Basit atrofik lezyonlarda lümen ve stromada mononükleer inflamatuvar hücreler bulunmaktadır. Atrofik dokuda bulunan makrofajlar tarafından üretilen reaktif oksijen radikalleri ve reaktif nitrojen radikalleri sonucunda dokuda superoksit $O_2^{\cdot-}$ Hidrojen Peroksit (H_2O_2), Hidroksil radikalleri, serbest demir (Fe) artar. Bunun sonucu DNA hasarı ve genetik mutasyonlar ile kanser gelişimi meydana gelir. Böylece uzun süren kronik inflamasyonun indüklediği oksidatif stres sonucunda karsinogenez mekanizmasının tetiklendiği düşünülmektedir (6).

Yapılan çalışmalar ve araştırmalar sonucunda tümör ilişkili makrofajların (TAM; Tumor-associated macrophages) ile kanser arasında ilişki olduğu saptanmıştır. İnflamatuvar mikroçevrenin tümör gelişimi ve ilerlemesinde etkili olduğu bulunmuştur. Bu iki antiteyi birbirine bağlayan durumun inflamasyonun onkogenleri aktive etmesi ve sonucunda inflamatuvar durumun kansere yol açması olarak düşünülmektedir. Bu yolda ise transkripsiyon faktörleri, sitokinler ve kemokinler rol almaktadırlar (6).

“Transforming growth factor β ” (TGF β) normal hücre siklusuna sahip hücrelerde CDK inhibitörlerinden p15 ve p21'i up-regüle ederek hücrenin G1 fazında durmasını sağlar ve hücre bölünmesini engeller. Ayrıca pro-apoptotik Bax genini up-regüle ederek ve anti-apoptotik Bcl2 genini down-regüle ederek apoptozisi stimüle etmekte olup normal hücrelerde tümör baskılayıcı etkilidir (7, 8). Kanser gelişiminde ise TGF β 'ya karşı direnç geliştiği bilinmektedir. Bunun yanı sıra T β R'lerinde kayıp ve TGF β sinyal iletim yolağında yer alan proteinlerde mutasyon ve seviyelerinde değişim olabileceği de düşünülmektedir (7, 9, 10, 11). Dokuda kanser oluşuktan sonra kanser hücrelerinde üretilen TGF β 'nın otokrin ve parakrin etkileri normal hücrelerde görülen etkilerinden daha farklıdır. TGF β tümör hücre invazyonunu, migrasyonunu, yaşam süresini artırarak, epitelyal mezenkimal

transformasyonu sağlayarak, anjiyogenezise yol açmaktadır. Böylece kanserde TGFβ'nin artışı ileri evre ve metastaz ile sonuçlanmaktadır (7, 9, 10, 11). Ayrıca kanser hücreleri ekspresse ettikleri tümör spesifik antijenler nedeniyle immun sistem tarafından tanınırlar ve bu tümör hücrelerinde destrüksiyona yol açarlar. Ancak tümör hücrelerinden salgılanan TGFβ, aktive kanser hücresi aracılı immunosupresyona neden olur ve kanser hücreleri immun mekanizmadan kaçarlar. TGFβ'nin immunosupressif etkisi T hücreleri ve makrofaj gibi antijen sunan hücreler (APCs) üzerinden gerçekleşir (9, 10). Bu da bize kanserin ilerlemesinde TAM'ların TGFβ yolağı üzerinden etkisinin ne kadar önemli olduğunu göstermektedir.

TGFβ sinyali, nükleusa SMAD bağımlı yol ile aktarılır. TGFβ/SMAD yolağında, TGFβ sinyalini, hücre membran reseptörleri olan TβRI ve TβRII ile hücre içine aktarır. TβRI transkripsiyon faktör ailesinden olan SMAD2 ve SMAD3 proteinlerini fosforilize ederek intrasellüler sinyal iletimini başlatır. Sitoplazmada fosforilize olan SMAD2 ve SMAD3'e SMAD4'de katılarak sitoplazmadan nükleusa transkripsiyon hedef genlerini aktive etmek için geçerler. SMAD7, SMAD2 ve SMAD3'ün fosforilizasyonunu ve TGFβ sinyalini inhibe eden inhibitör SMAD'dır (9, 10, 12, 13).

Hücre siklusundaki G1 fazında rol alan CDK8 ve CDK9, SMAD2/3/4 kompleksini fosforile eder ve SMAD bağımlı transkripsiyonu aktive eder. Ayrıca CDK8 ve CDK9 ana görevlerinden birisi DNA transkripsiyondan sorumlu RNA Polimeraz enzimini aktive etmek ve onun regülasyonunu kontrol etmektir (14). HEXİM1 proteini, CDK9'u bloke ettiği bilinen tek proteindir. HEXİM1 proteini 7SK snRNA ile birleştiğinde yapısal bir değişikliğe uğrayarak, P-TEFb'yi oluşturan CDK9'a bağlanır ve Cdk9'un kinaz aktivitesini inhibe eder. Böylece CDK9'un RNA polimeraz II enzimini aktive etmesine engel olarak, transkripsiyonun uzama fazını bloke eder. Sonuç olarak, hücre G1 fazından S fazına geçemez ve hücre siklusu G1 fazında durur (15, 16). Bu noktada TGFβ/SMAD sinyal yolağı ile HEXİM1 proteinin rolleri CDK9 üzerindeki etkileri nedeniyle, hücre siklusunun G1 fazında kesişmektedir. Kanser oluşumunda ve progresyonunda bu yolakların ve proteinlerin etkisinin ne olduğuna dair çalışmalar yapılmaktadır.

Bizim bu çalışmadaki amacımız TAM'ların TGFβ/SMAD_{2,7} yolağına ve HEXİM1 protein ekspresyonu üzerine olan etkisini araştırmak ve bu yolakların prostat adenokarsinomunun progresyonu üzerine etkisinin nasıl olduğunu göstermektir.

GENEL BİLGİLER

2.1. Prostat Embriyolojisi

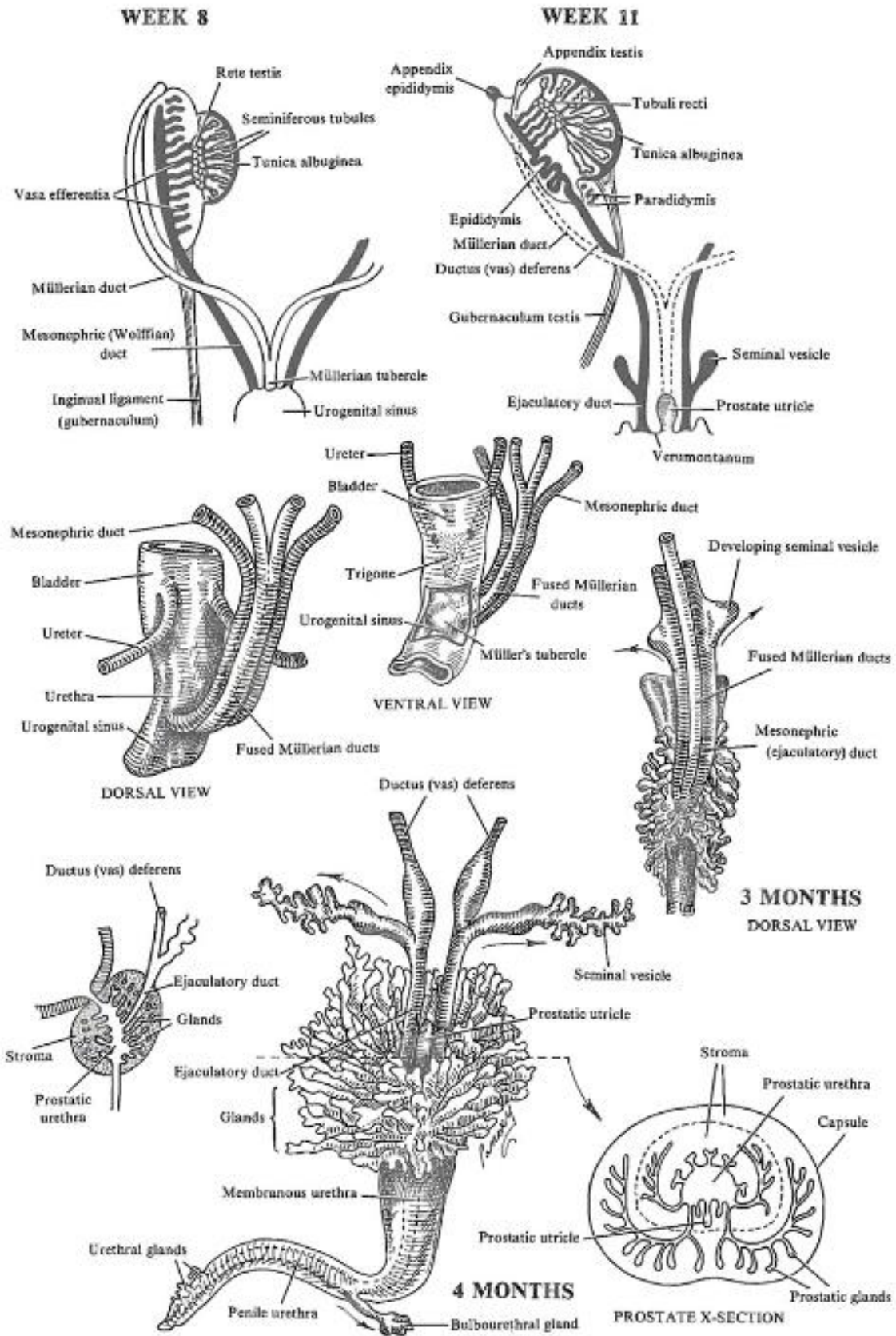
Embriyonik yaşamın 4-7.haftaları arasında kloaka, ürorektal septum tarafından arkada anorektal kanal ve önde primitif ürogenital sinüs olmak üzere 2 kısıma ayrılmaktadır. 5.haftada Mezonefrik (Wolffian) kanal distali ile Paramezonefrik (Müllerian) kanal, primitif ürogenital sinüs arkasında birleşerek Müllerian tüberkül'ü oluştururlar. Müllerian tüberkül primitif ürogenital sinüsü, üstte veziko-üretral kanal ve altta ürogenital sinüs olmak üzere iki parçaya ayırır (17).

Ürogenital sinüs üst kısım, pelvik kısım ve fallik kısım olmak üzere 3'e ayrılır. Ürogenital sinüsün üst kısmından trigon-dışı mesane gelişir; pelvik kısımdan prostatik ve membranöz üretra ile prostat glandı (transizyonel ve periferik zon) gelişir; fallik kısımdan ise penil üretra gelişir (18).

Mezonefrik (Wolffian) kanaldan testosteron hormonu uyarısıyla, 13.haftaya kadar epididim, vas deferens, ejakulator kanal, veziküla seminalis ve prostatın santral zonu gelişir. Ayrıca Mezonefrik (Wolffian) kanaldan mesane trigonu, ureter gelişir. Paramezonefrik (Müllerian) kanal erkeklerde 11.haftada utrikül olarak regrese olur (1, 18).

10.haftada Mezonefrik (Wolffian) kanal orifisi çevresinde, ürogenital sinüs kaynaklı posteriyor üretra epitelinde proliferasyon başlar. Verumontanumun her iki yanında 5 adet epitelyal tomurcuk prostat glandını oluşturmak üzere, üretrayı çevreleyecek biçimde, mezonefrik ve paramezonefrik mezenkim (stroma) içine doğru duktular gelişim meydana gelir. Prostat gelişimi ve büyümesi fetal testislerce gebeliğin 8.haftasından itibaren üretilen, testosteron hormonunun ürogenital sinüs epitelinde bulunan 5 alfa redüktaz enzimi ile 5 alfa dihidrottestosterona çevrilmesi ve bu hormonun etkisi ile olmaktadır (1). Prostat glandlarının sekresyon aktivitesi de ortalama 13.haftada gerçekleşir (17) (Şekil 1).

Neonatal prostat 1 cm'den daha küçüktür. Postnatal prostat gelişimi yavaş olmakla beraber pubertede 2cm'den daha küçüktür. Ancak puberte sonrasında 20. yaşa kadar büyüme ve matürasyon gerçekleşir (1, 19).



Şekil 1. Prostatın embriyolojik gelişimi (Review of Medical Embryology. Pansky B, 1982)

2.2. Prostat Anatomisi

Prostat bezi ters koni biçiminde olan prostatik üretrayı çevreleyen fibromusküler ve glandüler bir organdır. Genital eklenti bezlerinin en büyüğüdür. Genç erişkin bir erkekte yaklaşık olarak 20 gr ağırlığındadır (1). Tabanının sağ-sol çapı 4.5 cm, ön-arka çapı 3.5-4 cm, yüksekliği 3 cm'dir (19). Mesane boynuna yakın olan kısmında prostat tabanı, ürogenital diafragma ya yaslanan tarafına prostat apeksi adı verilmektedir (20). Prostat tabanı üstte mesane boynu ile devam eder. Üretra prostat tabanının ortasından yaklaşık 35° açı ile giriş yapmaktadır (1). Prostatın apeksi ürogenital diafram üzerinde uzanır. Üretra prostatı ön yüzde apeksin hemen üstünden terk eder. Prostatın ön yüzü symphysis pubica ile komşudur. Bunları birbirinden retropubik boşlukta (Retzius aralığı) yer alan ekstraperitoneal yağ dokusu ayırır. Prostatın fibröz kılıfı puboprostatik ligamentler aracılığıyla pubik kemiklerin arka yüzleri ile bağlantılıdır. Prostatın arka yüzü ampulla rectinin ön yüzü ile komşudur. Bunları septum rektovesikale (Denonvillier fasyası) ayırır. Prostatın lateral yüzleri ise m.levator ani'nin pubisten arkaya doğru uzanan ön lifleri tarafından sarılmıştır (20).

Prostat bezi geleneksel olarak sınırları kesin olmayan 5 loba ayrılmaktadır (20). Ön Lob (lobus anteromedialis) üretranın önünde yer alan glandüler dokudan yoksun bölgedir. Medyan ya da Orta Lob (lobus medius) üretra ile ejakulator duktuslar arasında kalan üçgen bölgedir. Glandüler dokudan zengindir. Bu lob yukarıda mesane trigonu ile komşuluk yapmaktadır. Arka Lob (lobus interoposterior) üretranın arkasında ve ejakulator duktusların altında kalan bölgedir. Glandüler doku içermektedir. Sağ ve sol yan loblar (lobi inferolateralis) üretranın her iki yanında yer alırlar. Bunları prostatın arka yüzünde vertikal bir yüzeyel oluk birbirinden ayırır. Lateral loblarda çok sayıda gland içerirler.

Kanlanması:

Arterler: Prostatın kanlanması a.vesicalis inferior ve a.rectalis media'dan gelen dallar aracılığı ile olmaktadır.

Venleri: Prostatik venöz pleksus (plex.venosus prostaticus) prostat kapsülü ile fibröz kılıfı (pelvik fasiyanın viseral tabakası) arasında bulunmakta olup derin dorsal penis venleri ve çok sayıda vezikal venler ile birleşerek vena iliaca interna'ya drene olmaktadır.

Lenfatik Drenaj: Prostatın lenfatik damarları internal iliak düğümlere (n.l.iliaci interni) drene olmaktadır.

İnnervasyonu:

Prostat bezinin sinir ağı inferiyor hipogastrik pleksus (plex.hypogastricus inferior) tarafından sağlanmaktadır. Sempatik sinirler ejakulasyon sonrasında prostatın düz kaslarını uyarırlar.

Prostatik Üretra:

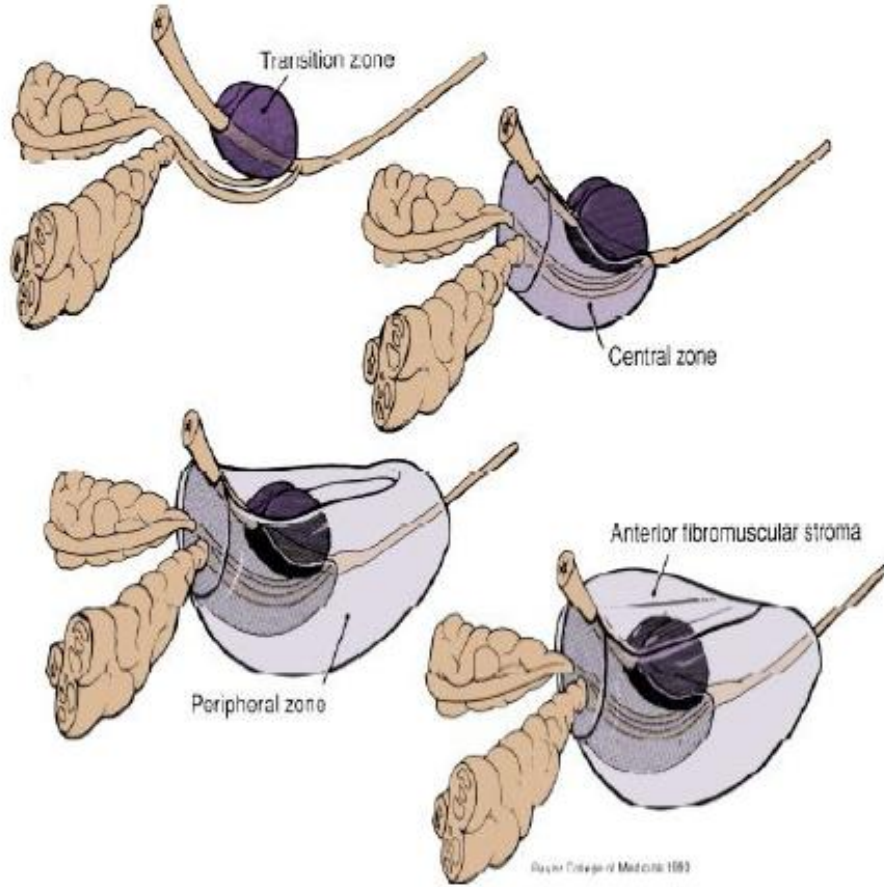
Prostatik üretra, mesane boynundan başlar ve yaklaşık 3 cm uzunluğundadır. En geniş ve en çok genişleyebilen üretra kısmıdır. Prostatik üretranın arka duvarında üretral krest (crista urethralis) adı verilen longitudinal bir kabartı vardır. Bu kabartının her iki yanında yer alan ve prostatik sinüs (sinus prostaticus) adıyla bilinen oluklara çok sayıda deliklerle prostatik bezlerin kanalcıkları açılmaktadır. Kabartının tepesine prostatik utrikül (utrículus prostaticus) adı verilen ufak bir divertikül de açılır. İki adet ejakulator duktus (ductus ejaculatorius) prostatı arka üst yüzden delerek içeri girer ve prostatik üretraya prostatik utrikül açıklığının lateral kenarlarından açılmaktadır (20).

2.3. Prostatın Zonal Anatomisi

1954 yılında Fransk zonal anatomi fikrini ortaya atmış ve 1968 yılında McNeal bugünkü zonal anatomi kavramını geliştirmiştir. McNeal'e göre prostat anterior fibromüsküler stroma, transizyonel zon, santral zon ve periferal zona ayrılmaktadır (21) (Şekil 2).

Periferal zon, prostat hacminin %70'ini oluşturmakta olup prostatik intraepitelyal neoplazilerin ve karsinomların en sık köken aldığı bölümdür. Periferal zon glandları basit, oval-yuvarlak şekilli olup düz kas ve kollajenden oluşan gevşek stroma mevcuttur.

Santral zon, prostat hacminin %25'ini oluşturmakta olup prostat kanserlerinin %5-10'u bu bölümden köken almaktadır. Veziküla seminalisler ve duktus deferensler, prostat tabanında santral zona girerek birleşirler ve ejakulatör kanalları oluşturup santral zon içinde ilerleyerek üretraya açılırlar. Santral zon glandları intraluminal papiller çıkıntılar içeren geniş ve kompleks şekilli olup stroma sıkı düz kas liflerinden oluşmaktadır. Bu bölümde yer alan glandların kribriiform şekilleri PIN ile karışabilir (20,21).



Şekil 2. Prostatın zonal anatomisi

Transizyonel zon, prostat hacminin yaklaşık olarak %5'ini oluşturmakta olup benign prostat hiperplazilerinin çoğunluğu bu bölümden köken almakla beraber prostat kanserlerinin %10-20 kadarı bu bölümden gelişmektedir. Transizyonel zon glandları basit, küçük, yuvarlak şekilleri ile periferik zon glandlarına benzemektedirler. Ancak farklı olarak sıkı bir stromaya sahiptirler (20, 21).

Anterior fibromusküler stroma, tüm prostat dokusunun %30'unu oluşturur. Detrusör kası orijinli olmakta olup mesane boynundan başlayarak prostatik üretranın ön-üst yarısını ve prostatın transizyonel zon ön bölgesini sarar. Posteriyör ve her iki lateralde devam ederek ince fibröz prostat kapsülünü oluşturmaktadır. Glandüler yapı içermemektedir (20, 21).

2.4. Prostat Histolojisi

Prostat glandı erkek genital sistemin en büyük yardımcı bezidir. Sayıları 15 ila 30 arasında değişen boşaltıcı duktuslar aracılığı ile prostatik üretraya drene olan 30-50 kadar

bileşik tübüloalveolar glandların bir araya gelmesi ile oluşur. Bu glandlar iç mukozal, orta submukozal ve periferik olmak üzere 3 konsantrik tabaka şeklinde yerleşirler (22). Mukozal bezler üretraya en yakın ve en kısa olanlar olup üretraya direkt direne olurlar. Submukozal bezler mukozal bezlerin çevresindedir ve onlardan daha geniştirler. Periferik esas bezler en çevrede, en çok sayıda ve en geniş bezlerdir ve prostat bezinin çoğunu oluştururlar. Bunlar da prostatik sinüslara drene olurlar.

Prostat mikroskopik olarak fibromusküler stroma içinde gömülü orta-büyük çaplarda, lobüle görünümde prostatik glandlardan oluşmaktadır. Prostat glandlarını oluşturan epitelyal hücreler, bazal hücreler, bazal hücrelerin diferansiye ve matürasyonu ile oluşan sekretuar luminal hücreler ve arada az sayıda izlenen nöroendokrin hücrelerdir. Santral zonda bulunan prostatik gland morfolojisi transizyonel zon ve periferik zonlu oluşturan glandlardan farklıdır. Santral zon glandları intraluminal papiller çıkıntılar içeren geniş ve kompleks şekilli olup stroma sıkı düz kas liflerinden oluşmaktadır. Transizyonel zon ve periferik zon glandları basit, küçük, yuvarlak şekilleri ile birbirlerine benzemektedirler. Ancak farklı olarak transizyonel zon sıkı stromaya sahipken periferik zonda gevşek stroma mevcuttur (1, 19, 22).

Sekretuar luminal hücreler küboid-kolumnar şekilli, küçük yuvarlak nükleuslu, belirsiz nükleollü, ince granüler kromatinli, soluk-şeffaf sitoplazmalıdır. Düşük proliferatif aktiviteye sahiptirler. Prostat spesifik antijen, prostatik asit fosfataz, androjen reseptör, asidik müsin üretirler (19).

Bazal hücreler, glandların periferinde yer alan basıklaşmış görünümde hücrelerdir. Bu hücrelerin proliferatif aktiviteleri yüksektir. Sekretuar hücreler için rezerv görevi görürler (18, 19). Bazal hücreler 34β-E12 gibi yüksek ağırlıklı sitokeratinler ve p63 nükleer protein ile daha rahat seçilebilirler. Bu immunohistokimyasal belirteçler atrofik prostat glandı ile adenokarsinom ayırımında kullanılırlar.

Nöroendokrin hücre, prostatik epitelde en az görülen hücredir. Geniş eozinofilik granül içeren hücre görüntüsü dışında genellikle rutin H&E boyamada seçilemez. Ancak serotonin, kromogranin ve NSE ile görülebilir. Bu hücreler PSA, AR ekspres ettikleri için hem epitelyal hem de nöroendokrin orijinli oldukları düşünülmektedir (23). Bu hücreler özellikle verumontanumda sıktırlar. Bu nedenle luminal konstrüksiyon ve dilatasyonda rol aldıkları düşünülmektedir (1).

2.5. Prostatın Makroskopik Örnekleme

Prostatın histopatolojik incelenmesi için hastanın kliniğine göre farklı örnekleme ve operasyonlar yapılabilir. Bunlar iğne biyopsileri, transüretral rezeksiyon (TURP), açık prostatektomi, radikal prostatektomi şeklindedir.

İğne biyopsileri makroskopik olarak örneklenirken her dokunun boyu mm cinsinden tanımlanmalı ve her bir biyopsi ayrı ayrı kasetlenmelidir.

Transüretral rezeksiyon (TURP) materyali makroskopik olarak örneklenirken dokunun ağırlığı mutlaka verilmeli ve her kasete en fazla 1 gr doku konmalıdır. 12gr'dan az olan materyalin tamamı örneklenir. Daha ağır olanlarda ilk 12gr ve sonraki her 5gr için 1 kaset (1gr) doku örneklenir.

Açık prostatektomi materyali makroskopik olarak örneklenirken materyalin ağırlığı ve boyutları verildikten sonra 3-4mm aralıklar ile dilimlenerek %10'luk tamponlu formalinde 24 saat tespit edilmelidir. Dokunun cm'si başına 1 parça olacak şekilde örneklenir.

Radikal prostatektomi materyali makroskopik olarak örneklenirken üzerinde bulunan vezikula seminalisler ayrıldıktan sonra prostatın ağırlığı, hacmi ve üç boyutu ölçülür. Materyal örneklemeden önce en az 24 saat 10 katı hacminde %10'luk tamponlu formalinde tespit edilir. Tespit sonrası cerrahi sınırlar cerrahi sınır boyası ile boyanır. Boyama için tek renk kullanılacağı gibi sağ ve sol taraf farklı iki renkte boyanabilir. Prostat dilimlemeden sağ-sol-ön-arka oryantasyonu sağlanmalıdır. Önce apeks (distal) ve taban (proksimal) cerrahi sınırları 3mm kalınlığında dilimlendikten sonra konizasyon şeklinde dilimlenerek yan yatırılarak örneklenir. Vezikula seminalislerin prostat ile birleşme yerinden örnekleme yapılır. Kalan prostat dokusu apeksten tabana doğru 3mm aralıklarla dilimlenir. Her bir dilimin birebir haritası çıkarıldıktan ve yön oryantasyonu yapıldıktan sonra kodlanarak kasetlenir. Prostatın tamamı bu şekilde örneklenir. Ayrıca vezikula seminalisler prostat-vezikula seminalis birleşim yerini içerecek şekilde yarısı örneklenir (24).

2.6. Prostatik Tümörlerin Sınıflandırılması (WHO 2004)

Prostat tümörlerinin Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan 2004 yılına ait yapılan sınıflaması tablo 1 'de belirtilmiştir (25).

Tablo 1. Prostat tümörlerinin Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2004 yılı histolojik sınıflaması

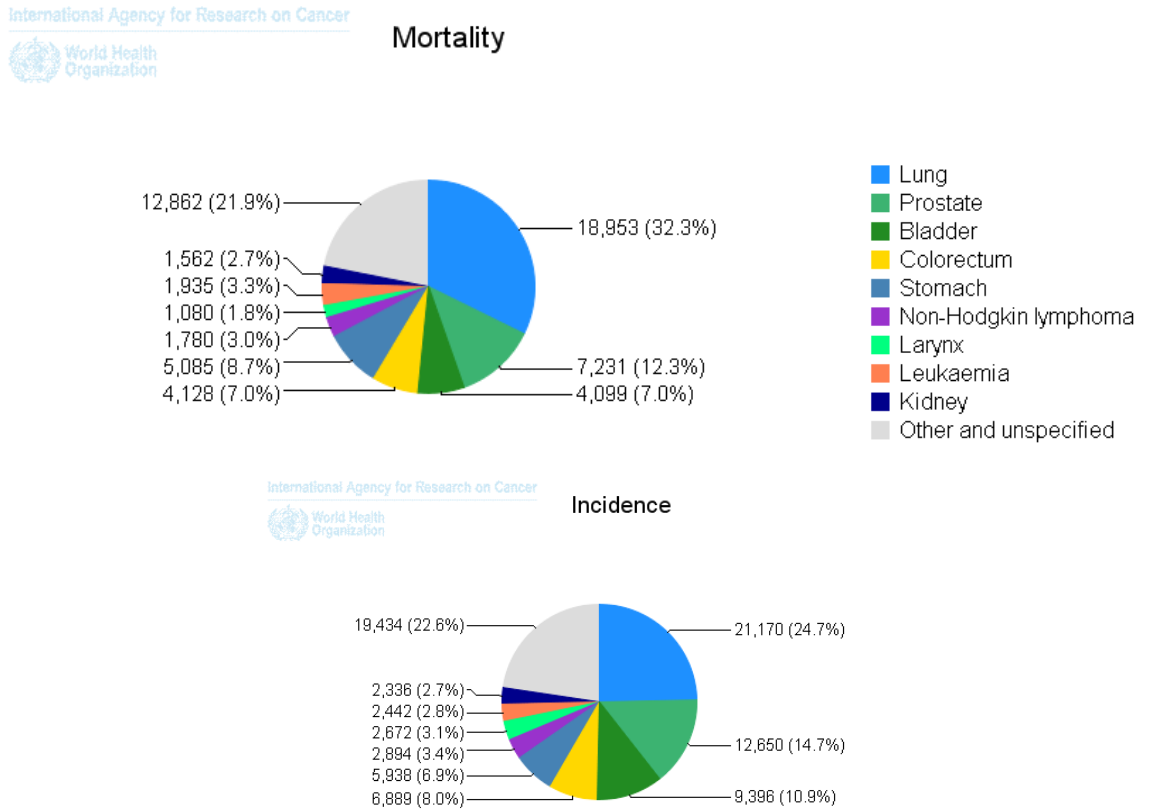
EPİTELYAL TÜMÖRLER Glandüler Neoplaziler Adenokarsinom (asiner) Atrofik Psödohiperplastik Köpüksü Kolloid Taşlı yüzük hücreli Onkositik Lenfoepitelyoma benzeri Karsinosarkom (Sarkomatoid karsinom) Duktal adenokarsinom Kribriform Papiller Solid Prostatik intraepitelyal neoplazi Ürotelyal tümörler Ürotelyal karsinom Skvamöz tümörler Skvamöz hücreli karsinom Adenoskuamöz karsinom Bazal hücreli tümörler Bazal hücreli adenom Bazal hücreli karsinom NÖROENDOKRİN TÜMÖRLER Endokrin diferansiyasyon gösteren adenokarsinom Karsinoid tümör Küçük hücreli karsinom Paragangliyom Nöroblastom	PROSTATİK STROMAL TÜMÖRLER Malignite potansiyeli bilinmeyen stromal tümör Stromal sarkom MEZENKİMAL TÜMÖRLER Leyomyosarkom Rabdomiyosarkom Kondrosarkom Anjiyosarkom Malign fibröz histiyositom Malign periferel kılıf tümörü Hemanjiyom Leyomyiom Kondrom Granüler hücreli tümör Hemanjiyoperisitom Soliter fibröz tümör HEMATOLENFOİD TÜMÖRLER Lenfoma Lösemi NADİR GÖRÜLEN TÜMÖRLER Kistadenom Nefroblaston (Wilms tümörü) Rabdoid tümör Germ hücreli tümörler Şeffaf hücreli adenokarsinom Melanom METASTATİK TÜMÖRLER
--	---

2.7. Prostat Adenokarsinomu

2.7.1. İnsidansı ve Epidemiyolojisi

Prostat adenokarsinomu tüm prostat malignitelerinin yaklaşık olarak %95'ini oluşturmaktadır (1). Prostat adenokarsinomunun yaygınlığı ve mortalite oranları ülkelere göre değişkenlik göstermektedir. Prostat adenokarsinomlu hastaların yaklaşık 3/4'ü gelişmiş ülkelerde yaşamakta olup en sık Avustralya, Batı Avrupa ve Kuzey Amerikada yaşayan erkeklerde görülmektedir. Dünyada erkeklerde akciğer kanserlerinden sonra ikinci en sık görülen kanser türü olup tüm kanserlerin yaklaşık %15'ini oluşturmakla birlikte tüm kanserler arasında 5.sıradadır (2). American Cancer Society' nin 2013 yılında yayınladığı

bildiriyeye göre ise 2013 yılında Amerika Birleşik Devletlerinde 238.590 yeni prostat kanseri olgusu tespit edilmiş olup prostat kanseri %20'lik bir oranla erkeklerde en sık tanı alan kanser olmuştur (3). Erkeklerde yapılan serum PSA seviyesi taraması sayesinde, hastalığın erken teşhis şansının artması ile 2005-2009 yılları arasında her yıl prostat kanseri insidansında %1.9 oranında azalma görülmüştür (3). Hastalığın mortalitesi gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler arasında hemen hemen aynıdır. 2012 yılında yapılan çalışmaya göre 307.471 ölüm sayısı (%6.6) ile erkeklerde kanser ölümlerinde 5. sırayı almaktadır (2). Amerikada ise prostat adenokarsinomu erkeklerde kanser ölümlerinde 2. sırayı almaktadır (3). Bu durum Türkiye'de de benzer olup 2012 yılında 7231 ölüm sayısı ile %12.3 oranı ile akciğer kanserinden sonra erkeklerde en sık ölüm nedeni olmuştur (2) (Şekil 3). Ayrıca yapılan çalışmalarda prostat adenokarsinom görülme sıklığı, hastalığın mortalite oranı siyah ırklı erkeklerde beyaz ırka oranla daha fazla olduğu gösterilmiştir (26).



Şekil 3. Türkiyede erkekler arasında en sık tanı alan kanserler ve en sık ölüme yol açan kanserler (WHO GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012)

2.7.2. Risk Faktörleri

2.7.2.1. Yaş ve Aile Hikayesi

Prostat adenokarsinomları %97 oranında 50 yaş ve üstü hastalarda görülmektedir (3). İlerleyen yaş ile beraber görülme sıklığı ve riski artmaktadır (4). Yapılan genetik çalışmalar sonucunda prostat adenokarsinomlarının %5-10'unda genetik ailesel yatkınlık bulunmuştur (3). Baba, erkek kardeş gibi birinci derecede akrabalarda prostat adenokarsinomu görülmesi, bir erkekte prostat adenokarsinom görülme riskini iki kat artırmaktadır (1). Ailesel kanserlerin ise patolojik veya klinik olarak ailesel olmayanlardan farkı yoktur.

2.7.2.2. Irk

Değişik etnik gruplarda prostat adenokarsinom insidansı farklılıklar göstermektedir. Afrika kökenli Amerikalılar dünyada en risk taşıyan erkekler olmakla beraber riskin en düşük olduğu Çinli erkeklere göre 60 kat daha fazla riske sahiptirler. Amerikada yaşayan siyah erkeklerde insidans oldukça yüksek iken, aynı bölgede ve aynı sosyoekonomik düzeydeki beyaz erkeklerde daha düşüktür. Etnik kökenin prostat adenokarsinom gelişimi üzerine etkisinin genetik pleomorfizm rolü olduğu düşünülmektedir (1, 5).

2.7.2.3. Hormonlar

Androjen hormonu Androjen Reseptörler üzerinden tümör hücresinde transkripsiyonu artırarak prostat karsinomunda progresyona yol açar. Aynı şekilde Testosteron ve onun metabolitleri Dihidrotestosteron aynı yol üzerinden karsinom gelişme riskini artırır (1, 27).

2.7.2.4. Diyet

Göçmenler arasında ve değişik coğrafyalarda yaşayan erkekler arasında yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonucunda diyet, prostat adenokarsinomu oluşumu ile ilişkili bulunmuştur. Özellikle poliansatüre yağlar olmak üzere yağ tüketimi ile prostat adenokarsinomu insidansı ve mortalitesi arasında pozitif bir korelasyon mevcuttur. Bu ilişkinin diyetle anan fazla miktarda yağın, seks hormonlarının sentezini arttırdığı ve bu yoldan kanser riskinin de arttığı düşünülmektedir. Vitamin A, epitelyal hücre diferansiyasyonu ve proliferasyonuna neden olarak prostat adenokarsinom riskini

artırmaktadır. Aynı şekilde yağda eriyen vitaminler olan A vitamini yanı sıra D ve K vitaminleri de prostat adenokarsinom riskini artırmaktadır. E vitamini ise antioksidan etkisi ile prostat kanser hücrelerinde büyümeyi inhibe eder ve apoptozisi uyarır. Ayrıca likopen gibi diğer antioksidanlar da koruyucudurlar. Eser elementlerden Çinko konsantrasyonunun prostat adenokarsinomlu hastalarda yüksek olduğu görülmekle beraber aradaki ilişki net olarak açıklanamamıştır. Epidemiyolojik çalışmalar ile Kadmiyum elementinin çevresel kontaminasyon ile prostat adenokarsinom riskini artırmakta olduğu gösterilmiştir (1).

2.7.2.5. Genetik Pleomorfizm

Genetik mutasyonlar ailesel veya irksal olarak kalıtsal geçiş göstermektedirler. Moleküler olarak onkogen aktivasyonları, tümör supresör gen inaktivasyonları sonucu prostat adenokarsinom gelişimi ve progresyonu olmaktadır (1).

2.7.2.6. Oksidatif Stres

Yapılan çalışmalar ile atrofik lezyonların prostat karsinogenezisinde erken evre bir oluşum olduğu gösterilmiştir. Basit atrofik lezyonlarda lümende ve stromada mononükleer iltihabi hücreler bulunmaktadır. Atrofik dokuda bulunan makrofajlarca üretilen reaktif oksijen radikalleri ve reaktif nitrojen radikalleri sonucunda dokuda superoksit $O_2^{\cdot-}$, Hidrojen Peroksit (H_2O_2), Hidroksil radikalleri, serbest demir (Fe) artar. DNA hasarı ve sonucuna genetik mutasyonlar ve kanser gelişimi görülür (6).

2.7.2.7. Diğerleri

Yoğun sigara kullanımının prostat adenokarsinom gelişme riskini arttırdığı ve gelişen prostat adenokarsinomun gleason skorunun yüksek olmasına neden olduğu düşünülmektedir (28). Ayrıca uzun süren kronik inflamasyonun indüklediği oksidatif stres sonucunda karsinogenezis mekanizması tetiklenebileceği düşünülmektedir.

2.8. Prostat Adenokarsinom Varyantları

2.8.1. Duktal Adenokarsinom

Prostatik üretradan veya geniş periüretral prostatik duktuslardan köken almaktadır (1). Pür duktal adenokarsinomlar tüm prostat kanserlerinin yaklaşık %0.2-0.8 kadarını oluşturmakla birlikte asiner adenokarsinom ile kombinasyonu daha sık olarak bildirilmiştir

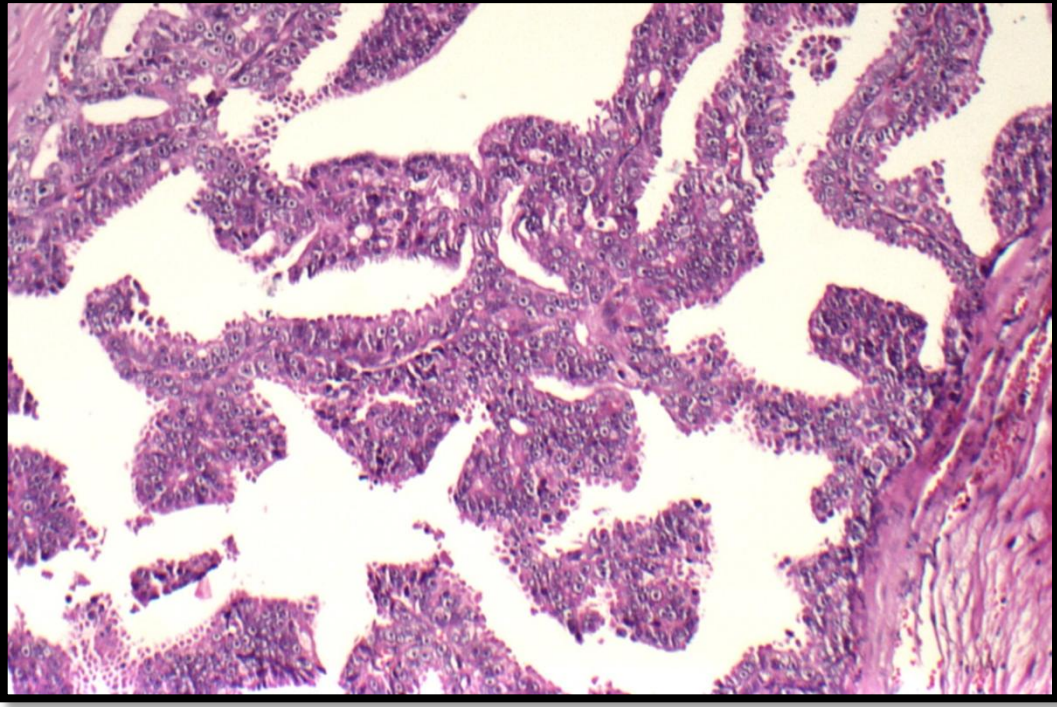
(29). Duktal adenokarsinom tanısı morfolojik olarak verilmekle beraber uterusun endometriyal adenokarsinomuna benzemektedir. Duktal adenokarsinomlarda uzun kolumnar psödostratifiye epitel mevcuttur. Nükleuslar daha geniş ve elonge olup sıklıkla tek makronükleol içerir. PSA ve Prostatik asit fosfataz (PAP) ile boyanırlar. Hormon tedavisine yanıt verirler. Tümörün klinik davranışı klasik asiner tip adenokarsinomdan farklıdır. Beyin, akciğer, periton, testis ve penise metastaz eğilimi daha fazladır (25,29). Ayırıcı tanıda ürotelyal karsinom, ektojik prostatik doku, benign prostatik polip, inverted papillom, nefrojenik metaplazi, yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi, kolorektal karsinom, proliferatif papiller üretrit düşünülmelidir (1, 29). Gleason derecelendirme sisteminde duktal adenokarsinomlar 4 olarak veya komedonekroz varlığında 5 olarak derecelendirilirler (30) (Resim 1).

2.8.2. Atrofik Adenokarsinom

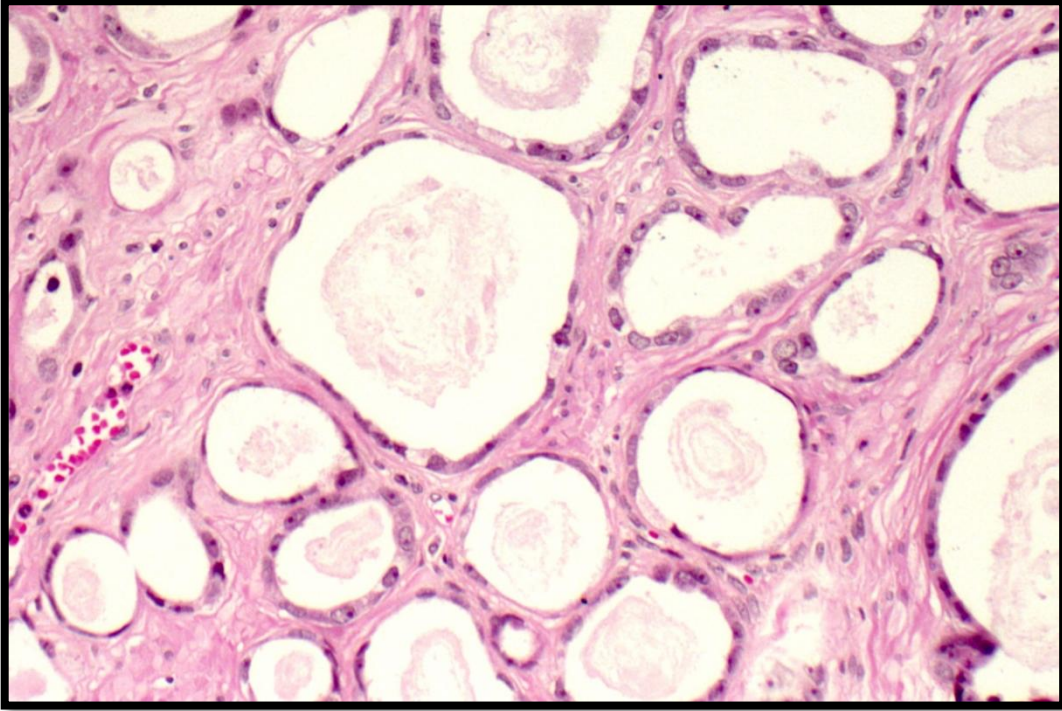
Dar sitoplazmaya sahip olması nedeniyle benign atrofiye ve postatrofik hiperplaziye benzeyen nadir görülen bir varyanttır. Stromada fibrozis görülebileceği gibi desmoplastik stromal yanıt olmayabilir (25). Atrofik gland lümenleri düzensiz görünümündedir. Atrofik glandüler hücrelerde nükleer büyüme ve nükleol belirginliği mevcut olup dev eozinofilik nükleol her zaman görülmez (1, 25). İmmunohistokimyasal olarak HMWCK negatifliği tanıda yardımcıdır. Rasemaz %70 atrofik varyantta pozitif olmasının yanında benign atrofik olguların %13'ünde zayıf boyanmaktadır (1) (Resim 2).

2.8.3. Psödohiperplastik Adenokarsinom

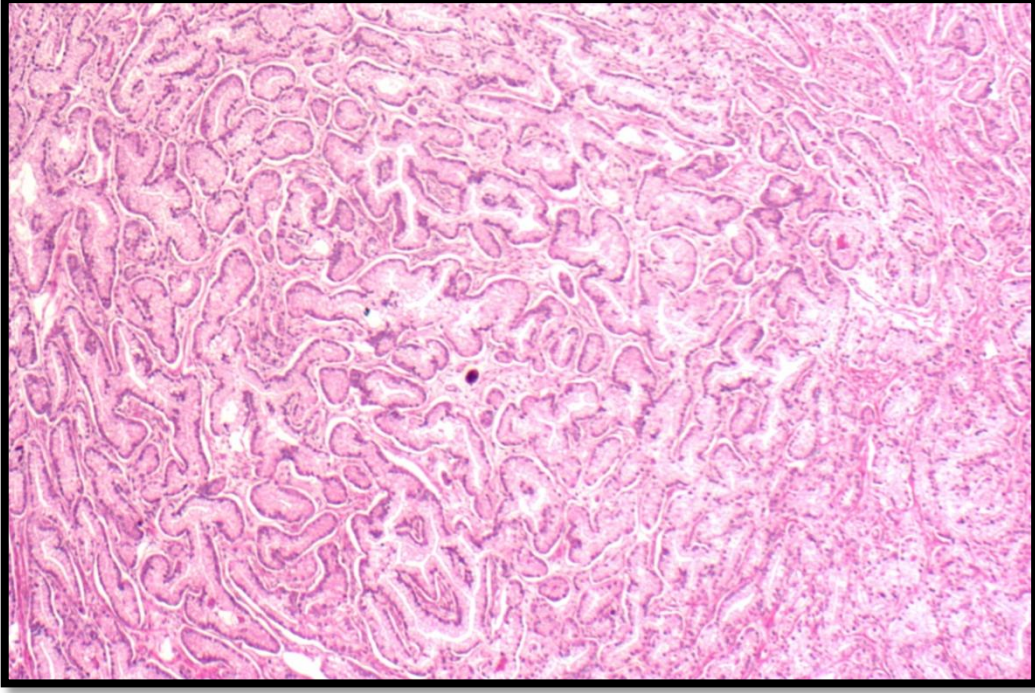
Benign prostat glandlarına benzeyen dallanma ve papiller uzantılar gösteren geniş neoplastik glandlardan oluşmaktadır. Tipik karsinoma özgü nükleer özellikleri ve yapısal paterni ile tanınabilir. Nükleer genişleme, pembe amorf sekresyon, nükleol belirginliği, kristaloid varlığı yardımcı bulgulardandır. İmmunohistokimyasal olarak bazal hücre kaybını görmek tanıda yardımcıdır (1, 25) (Resim 3).



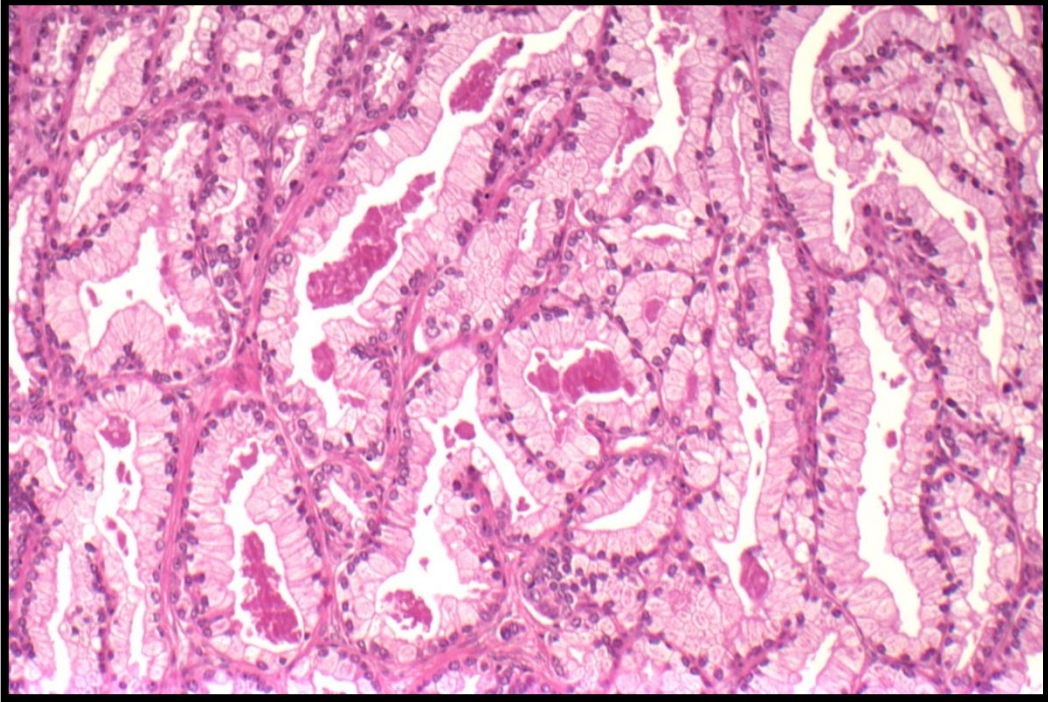
Resim 1. Duktal adenokarsinomun mikroskopik görünümü (x100 büyütme)



Resim 2. Atrofik adenokarsinomun mikroskopik görünümü (x200 büyütme)



Resim 3. Psödohiperplastik tip adenokarsinomun mikroskopik görünümü (x40 büyütme)



Resim 4. Foamy gland karsinomun mikroskopik görünümü (x100 büyütme)

2.8.4. Foamy Gland Karsinom

Nüklusu bazale iten, bol sitoplazmik köpüksü görünümde sitoplazmaya sahip hücrelerden oluşmaktadır. Tipik karsinom özelliklerinden nükleer genişleme ve belirgin nükleol genellikle yoktur. Karakteristik olarak nükleus küçük ve dens hiperkromatik görünümde (25, 31). Sitoplazmanın ksantomatöz görünümüne rağmen hücreler müsin ve lipid boyaları negatiftir (1) (Resim 4).

2.8.5. Müsinöz (kolloid) Karsinom

Fokal müsinöz farklılaşma üçte bir asiner adenokarsinomda görülebilir. Tipik asiner adenokarsinomlar yüksek doz östrojen tedavisi sonrasında müsin üretebilirler. Ancak tümörün %25'inden fazlasını ekstrasellüler müsin oluşturduğunda müsinöz karsinom tanımı kullanılabilir. Ayırıcı tanıda kolon, üretra ve mesanenin müsinöz adenokarsinom tutulumu akılda tutulmalıdır. PSA ve PAP pozitifliği tümörün prostat orijinini göstermede yararlıdır (1, 25) (Resim 5).

2.8.6. Taşlı Yüzük Hücreli Karsinom

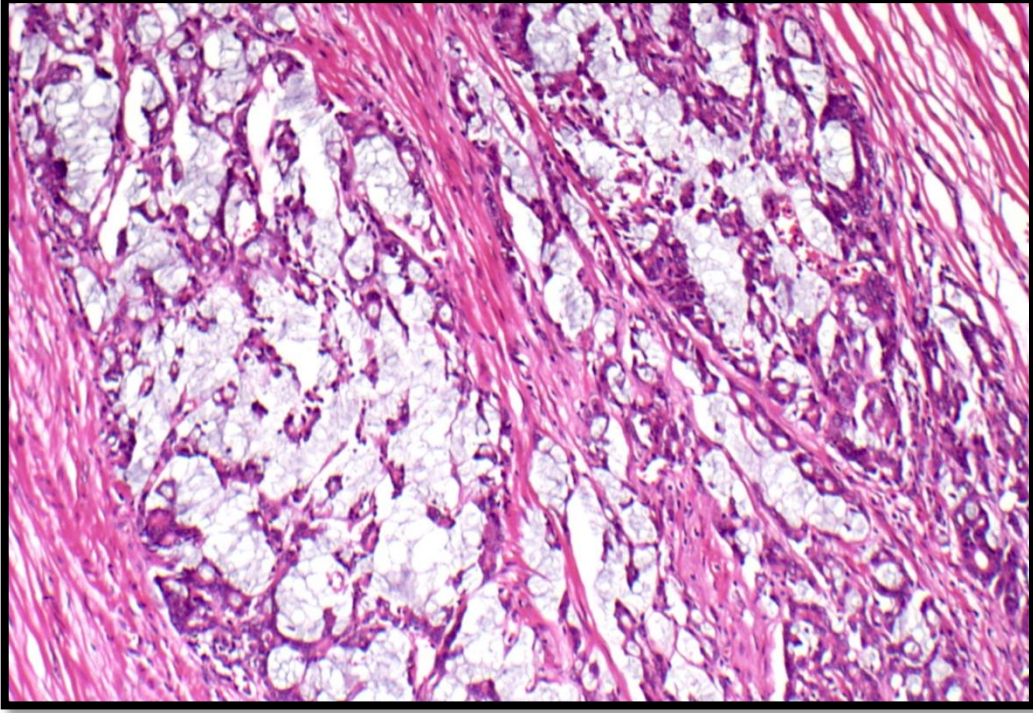
Tümörün %25'inden fazlasını taşlı yüzük hücrelerinden meydana geldiğinde bu tanımlama kullanılır. Taşlı yüzük hücreleri sitoplazmik vakuol ve intrasitoplazmik lümen içerirler. Bu lümen içinde genellikle müsin bulunmaz (1) (Resim 6).

2.8.7. Onkositik Karsinom (Onkositik Özellikler İçeren Karsinom)

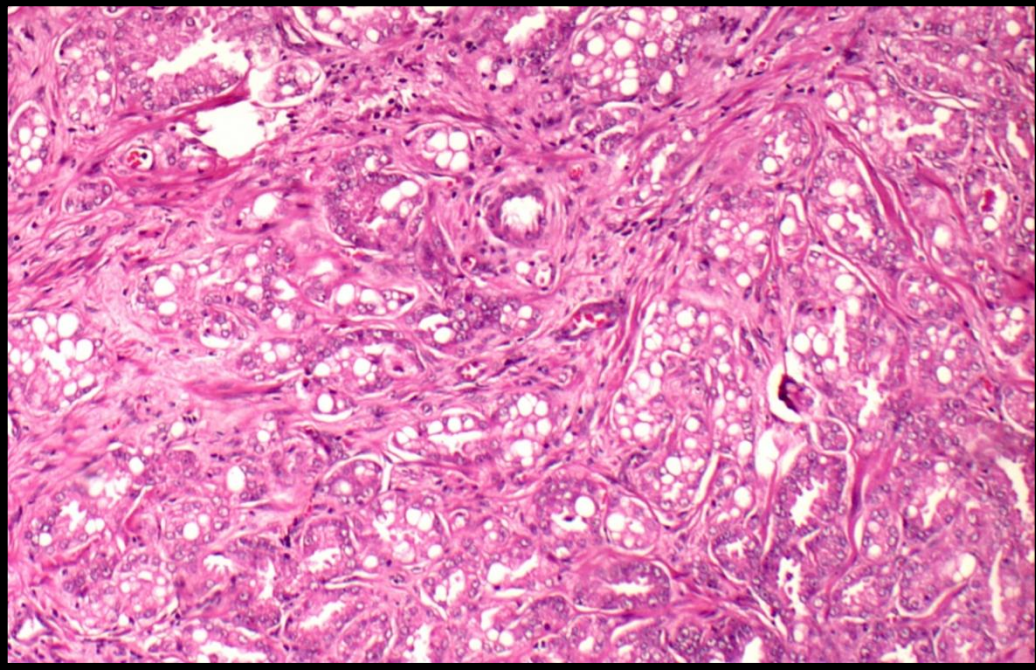
Granüler eozinofilik sitoplazmalı geniş hücrelerden oluşmaktadır. Ultrastrüktürel incelemede hücre sitoplazmasında artmış sayıda mitokondri mevcuttur (25).

2.8.8. Glomerüloid Özellikler İçeren Adenokarsinom

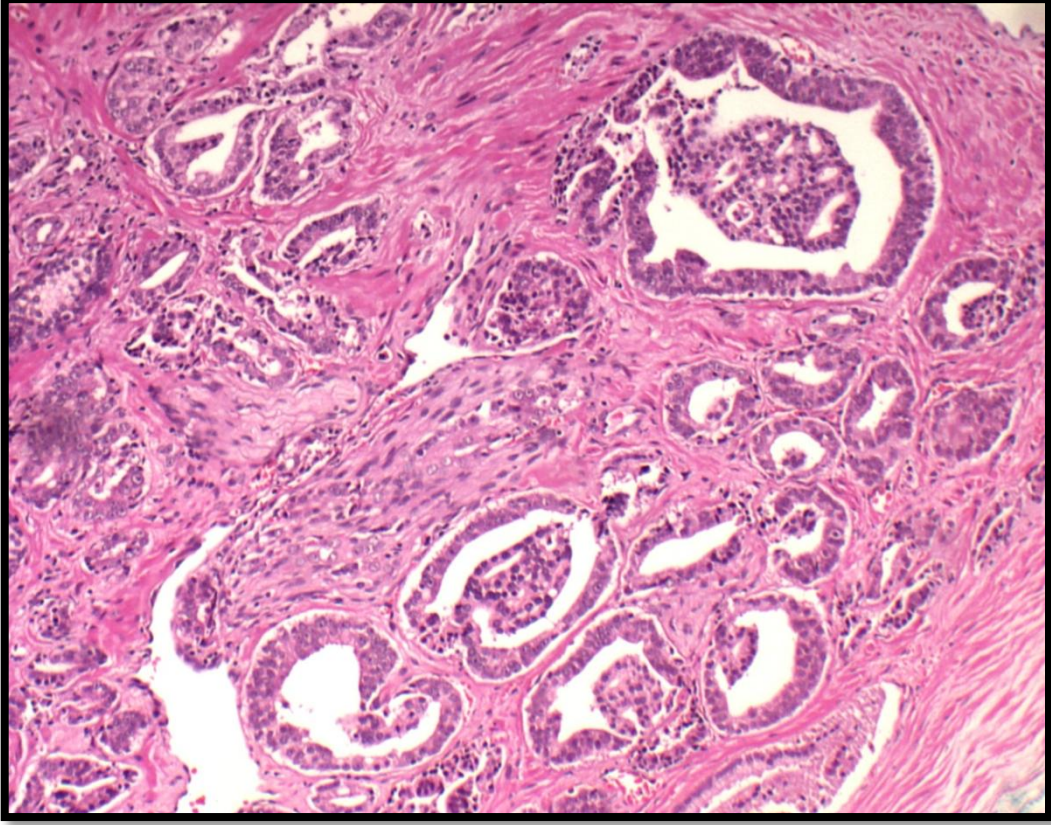
Asiner lümen içerisine doğru glomerüloid yapısını anımsatan epitelyal çıkıntılar oluşturan bir yapısı mevcuttur. Prostatektomi olgularında %4.5 oranında glomerüloid özellikler kansere eşlik ettiği görülmüştür. Kanser prognozu üzerindeki etkisi net olarak bilinmemektedir (1) (Resim 7).



Resim 5. Müsinöz adenokarsinomun mikroskopik görünümü (x100 büyütme)



Resim 6. Taşlı yüzük hücreli karsinomun mikroskopik görünümü (x100 büyütme)



Resim 7. Glomerüloid özellikler içeren adenokarsinomun mikroskopik görünümü (x100 büyütme)

2.8.9. Lenfoepitelyoma Benzeri Karsinom

Yoğun lenfositik infiltrasyon içinde sinsityal paternde malign hücrelerin görülmesi ile karakterizedir (25). İmmunohistokimyasal olarak lenfositik infiltrat çoğunlukla T hücrelerinden oluşmaktadır. İn situ hibridizasyon ile EBV negatiftir (1).

2.8.10. Nöroendokrin Diferansiyasyon Gösteren Adenokarsinom

Yaklaşık olarak %10 oranında adenokarsinomda nöroendokrin hücre mevcuttur. Kromogranin, serotonin en iyi belirteçlerdir. Yapılan çalışmalarda klasik adenokarsinomdan prognoz açısından fark bulunamamıştır (1).

2.8.11. Sarkomatoid Karsinom (Karsinosarkom)

Malign epitelyal ve malign iğsi hücreli mezenkimal komponentlerden oluşan nadir görülen bir varyanttır. Osteosarkom, kondrosarkom, rabdomiyosarkom, leiomyosarkom, liposarkom, anjiyosarkom veya multipl tipte heterolog diferansiyasyon görülebilir. Adenokarsinom komponenti sıklıkla yüksek derecelidir (1, 32). Nodal ve uzak metastaz

tanı anında sıkça görülür (25). İmmunohistokimyasal olarak iki farklı boyanma paterni görülür. Diffüz CK ve PSA/PAP pozitifliği gösteren adenokarsinom ile daha fokal CK, seyrek PSA/PAP pozitifliği ile vimentin pozitifliğine sahip sarkomatöz komponent izlenir (33).

2.8.12. Dev Hücreli Karsinom

Histolojik olarak diğer organlarda görülen histolojik görünümüne sahiptir. Prostatta oldukça nadir olduğu için metastatik dev hücreli karsinomdan ayırd edilmelidir. Oldukça agresif klinik gidişe sahiptirler ve konvansiyonel androjen tedavisine cevap vermezler (1). Histolojik olarak Gleason derecesi 5 olarak kabul edilirler (30).

2.8.13. Adenoid Kistik/Bazal Hücreli Karsinom

Mikroskopik olarak desmoplastik, mikzoid stroma içinde değişen çaplarda adenoid paterne sahip tümör nodülleri ve adalarından oluşur (1). Bu adenoid patern, bol bazal membran içeren kribriiform ve mikrokistik boşluklar yapan tümör hücrelerinden meydana gelir. Perinöral invazyon sıktır.

2.8.14. Skuamöz Hücreli Karsinom

Oldukça nadir varyantdır. Glandüler özellikler görülmez. Genellikle PSA/PAP eksprese etmezler. Literatürde primer prostatik skuamöz hücreli karsinomlar schistomiasis enfeksiyonu ile ilişkisi tanımlanmıştır. Histolojik olarak hormonal terapi sonrası görülen skuamöz metaplaziden ve mesane ile üretra kaynaklı skuamöz hücreli karsinom tutulumundan ayırd edilmelidir (1, 25).

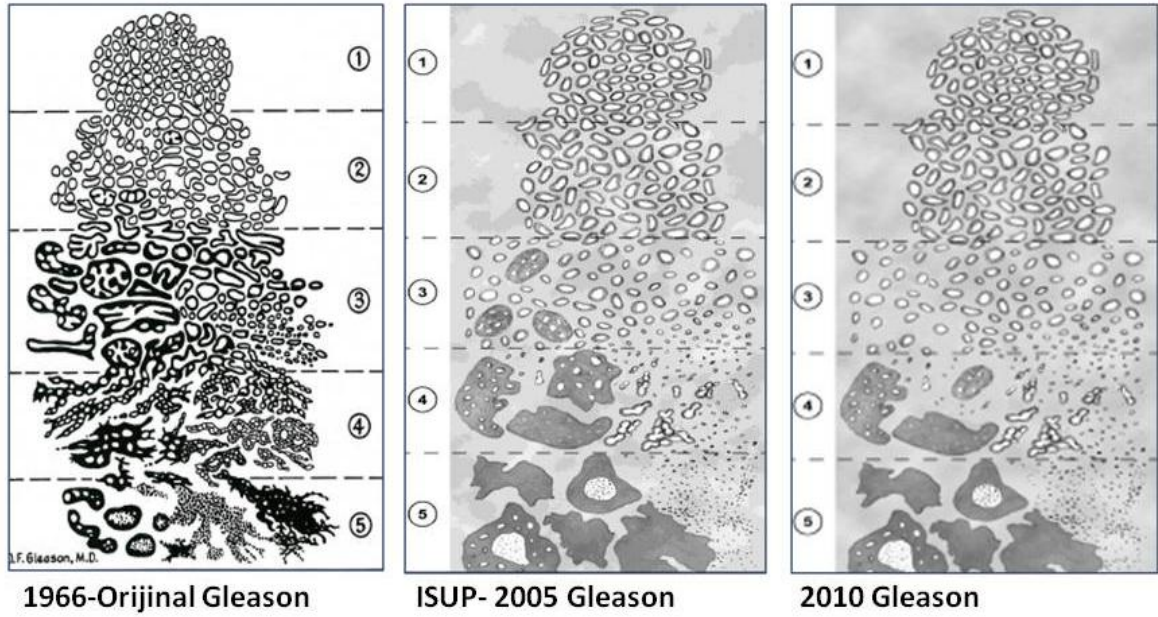
2.8.15. Adenoskuamöz Karsinom

Glandüler ve skuamöz hücreli karsinom komponentlerinden oluşan çok nadir görülen bir varyanttır (25).

2.9. Histopatolojik Derecelendirme

Prostat adenokarsinomunda derecelendirme sistemi Donald F.Gleason tarafından 1966 yılında ilk kez uygulanmıştır. İlerleyen yıllarda da ilk oluşturulan sınıflandırmaya yeni eklemeler yapılarak bu sistem zaman içinde geliştirilmiş ve halen geliştirilmeye devam edilmektedir. ISUP-2005 modifikasyonundan sonra 2010 yılında Jonathan I.Epstein

tarafından en son güncelleme yapılmış olup halen bu derecelendirme sistemi kullanılmaktadır (Şekil 4). İlk günden itibaren de Gleason derecelendirme sistemi prostat kanserinde en yararlı prognostik gösterge olarak kabul edilmiştir (30, 34). Gleason derecelendirme sisteminde primer (baskın) ve sekonder (2. en sık veya en yüksek) yapısal patern belirlenir. Bu paternler 1'den 5'e kadar derecelendirilir. Toplam Gleason derecesi ise primer ve sekonder paternlerin toplamından oluşmakta olup toplam skor 2 (1+1) ile 10 (5+5) arasındadır. Tümör sadece bir histolojik paternden oluşuyor ise; primer ve sekonder paternler aynı kabul edilmelidir.



Şekil 4. Gleason Gradeleme orijinal çizimleri (1966 yılında çizilen ilk kullanılan Gleason Grading şeması, 2005 yılındaki modifiye şema, 2010 yılında en son modifiye edilen ve güncel kullanılan Gleason Gradeleme şeması)

İğne biyopsisinde 3. en sık görülen paterne tersiyer patern denilmekle beraber 2010 Modifiye Gleason Derecelendirme sistemine göre raporda belirtilmez. Ancak tersiyer patern daha kötü ise o sekonder patern olarak verilmelidir. İğne biyopsisinde sekonder patern daha yüksek ise mutlaka dikkate alınır (Örneğin: %98 patern 3, %2 patern 4: GS(3+4):7) Ancak iğne biyopsisinde sekonder patern daha düşük ise dikkate alınmaz (Örneğin: %98 patern 4, %2 patern 3: GS(4+4):8) İğne biyopsisinde Gleason skor: Primer patern+en yüksek patern 'dir.

Radikal prostatektomi materyalinde tersiyer patern, primer ve sekonder paternlerden daha yüksek olan ve tümörün tamamının %5'inden daha azını oluşturan

3.komponenttir. Eğer tümörün tamamının %5'inden fazlasını oluşturan primer ve sekonder paternden daha yüksek komponent var ise o tersiyer patern değil sekonder patern yerini almaktadır (34).

Gleason derecelendirme sisteminde toplam skora göre histopatolojik derecelendirme yapılmaktadır: Gleason skor < 6: İyi diferansiye; Gleason skor 7: Orta derece diferansiye; Gleason skor 8-10: Az diferansiye (35).

2010 MODİFİYE GLEASON SİSTEMİ

Gleason derecelendirmesi yapılırken 4x veya 10x' luk büyütmeler kullanılmalıdır.

Gleason Patern 1: Tek tek, ayrı duran uniform glandlar ve sırt sırta yerleşen glandlardan oluşan sıkıca bir araya gelerek kitle yapmış, genelde iyi sınırlı nodül izlenir. İğne biyopsisinde tanıda Gleason skor 1 verilmemelidir. Adenozis, adenomatoid hiperplaziden ayırd edilmelidir.

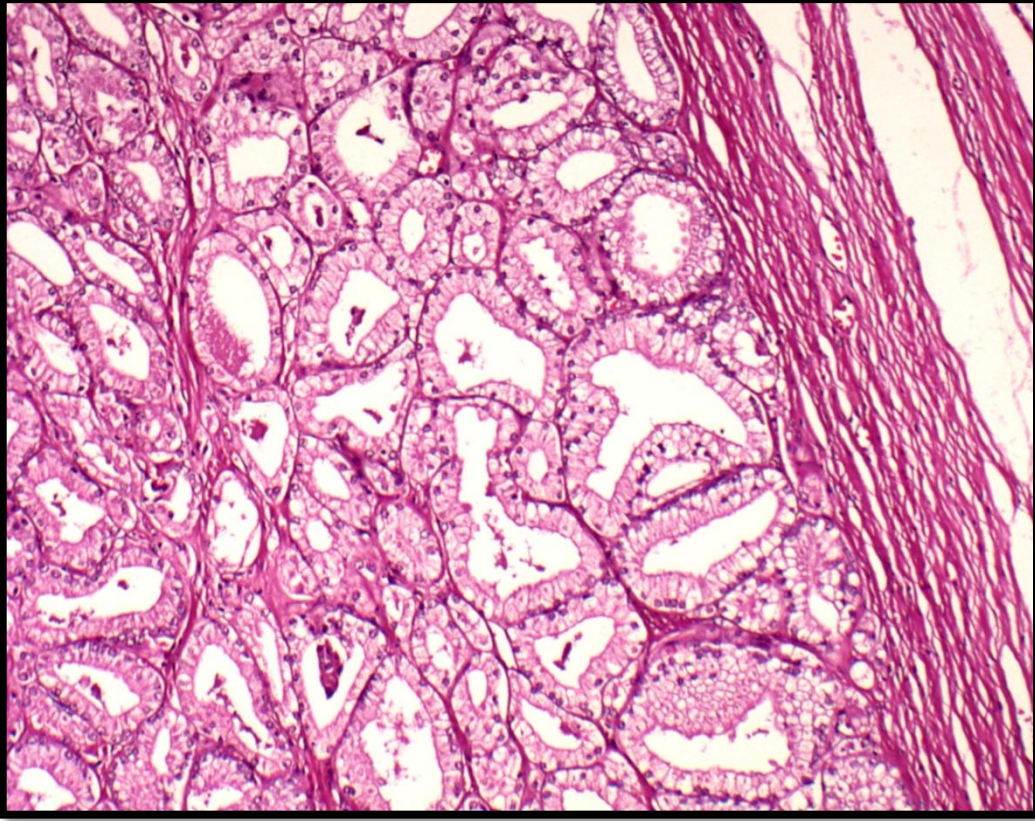
Gleason Patern 2: Tek, ayrı, daha az uniform glandlar ve arada stromayla hafifçe ayrılmış, iyi sınırlı olmasına karşın kenarlarında hafif düzensizlik bulunan nodül izlenir (Resim 8)

Gleason Patern 3: Patern 1 ve 2'de izlenen glandlardan daha küçük çaplarda, tek tek ve ayrı yerleşimli arada benign glandlar kalacak şekilde infiltratif görünüme sahip düzensiz sınırlı tümör izlenir (Resim 9)

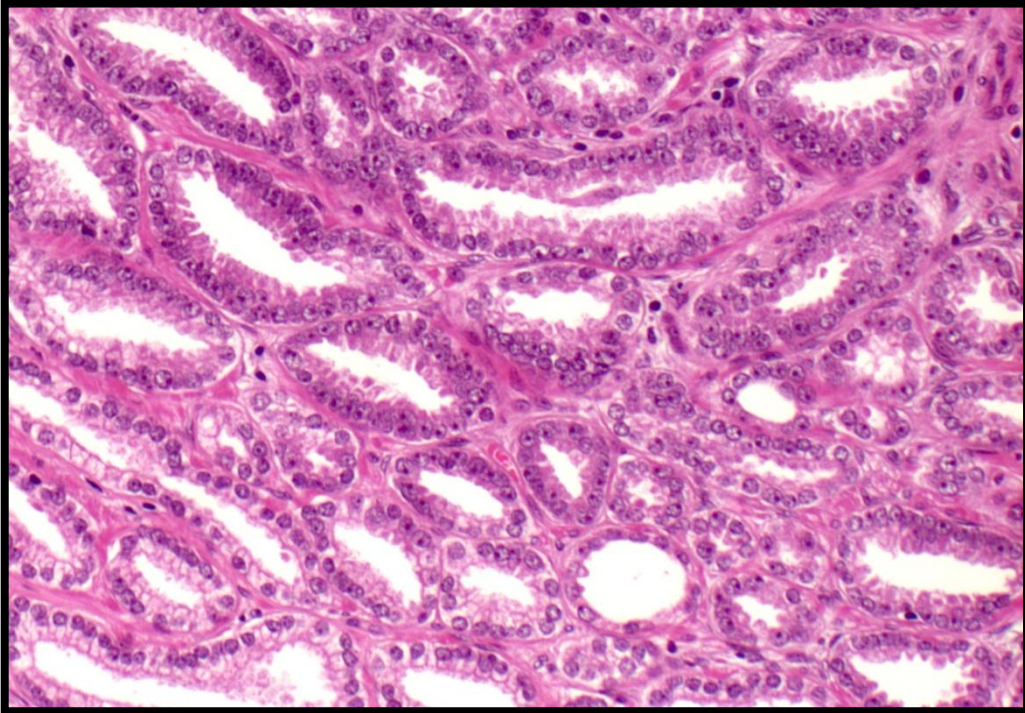
Gleason Patern 4: Birbirleriyle birleşen glandların oluşturduğu, dış kenarları zigzaglı gruplar ile geniş, dış kenarları düzensiz ve irregüler i l menlere sahip irregüler kribriiform gland yapıları, glomerüloid yapılardan oluşan tümör izlenir (Resim 10,11).

Gleason Patern 5: Solid adalar, tek tek hücreler, hücre kordonları halinde tümör hücreleri izlenir. Komedonekroz içeren kribriiform yapılar da patern 5 olarak sınıflanır. Ancak luminal eozinofilik sekret nekroz ile karıştırılmamalıdır (Resim 12,13,14).

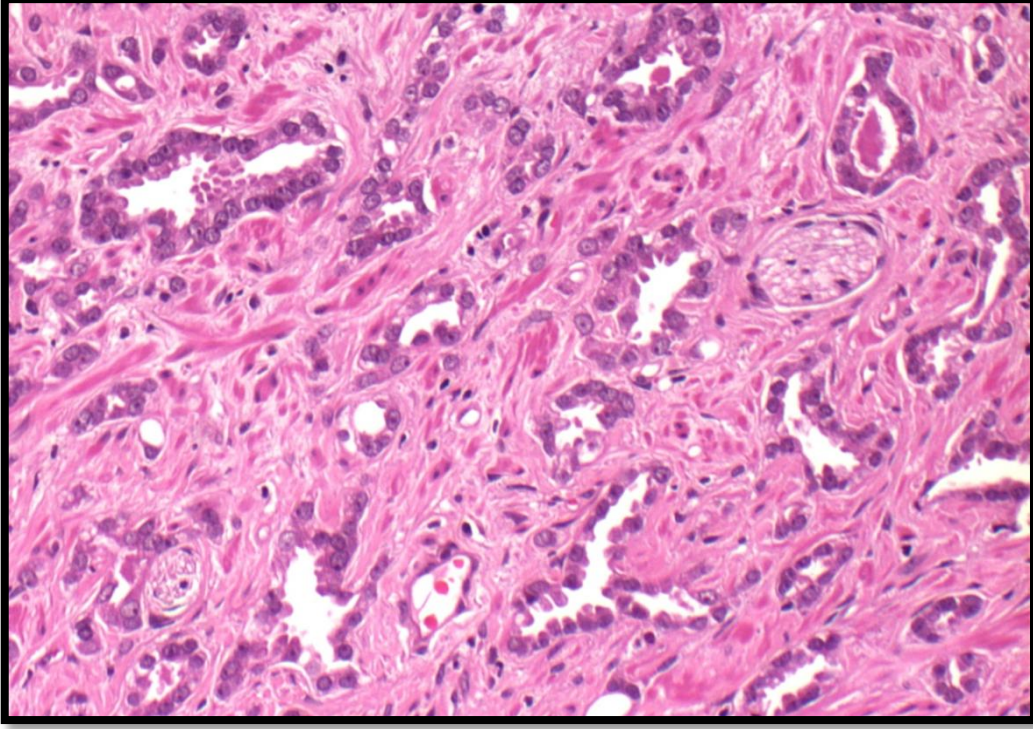
2010 Modifiye Gleason Derecelendirme sistemine göre az görülen histolojik varyantların derecelendirmesinde farklılıklar mevcuttur. Duktal adenokarsinom: Gleason skor (4+4): 8, Psödohiperplastik karsinom: Gleason skor (3+3): 6 olarak derecelendirmesi önerilmekle beraber "Foamy gland" karsinom ve Kolloid (Müsinöz) karsinomun yapısal özelliklerine göre skorlanması önerilmektedir. Küçük hücreli karsinomun ise Gleason skorlanması yoktur.



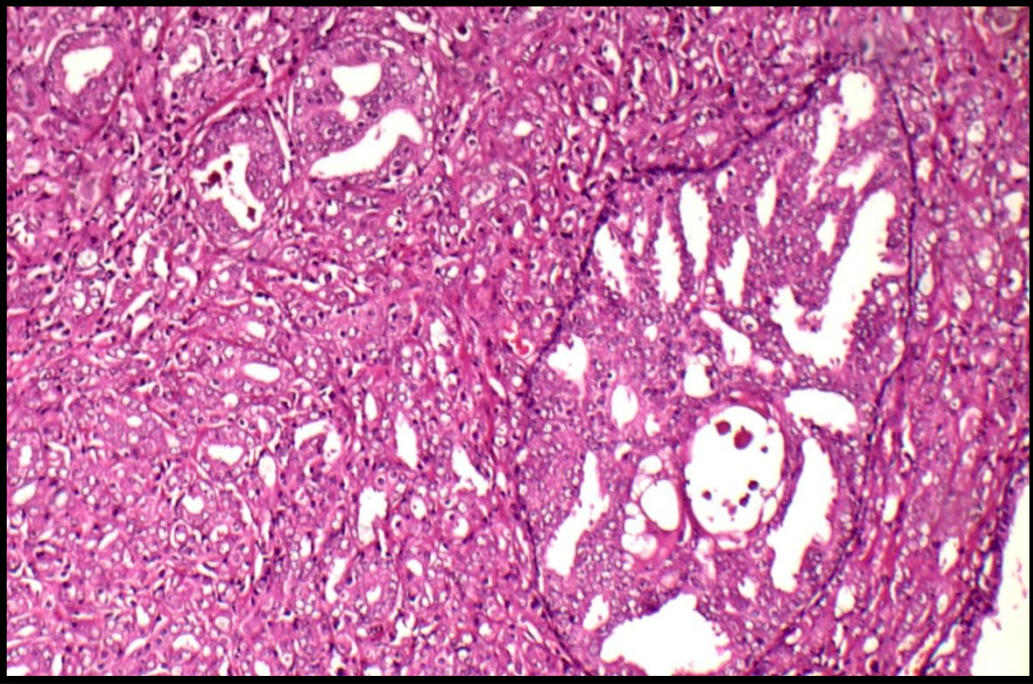
Resim 8. Derece 2; stromayla çevre benign dokudan ayrılmış nispeten iyi sınırlı nodül oluşturan prostat asiner adenokarsinomu (x100 büyütme)



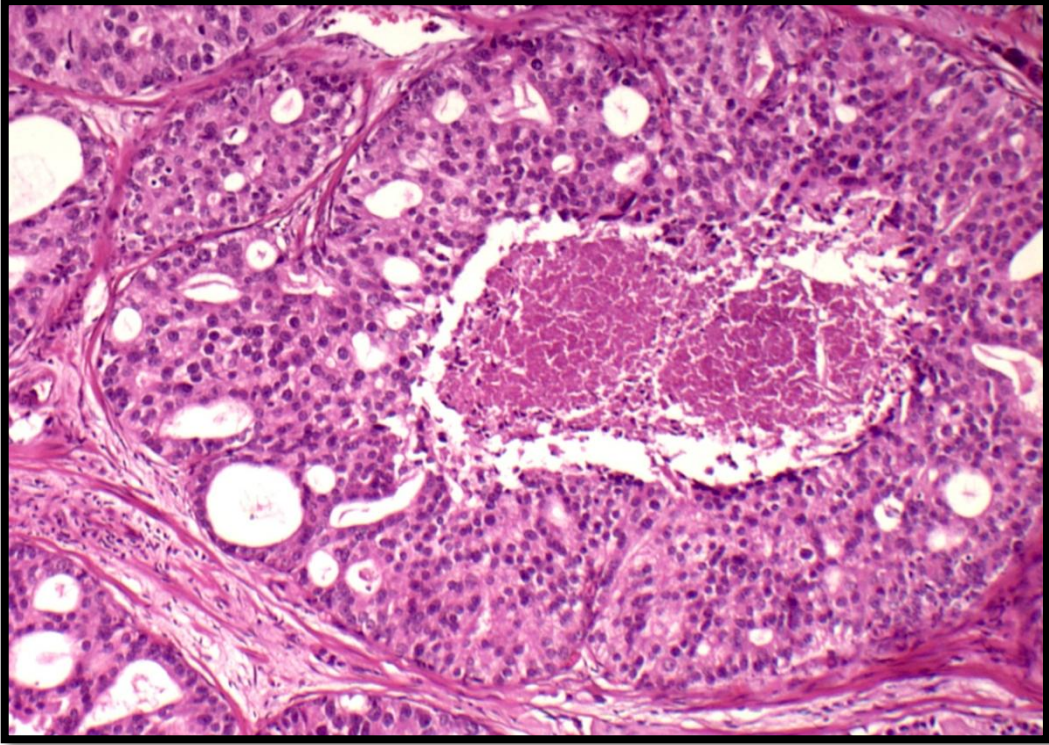
Resim 9. Derece 3; düzenli glandüler yapılardan oluşan prostat asiner adenokarsinomu (x200 büyütme)



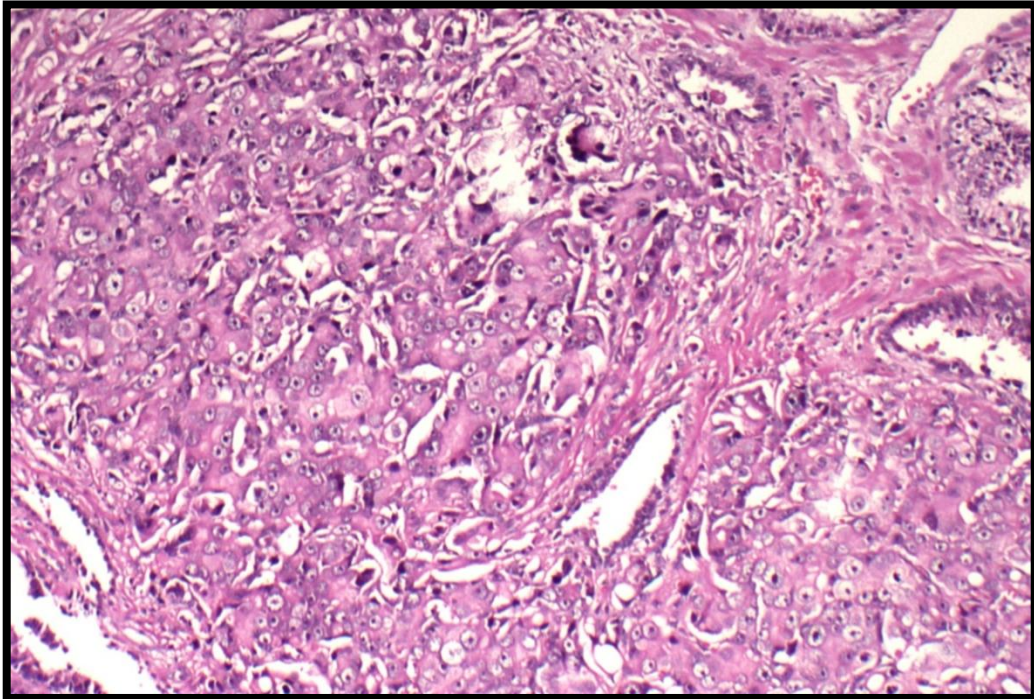
Resim 10. Derece 4; dış kenarları zigzaglı gruplardan oluşan prostat asiner adenokarsinomu (x200 büyütme)



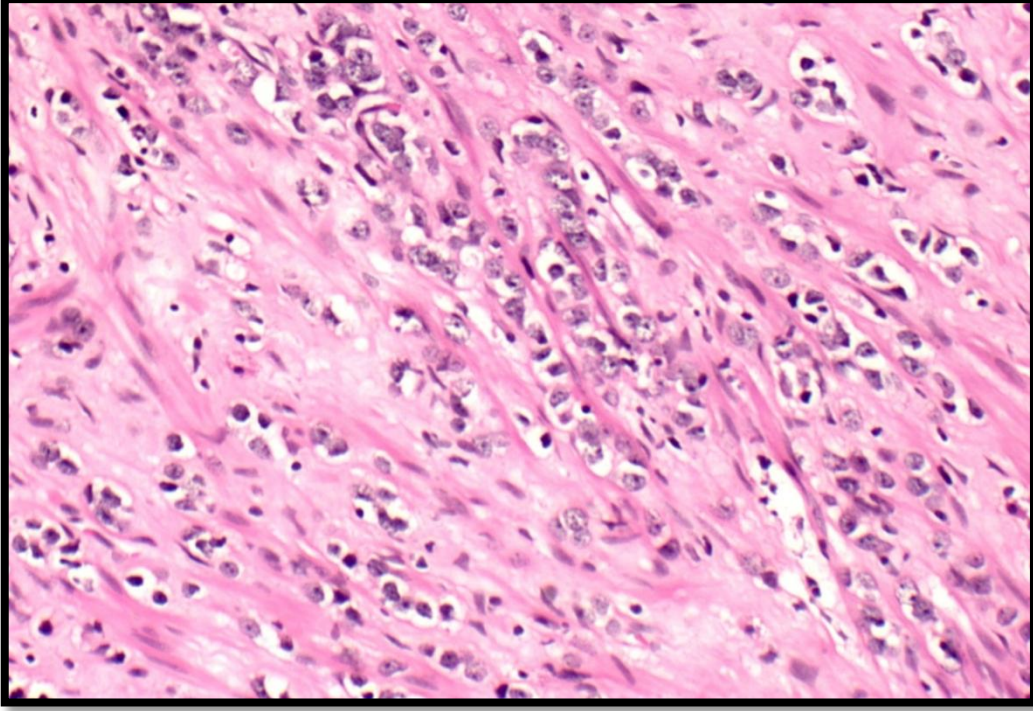
Resim 11. Derece 4; birbirleriyle birleşen ve kribriform yapı oluşturan glandlardan oluşan prostat asiner adenokarsinomu (x40 büyütme)



Resim 12. Derece 5; komedonekroz içeren kribriform gland yapılarından oluşan prostat asiner adenokarsinomu (x100 büyütme)



Resim 13. Derece 5; solid tabakalardan oluşan prostat asiner adenokarsinomu (x100 büyütme)



Resim 14. Derece 5; Tek hücre kordonlarından oluşan prostat asiner adenokarsinomu (x200 büyütme)

2.10. Evreleme

Prostat adenokarsinom evrelemesi için ilk olarak 1975 yılında Jewett sistemi (Evre A-B-C-D) kullanılmakla birlikte zaman içinde kullanımını kaybetmiştir (36). 1977 yılında the American Joint Committee on Cancer (AJCC) tarafından TNM (Tümör-Lenf nodları-Metastaz) sistemi oluşturulmuştur. Kabul gören bu sistem zaman içerisinde modifikasyonlar göstermiş olup en son 2010 yılında 7.edisyonu yapılmıştır (35). Tablo 2’de histopatolojik evreleme, Tablo 3’de TNM sınıflaması, Tablo 4’de Prostat adenokarsinom evrelemesi gösterilmiştir.

Evreleme için klinik olarak kullanılan bilgiler ve yöntemler,

- Kemik sintigrafisi, BT ve MRI inceleme
- Transrektal Ultrason (TRUS)
- Serum PSA seviyesi ölçümü
- Transrektal veya transperineal biyopsi
- Pelvik lenf nodu diseksiyonu ‘dur (37).

Tablo 2. Prostat Kanserlerinde Histolojik Derecelendirme (AJCC, 7th edisyon, 2010)

HİSTOLOJİK DERECE	
Gleason X	Gleason skor değerlendirilemeyen
Gleason ≤ 6	İyi diferansiye (belirsiz anaplazi)
Gleason 7	Orta derecede diferansiye (orta derecede anaplazi)
Gleason 8-10	Az diferansiye (belirgin anaplazi)

Tablo 3. Prostat Kanserlerinde TNM Sınıflaması (AJCC, 7th edisyon, 2010)

PRİMER TÜMÖR (T)	
KLİNİK (cT)	
TX	Prostattaki tümörün değerlendirilememesi
T0	Prostatta tümör bulunamaması
T1	Görüntüleme ile görülmeyen, palpe edilemeyen; klinik olarak değerlendirilemeyen tümör
T1a	Rezeke edilen dokunun %5 veya daha azında tümörün insidental histolojik olarak bulunması
T1b	Rezeke edilen dokunun %5'inden fazlasında tümörün insidental histolojik olarak bulunması
T1c	Tümörün iğne biyopsisi ile bulunması (örn; artmış PSA değeri yüzünden)
T2	Tümörün prostat içerisinde sınırlı olması*
T2a	Tümörün bir lobun yarısı veya daha azında bulunması
T2b	Tümörün her iki lobda değil ama bir lobun yarısından fazlasında izlenmesi
T2c	Tümörün her iki lobda izlenmesi
T3	Tümörün prostat dışına yayılması**
T3a	Kapsül dışına tek veya çift taraflı uzanım
T3b	Seminal veziküllerin tutulumu
T4	Tümörün seminal veziküller dışında komşu dokulara invazyonu veya fiksasyonu (mesane boynu, eksternal sfinkter, rektum, levator kasları, pelvik duvar)

PATOLOJİK (pT) Δ	
pT2	Tümörün prostat içerisinde sınırlı olması
pT2a	Tümörün bir lobun yarısı veya daha azında bulunması
pT2b	Tümörün her iki lobda değil ama bir lobun yarısından fazlasında izlenmesi
pT2c	Tümörün her iki lobda izlenmesi
pT3	Tümörün prostat dışına yayılması
pT3a	Kapsül dışına uzanım veya mesane boynuna mikroskopik yayılım ◇
pT3b	Seminal veziküllerin tutulumu
pT4	Tümörün seminal veziküller dışında komşu dokulara invazyonu veya fiksasyonu (mesane boynu, eksternal sfinkter, rektum, levator kasları, pelvik duvar)
REGIONAL LENF NODLARI (N)	
KLİNİK	
NX	Lenf nodlarının değerlendirilememesi
NO	Lenf nodu metastazının olmaması
N1	Lenf nodu metastazının olması
PATOLOJİK	
pNX	Lenf nodlarının değerlendirilememesi
pNO	Lenf nodu metastazının olmaması
pN1	Lenf nodu metastazının olması
UZAK METASTAZ (M) §	
M0	Uzak metastazın olmaması
M1	Uzak metastaz varlığı
M1a	Regional olmayan lenf nodlarına metastaz
M1b	Kemik metastazı
M1c	Kemik tutulumu olan veya olmayan diğer alanlara tümör metastazı

NOTLAR;

* Palpe edilemeyen veya görüntüleme yöntemleri ile görülmeyen, bir veya her iki lobda görülen tümör T1c olarak sınıflandırılır.

**Prostat apeksinin invazyonu, prostat dışı olmadığından T3 olarak değil T2 olarak kabul edilir.

Δ Patolojik olarak T1 sınıflaması yoktur.

◇ Cerrahi sınırda tümör olması R1 (Rezidüel mikroskopik hastalık) olarak mutlaka belirtilmelidir.

§ Birden fazla bölgede metastaz var ise en ileri sınıf olan pM1c kullanılmalıdır.

Tablo 4. Prostat Kanserlerinde Evreleme (AJCC, 7th edisyon, 2010)

Group	T	N	M	PSA	Gleason
I	T1a-c	N0	M0	PSA < 10	Gleason ≤ 6
	T2a	N0	M0	PSA < 10	Gleason ≤ 6
	T1-2a	N0	M0	PSA X	Gleason X
IIA	T1a-c	N0	M0	PSA < 20	Gleason 7
	T1a-c	N0	M0	PSA ≥ 10 < 20	Gleason ≤ 6
	T2a	N0	M0	PSA ≥ 10 < 20	Gleason ≤ 6
	T2a	N0	M0	PSA < 20	Gleason 7
	T2b	N0	M0	PSA < 20	Gleason ≤ 7
	T2b	N0	M0	PSA X	Gleason X
IIB	T2c	N0	M0	Herhangi bir PSA	Herhangi bir Gleason
	T1-2	N0	M0	PSA ≥ 20	Herhangi bir Gleason
	T1-2	N0	M0	Herhangi bir PSA	Gleason ≥ 8
III	T3a-b	N0	M0	Herhangi bir PSA	Herhangi bir Gleason
IV	T4	N0	M0	Herhangi bir PSA	Herhangi bir Gleason
	Herhangi bir T	N1	M0	Herhangi bir PSA	Herhangi bir Gleason
	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1	Herhangi bir PSA	Herhangi bir Gleason

NOT: PSA değeri ya da Gleason derecesi bilinmeyen tümörler T evresine göre evrelenebilir.

2.11. Tedavi

Prostat karsinomunda tedavi kararlaştırılırken klinik evre, preoperatif PSA, hastanın genel durumu yanı sıra iğne biyopsisindeki Gleason skoru da önemlidir (39). Hastalar düşük-orta-yüksek riskli olmak üzere üç gruba ayrılırlar ve hastanın özelliklerine göre tedavi şeması planlanır. Düşük riskli (PSA <10ng/ml, Gleason skor:6 ve cT1c-cT2a) prostat adenokarsinomlu hastalarda izlem, radikal prostatektomi, radyoterapi ve düşük doz brakiterapi tedavi seçeneklerinden biri tercih edilebilir. Orta derecede riskli (PSA 10.1-20ng/ml veya Gleason skor 7 veya cT2b-c) ve yüksek riskli (<20ng/ml veya gleason skor:8-10 veya ≥cT3a) prostat adenokarsinomlu hastalarda ise radikal prostatektomi, adjuvan eksternal-beam radyoterapi, hormonoterapi (Antiandrojenik ajanlar, Luteinize hormon releasing hormon analogu ve antagonistleri) tedavi seçeneklerinden biri veya birden çoklu kombinasyonları tercih edilebilir (40,41).

2.12. Prostat Adenokarsinomunda Prognostik Faktörler

2.12.1. Hasta Yaşı

Tanı anındaki hasta yaşı hastanın tedaviye yanıtı, uzak metastaz riski ve sağkalım açısından prognostik önem taşımaktadır. Yapılan çalışmalarda 65 yaş üstü hastalarda uzak metastaz görülme riski daha yüksek olduğu bulunmuştur (42). 70 yaş altındaki hastalarda da radikal prostatektomi ameliyatı sonrası rekürrens riskinin daha az olduğu gösterilmiştir (43).

2.12.2. Tümör Hacmi

Kanser alanının uzunluk x genişlik x kalınlık ölçümüdür. Radikal prostatektomi materyallerinde tümör hacmi, tümörün histolojik derecesi, evresi, tümör progresyonu ve hasta survivalı ile koreledir (44). Genellikle radikal prostatektomi ameliyatı sonrası artmış kanser rekürrens riski ile ilişkilidir (45). Tümör hacmi artışıyla tümörün ekstrakapsüler yayılım, cerrahi sınır pozitifliği, seminal vezikül invazyonu riskleri de artmaktadır (46). Tümör hacmi arttıkça tümörün diferansiyasyon kaybında artma ve metastaz riskinde artış izlenmektedir (47). Ayrıca Gleason grade 4 veya 5 olan bir tümörün 3.2 cc'den fazla tümör hacmine sahip olması lenf nodu metastaz riskini 100 kat arttırdığı gösterilmiştir (48). Yine diğer bir çalışmada da lenf nodu metastazı olan ve olmayan Gleason Skor 7 olgular karşılaştırıldığında lenf nodu metastazı olan olguların tümör hacimlerinin diğerlerinden yaklaşık 2 kat fazla olduğu bulunmuştur (49).

2.12.3. Tümör Yerleşimi

Prostat glandında tümörün hangi bölgede olduğu tümörün progresyonu açısından önemli bulunmaktadır. Çoğu çalışmada transizyonel zon karsinomlarının daha düşük Gleason skoruna ve patolojik evreye sahip olduğu gösterilmiştir (44). Ancak transizyonel zon yerleşimi karsinomların ekstraprostatik yayılım riski açısından yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Kimi araştırmacıya göre transizyonel zon yerleşimli karsinomların ekstraprostatik yayılım riski periferik zon yerleşimlilere oranla daha düşük bulunmasının sebebinin, transizyonel zonun tümöre bariyer oluşturarak periferik veya santral zona doğru değil, transizyonel zon içinde yayılmasına yol açması olduğu düşünülmüştür (1). Bazı araştırmacılara göre ise tümörde pozitif anterior ve mesane boynu cerrahi sınırı transizyonel zon yerleşimi karsinomlarda periferik zon yerleşimlilere

göre daha sık bulunmuştur (50). Klinik olarak bakılacak olursa tümörün anterior da yerleşim göstermesi, standart transrektal ultrason eşliğinde biyopsi alınması ile tanıma olasılığının düşük olması nedeniyle önemlidir. Bu nedenle bu tümörler daha yüksek oranda cerrahi sınır pozitifliğine ve yüksek riskte biyokimyasal rekürrense sahip olabilirler (44).

2.12.4. Histolojik Gleason Derecesi ve Tümör Evresi

AJCC 7edisyonuna göre prostat adenokarsinom evrelemesinde Gleason skor ≤ 6 + PSA < 10 ng/ml + cT1c-cT2a olan olgular iyi diferansiye ve düşük riskli olarak, Gleason skor 7 + PSA 10.1-20 ng/ml + cT2b-c olan olgular orta derecede diferansiye ve orta derecede riskli olarak ve Gleason skor ≥ 8 + PSA > 20 ng/ml + \geq cT3a olan olgular az diferansiye ve yüksek riskli grup içinde olarak tanımlanmıştır. Tümörün histolojik Gleason derecesi en önemli prognostik faktörlerden olup patolojik tümör evresini belirleyen en önemli belirteçlerdendir (1, 35). Yapılan çalışmalarda da Gleason skor ≥ 8 olan hastalarda biyokimyasal rekürrens, metastaz ve radikal prostatektomi sonrasında hastalığın progresyonunda ve hastalıktan ölüm riskinde artış olduğu görülmüştür (51).

2.12.5. Ekstrakapsüler Yayılım

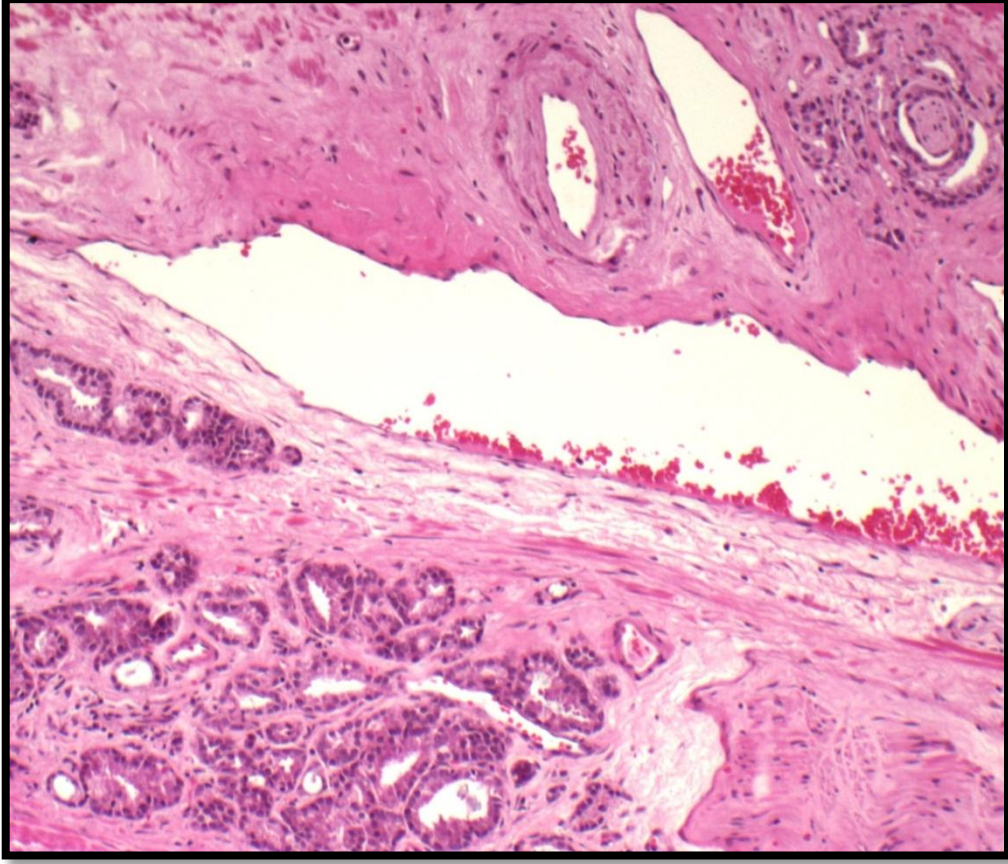
Tümörün prostat sınırları dışına çıkması anlamında olmakla beraber prostat glandının gerçek bir kapsülü olmadığı için değerlendirilmesi oldukça güçtür. Prostat glandı posteriyor, posterolateral ve lateral yönlerinde ekstrakapsüler yayılım değerlendirilirken tümörün ekstraprostatik yağ dokusu içinde olması gereklidir. Ancak prostatektomi materyallerinin %1'inde intraprostatik yağ dokusu olabileceği akılda tutularak bu açıdan uyanık olunmalıdır. Prostat glandı posterolateral yönünde ekstrakapsüler yayılım değerlendirilirken tümörün gevşek bağ doku içinde olması ya da nörovasküler demetler içindeki perinöral aralıkta tümörün olması, ekstraprostatik yağ dokusu içinde tümör olmaması halinde bile ekstrakapsüler yayılım olarak değerlendirilir. Prostat apeksinde, anterior tarafında ve mesane boynunda ise ekstraprostatik yağ doku çok azdır ve ekstraprostatik yayılımı değerlendirmek bu bölgelerde daha zor olmakla birlikte çizgili kas dokusu içinde tümör görülmesi pozitif kabul edilir. Ekstrakapsüler yayılım olması hastalığın progresyonu açısından ve de prostatektomi operasyonu sonrasında ek tedavi ihtiyacını belirlemek açısından önemlidir (52).

2.12.6. Cerrahi Sınır Pozitifliği

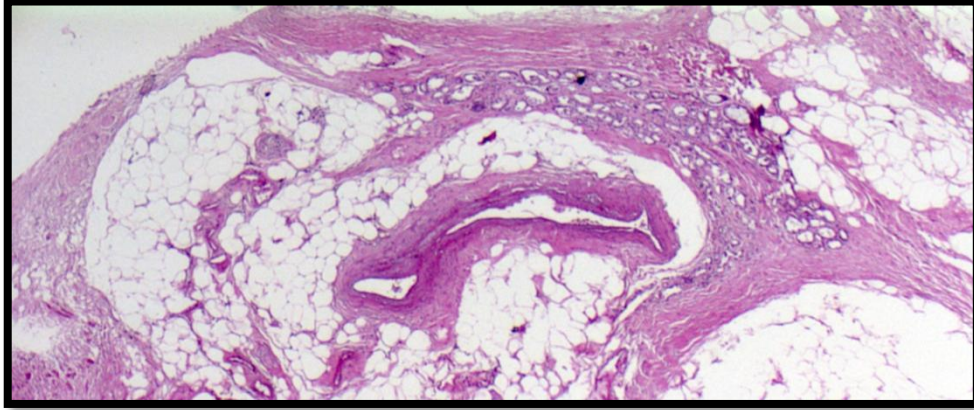
Radikal prostatektomi operasyonu sonrasında prostat glandı cerrahi sınır durumu postoperatif biyokimyasal rekürrens ve hastalık progresyonu açısından seminal vezikül invazyonu veya lenf nodu metastazı olmayan bir tümörde Gleason skordan bağımsız olan önemli bir parametredir (1, 53). Cerrahi sınır boyası ile boyalı alanda prostatın apeks ve basisinde posteriyor-posterolateral, lateral ve anteriorunda tümör görülmesi ile karakterizedir. Prostatektomi materyallerinin yaklaşık %11-38'inde cerrahi sınır pozitifliği görülmektedir (53). Anormal digital muayene, Gleason skorunun >7 olması, preoperatif PSA >10ng/mL olması operasyon sonrası cerrahi sınır pozitifliği riskini artıran prediktif değerlerdir (1). Ekstraprostatik yayılım olmasına bakılmaksızın pozitif cerrahi sınır varlığında hastaya adjuvan radyoterapi tedavisi yararlıdır (1, 53).

2.12.7. Seminal Vezikül İnvazyonu

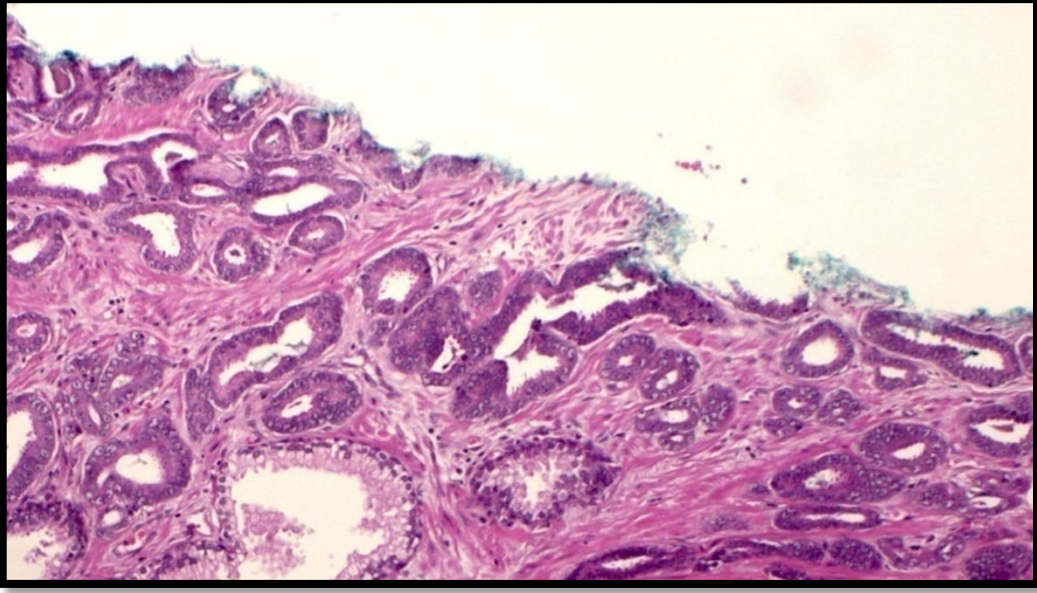
Radikal prostatektomi ameliyatı sonrasında tümörün seminal veziküle invaze olduğunu görmek genellikle kötü prognoz göstergesi olarak kabul edilmekte olup genellikle ektrakapsüler yayılım ile ilişkilidir. İnvazyonu göstermede makroskopik örneklemenin etkisi büyüktür. Önerilen örnekleme biçimi prostat-veziküle seminalis birleşim yerini içerecek şekilde ve tümünü örnekleme şeklindedir. Eğer invazyon ejakulator duktus boyunda ilerleyerek ekstraprostatik seminal veziküle uzanıyor ise tip 1; prostat basisinden direkt seminal veziküle uzanıyorsa tip 2a, ya da perivezikal yağ dokudan ilerleyerek seminal vezikülü invaze ediyor ise tip 2b; prostattan direkt yayılım olmaksızın metastaz görülüyor ise tip 3 olarak sınıflandırılır (54). Yapılan çalışmalarda tümörün veziküle seminalis invazyonu göstermesi yüksek Gleason skor ile, artmış lenf nodu metastaz riski ve erken biyokimyasal rekürrens riski ile ilişkili bulunmuştur (55).



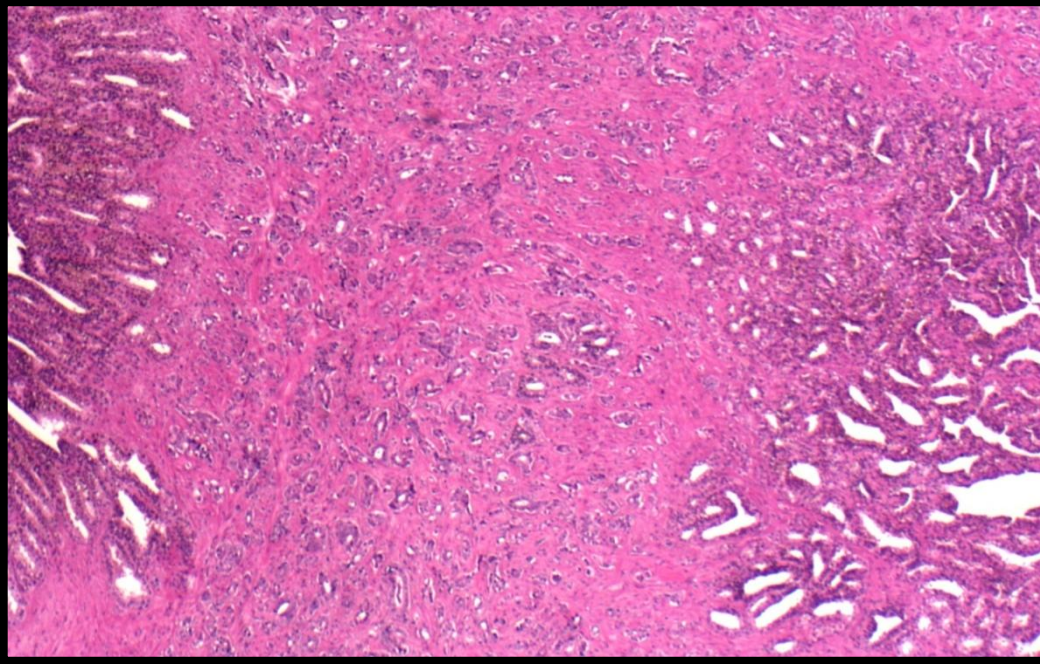
Resim 15. Ekstrakapsüler yayılım; nörovasküler demet içerisinde tümör grupları görülmektedir (x100 büyütme)



Resim 16. Ekstrakapsüler yayılım; periprostatik yağ doku içinde tümör hücre grupları izlenmektedir (x100 büyütme)



Resim 17. Tümörün cerrahi sınır boyası ile bitişik olduğu görülmektedir (x100 büyütme)



Resim 18. Prostat asiner adenokarsinomunun veziküla seminalise invazyonu (x40 büyütme)

2.12.8. Lenfovasküler İnvazyon

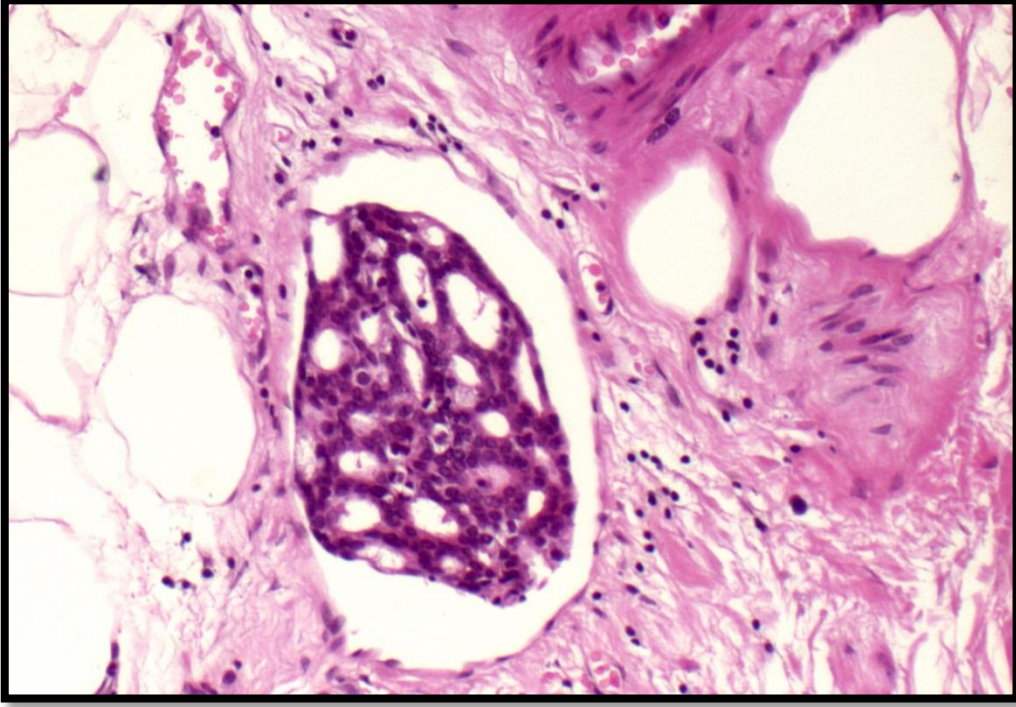
Fiksasyon artefaktı nedeniyle çoğu zaman değerlendirilmesi zor olan lenfovasküler invazyon yapılan çok sayıda çalışma sonucunda ileri evre, biyokimyasal rekürrens ve hastalığın prognozu açısından oldukça önemlidir (56). Gerçek damar yapısını retraksiyon artefaktından ayırd etmek gereklidir. Bu ayırımında 1.kleflerin keskin sınırlı olmasına karşın damar yapısının sınırları kıvrıntılı olması, 2.damar boyutunun orantısız bir şekilde tümör boyutundan büyük olması, 3.endoteliyal tabakanın görülmesi, 4.damar lümeninde eritrosit veya fibrin varlığı yardımcıdır (49). Ayrıca çoğu intraprostatik küçük vasküler yapılarda endotel tabakası altında musküler tabakanın ince olduğu veya hiç olmadığı dikkate alınmalıdır. Arada kalınan olgularda CD31, CD34 veya D2-40 gibi epitelyal belirteçlerden yararlanılabilir (47). Yapılan bir çalışmada metastatik olgularda lenfovasküler invazyon sıklığı metastaz olmayanlara kıyasla 2 kat artmış bulunmuştur (49). Diğer bir çalışmada ise lenfovasküler invazyon varlığı ile yüksek preoperatif PSA düzeyi, yüksek Gleason skoru, ekstraprostatik yayılım varlığı, lenf nodu metastazı ve pozitif cerrahi sınır arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (57).

2.12.9. Perinöral İnvazyon

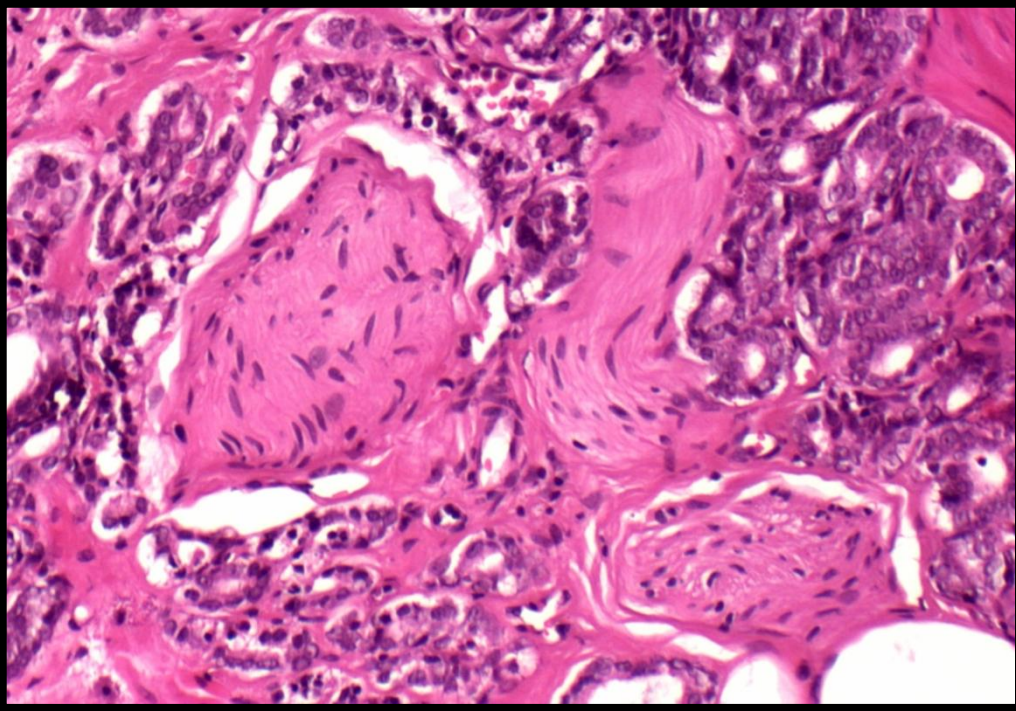
Prostat adenokarsinomlarında sıklıkla perinöral invazyon görülmektedir. Yapılan çalışmalarda perinöral invazyon varlığı ile Gleason grade, serum PSA veya tümör hacmi arasında anlamlı ilişki yoktur. Ayrıca biyokimyasal rekürrens ile de ilişki bulunmamıştır. Bu nedenle varlığında postoperatif radyoterapi tedavi ihtiyacı gerektirmez. Önemli bir prognostik parametre değildir (1).

2.12.10. Lenf Nodu Metastazı

Biyokimyasal rekürrens ve hastalıktan ölüm riski açısından bağımsız bir prognostik faktördür. Gleason skor ≥ 8 olan hastalarda lenf nodu metastazı olma riski bütün prostatektomiler içinde %1-2 civarındadır. Gleason skor ≤ 6 olan hastalarda ise lenf nodu metastaz riski yok denecek kadar azdır (49) Bu sonuç ise radikal prostatektomi ve lenf nodu diseksiyonu operasyonun düşük risk taşıyan prostat karsinomlu hastalarda seçilen tedavi yöntemi olmasından ortaya çıkmaktadır (54).



Resim 19. Lenfovasküler invazyonun mikroskopik görünümü (x200 büyütme)



Resim 20. Perinöral invazyonun mikroskopik görünümü (x200 büyütme)

2.12.11. PSA Seviyesi

Preoperatif serum PSA seviyesinin yüksek olması tümör hacminin fazla olması, gleason skorun yüksek olması, cerrahi sınır pozitifliği riskinde artış, lenfovasküler invazyon riskinde artış ve lenf nodu metastaz riskinde artış ile ilişkilidir (1, 49, 57). Ayrıca radikal prostatektomi operasyonu sonrasında da hastalığın takibi serum PSA düzey ölçümü ile yapılmaktadır. Yapılan bir çalışmaya göre preoperatif serum PSA düzeyi yüksek olan hastalarda biyokimyasal rekürrens riski yüksek bulunmuştur (45). Erkeklerde prostat kanseri taramasında ve prostat adenokarsinomu olan hastalarda hastalığın takibi açısından serum PSA takibi önemlidir.

2.13. DNA Transkripsiyonu

DNA'nın belli bir geninden RNA molekülünün sentezlenmesi olayına transkripsiyon denir. Oluşan RNA molekülünün şifresi doğrultusunda protein sentezlenmektedir. Proteini oluşturan aminoasitlerin mRNA şifresine uygun olarak sentezine de translasyon adı verilmektedir. Ökaryotik bir hücrede DNA replikasyonu ve transkripsiyon nükleusta, translasyon ise sitoplazmada gerçekleşir.

Ana DNA iplikçığinden şifrenin RNA'ya aktarılması RNA Polimeraz tarafından gerçekleşir. RNA Polimeraz enzimi I, II, III olmak üzere 3 farklı yapıdadır. RNA Polimeraz I çekirdekçikte yer alır ve rRNA'yı kodlayan genlerin transkripsiyonunda rol alır. RNA Polimeraz II çekirdekte yer alır ve proteinleri kodlayan genlerin transkripsiyonunda rol alır. RNA Polimeraz III ise tRNA sentezinde görev alan gen transkripsiyonunda rol alır. RNA Polimeraz II enzim aktivasyonu için enzimin karboksil bölgesinde yer alan serin aminoasitlerinin fosforillenmesi gereklidir. RNA Polimeraz II enziminin DNA'ya bağlanması, transkripsiyon faktörleri denen proteinler yardımı ile gerçekleşmektedir. Transkripsiyon faktörlerinin çoğu bir başka hücre tarafından sentezlenip başka hücrelere sinyal ileten hormonlarla sağlanır. Bunlar arasında yağda çözünen ve hücre membranından kolaylıkla geçebilen steroid yapılı hormonlar oldukça önemlidir.

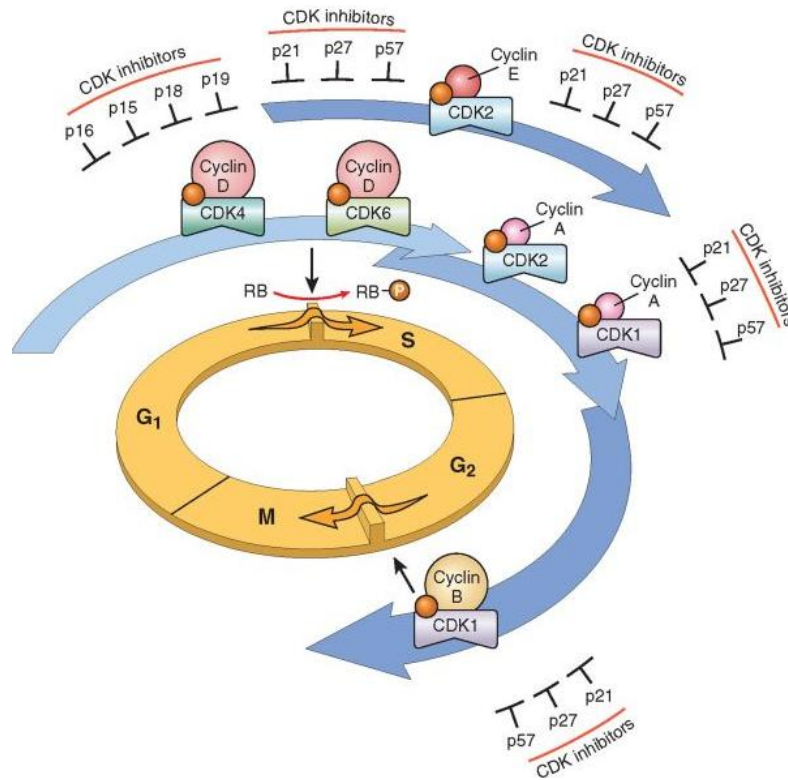
Transkripsiyon başlama, uzama ve sonlanma olmak üzere 3 temel evreden oluşmaktadır. Uzama fazı boyunca pozitif transkripsiyon elongasyon faktör b (P-TEFb), RNA Polimeraz II enziminin karboksiterminal ucunu fosforilleyerek enzimi aktif hale getirir. P-TEFb, Siklin bağımlı kinaz 9 (CDK9) ve çoğunlukla Siklin T1 olmak üzere

Siklin T1, Siklin T2 veya Siklin K'dan birinin birleşmesiyle oluşan kompleks yapısıdır (58, 59).

2.14. Hücre ve Hücre Döngüsü

Hücre çoğalması basamaklar halinde gerçekleşir. G0 fazı: ara dönem (gap), bu dönemde hücre ya farklılaşır döngüye girmez ya da tekrar bölünmek üzere döngüye girer. G1 fazı: RNA ve protein sentezi, DNA sentezi için hazırlık dönemidir. S fazı: DNA replikasyonu bu dönemde gerçekleşir. G2 fazı: DNA sentezi tamamlanır, RNA ve protein sentezi devam eder. M fazı: Mitoz gerçekleşir. S+G1+G2 dönemlerine İnterfaz denir. Mitozu takiben oluşan yeni hücreler G0 ya da G1 dönemine girer (60) (Şekil 5). Hücre siklusunun 1.G1/S Geçiş bölgesinde ve 2.G2/M Geçiş bölgesinde olmak üzere iki temel kontrol noktası vardır.

Hücre siklusu 1.Hücre büyüme faktörleri ve ekstraselüler sinyaller, 2. Siklinler, 3.Siklin-bağımlı kinazlar (CDK), 4.CDK inhibitörleri (CDKIs) tarafından düzenlenir (60).



Şekil 5. Hücre döngüsünün şematik gösterilmesi

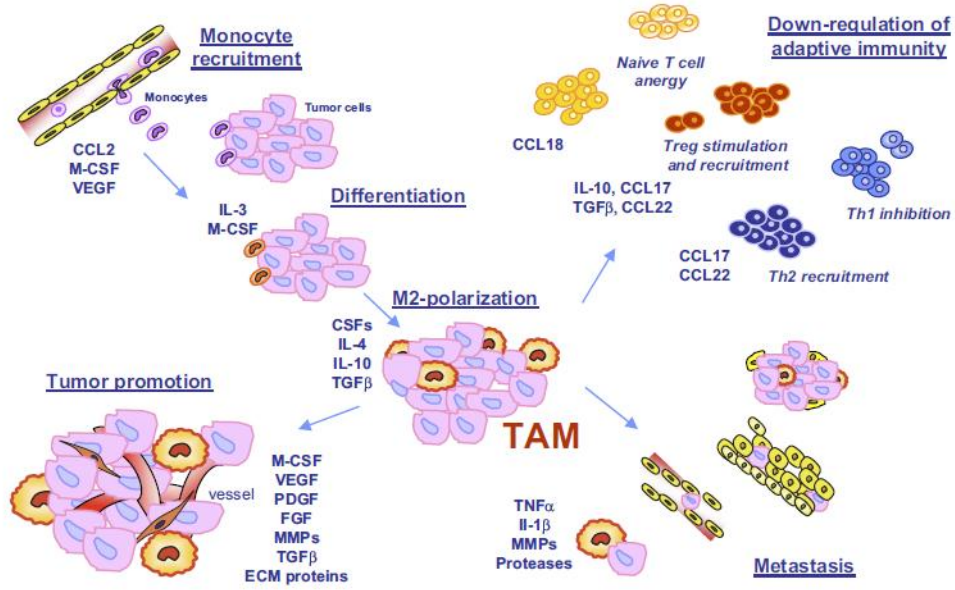
(Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Eight edition)

2.15. Tümör İlişkili Makrofajların Tümör Progresyonundaki Rolü

Yapılan çalışmalar ve araştırmalar sonucunda inflamasyon ile kanser arasında ilişki olduğu saptanmıştır. İnflamatuar mikroçevrenin tümör gelişimi ve ilerlemesinde etkili olduğu bulunmuştur. Bu iki antiteyi birbirine bağlayan durumun inflamasyon ilişkili programın onkogenleri aktive etmesi ve sonucunda inflamatuvar durumun kansere yol açması olarak düşünölmektedir. Bu yolda ise transkripsiyon faktörleri, sitokinler (TGF β gibi) ve kemokinler rol almaktadırlar (61,62).

Makrofajlar kanda dolaşan monositlerden köken almaktadır. Dokuda M1 ve M2 olmak üzere farklı makrofaj tiplerine diferansiye olmaktadır. TGF β monositlerin makrofaja diferansiye olmalarında etkilidir Genel olarak tümör ilişkili makrofajlar (TAM; Tumor-associated macrophages), M2 fenotipinde olan tipte olup tümör içindeki inflamatuvar hücrelerinin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. (10, 61, 63).

Tümörde TAM' ların artışını sağlayan tümör hücrelerinden ve tümör stromal hücrelerinden salgılanan CSF-1, CCL2-3-4-5-8, vasköler endotelial growth faktör (VEGF), makrofaj inflamatuvar protein-1 alfa (MIP-1 α), makrofaj migrasyon inhibitör faktör (MIF) gibi monosit kemoatraktanlarıdır. Bununla beraber TAM' lardan salgılanan çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler, inflamatuvar mediyatörler ve proteolitik enzimler, makrofajların tümör ilerlemesinde etkili olduğunu göstermiştir (şekil 6). TAM' lardan salınan vasköler endotelial growth faktör (VEGF), basic fibroblast growth faktör (bFGF), epidermal growth faktör (EGF), transforming growth faktör (TGF β ve α) tümör hücrelerinde büyümeyi tetikler ve endotelde stimölyasyona neden olarak tümör vaskölaritesini arttırır. TAM' lardan salınan IL-6, IL-8, tümör nekrotizan faktör (TNF- α) yine anjiyogeneziste etkilidir. TAM' lardan salınan MMP2, MMP7, MMP9, MMP12, serin proteazlar, plazminojen aktivatör inhibitörleri ile de tümör stromasında ekstrasellöler matrikste yeniden yapılanma ve sonucunda tümör hücre migrasyonu, invazyonu ve metastazına zemin hazırlamaktadır (62, 63). Solid organ tümörleri üzerinde yapılan çoğu çalışmada, yüksek yoğunlukta TAM içeren tümörlerin daha ileri evrede oldukları, daha sık metastaz yaptıkları gösterilmiştir (64).



Şekil 6. TAM'ların hücre üzerine etkileri (J Leukoc Biol. 2009;86(5):1065-73)

2.16. Kullanılan İmmunohistokimyasal Belirteçler Hakkında Bilgiler

2.16.1. CD68

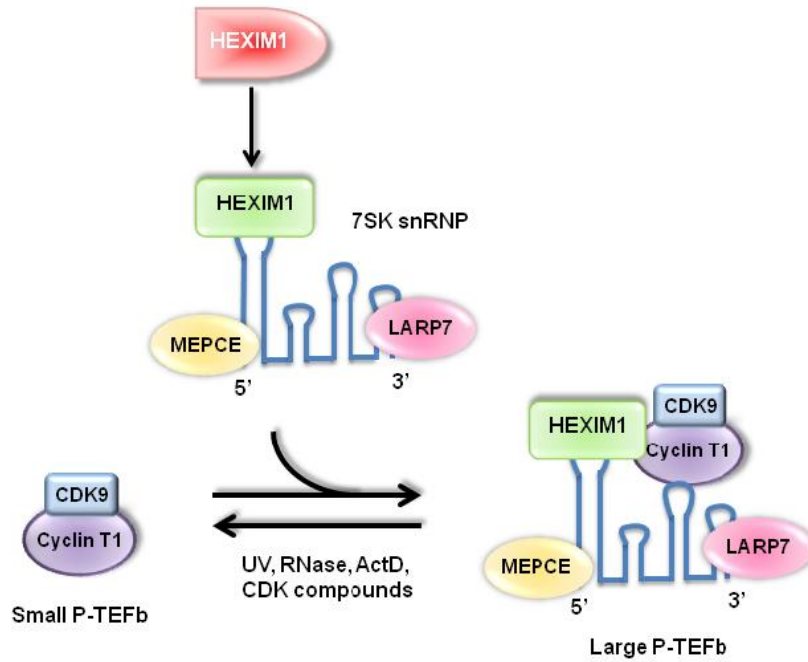
Monosit ve makrofajların sitoplazmasında yerleşim gösteren, lizozomlardan salınan bir glikoproteindir. Monoklonal KP1 ve PG-M1 klonlarına ait CD68 antikoru sadece monosit/makrofajlar ile reaksiyona girer. Araştırma ve çalışmalarda doku makrofajlarını işaretlemek için kullanılmaktadır (65).

2.16.2. HEXİM1 (Hexamethylene bisacetamide (HMBA)-inducible protein 1)

Hexamethylene bisacetamide (HMBA)-inducible protein 1, ilk olarak 1999 yılında Kusuhara ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada vasküler düz kas hücrelerinde HMBA tedavisi sonrasında hücre proliferasyon inhibisyonuna neden olan protein olarak tanımlanmıştır (66). Bu nedenle diğer bir adıyla "Cardiac Lineage Protein-1 (CLP-1)" olarak bilinmektedir. Daha sonra yapılan çalışmalarda ise kalp kası hücrelerinde vaskularizasyonu arttırdığı, miyositlerde kompensatuar hipertrofi yaptığı hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (67). Yapılan araştırmalarda HEXİM1 ekspresyonunun, östrojen tarafından downregüle edildiği ve HEXİM1 proteininin ER-Alfa'nın transkripsiyonel aktivitesini baskıladığı ve meme hücre büyümesini durdurduğu gösterildikten sonra "Estrogen Downregulated Gene 1 (EDG 1)" olarak da bilinmektedir (68).

2003 yılında over karsinomlarında yapılan SEREX immunoscreening çalışmasında HEXİM1 tümör antijeni olarak tanımlanmış olup kromozom 17q21.1-21.3 bölgesinde kodlu bulunmuştur. 17.kromozomun bu bölgesinde HER2/neu, BRCA1 genleri de kodlanmaktadır. Bu çalışmada Real time RT-PCR ile 25 over karsinomundan sadece 1 tanesinde HEXİM1 ekspresyon artışı saptanmış olup normal kontrol dokularının hiçbirinde ekspresyon bulunmamıştır. Sonuç olarak bu çalışmada erken evre ovarian seröz karsinomlarda yararlı bir belirteç olduğu sonucuna varılmıştır (69).

Yapılan bir in vitro çalışmada (RNA afiniteli kromatografi, mass spektrometre ve immunpresipitasyon çalışmaları) hücre transkripsiyonunda uzama fazında rol alan RNA Polimeraz II enzimini fosforilleyerek aktive eden P-TEFb' yi 7SK small nükleer RNA (snRNA) ile birleşerek oluşturdukları yapı ile inhibe eden bir protein olan HEXİM1 proteinini tanımlamışlardır (15) (Şekil 7).



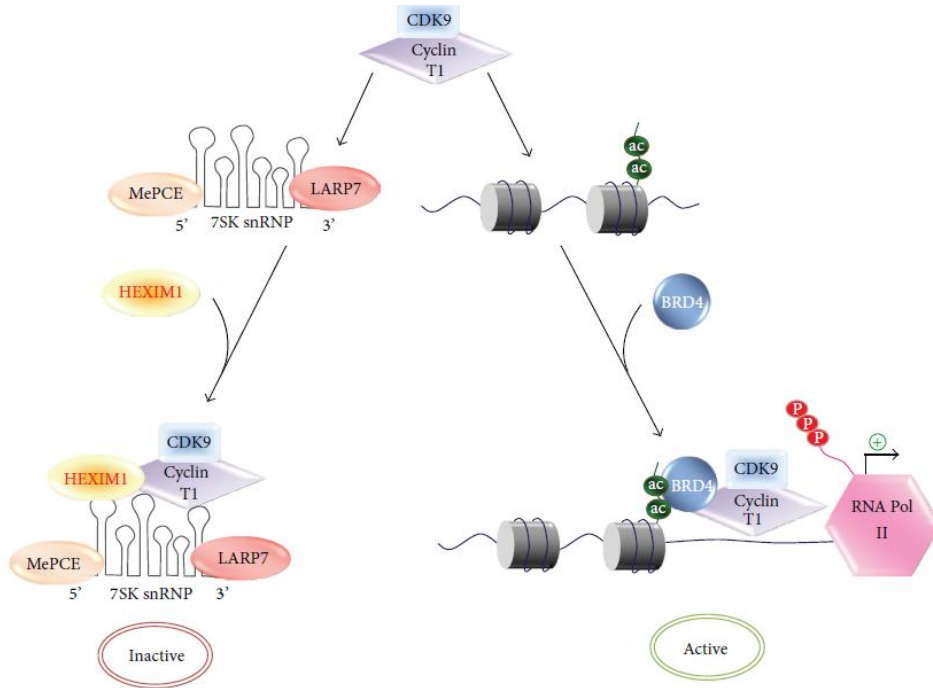
Şekil 7. HEXİM1 proteinin hücre nükleusunda küçük P-TEFb ile birleşerek büyük P-TEFb kompleksi oluşturmasının şematik gösterilmesi (Cancers 2013;5(3):838-56)

P-TEFb, siklin bağımlı kinaz 9 (CDK9) ve siklin T1/T2/K 'dan oluşan kompleks bir yapıdır. P-TEFb'nın görevi hücre transkripsiyonunda uzama fazında rol alan RNA Polimeraz II enzimini fosforilleyerek aktive etmektir. HEXİM1 proteini ise 7SK snRNA ile birleştiğinde konformasyonel bir değişikliğe uğrayarak P-TEFb'yi oluşturan CDK9' a bağlanarak CDK9' un kinaz aktivitesini inhibe eder. Böylece CDK9'un RNA polimeraz II

enzimini aktive etmesine engel olarak, transkripsiyonun uzama fazını bloke eder. 7SK snRNA' da HEXİM1-P-TEFb kompleksini stabilize eder. HEXİM1 proteini CDK9' u bloke ettiği bilinen tek proteindir. Böylece hücre siklusu G1 fazından S fazına geçemez ve hücre siklusu G1 fazında durur (15, 16).

Normal hücre siklusunda hücre kültüründe HeLa hücrelerinde nükleer P-TEFb'nin yarısının HEXİM1, 7SK small nükleer RNA ile kompleks halinde olduğu gösterilmiştir. Nükleer P-TEFb'nin diğer yarısının ise P-TEFb'nin regülatörlerinden bromodomain protein (Brd4)'e bağlı olarak beklediği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda P-TEFb' nin bir kısmında ribonükleoprotein (RNP) kompleksi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (16, 70, 71) (Şekil 8).

P-TEFb aktivitesinin inhibe olduğu zamanlarda P-TEFb' nin HEXİM1 ve 7SK ile kompleks oluşturduğu gösterilmiştir Ayrıca P-TEFb, Androjen Reseptörü, Retinoblaston proteinin, Brd4, NF-kB, STAT3 gibi transkripsiyon faktörleri ile birleştiğinde HEXİM1 ve 7SK ile oluşturduğu kompleksin dağıldığı da gösterilmiştir (71, 72).



Şekil 8. HEXİM1 proteinin CDK9 üzerinden hücre transkripsiyonuna etkisinin şematik gösterilmesi (Biomed Res Int. 2014;2014:232870)

2.16.3. TGFβ (Transforming Growth Faktör Beta)

Transforming Growth Factor Beta süperailisinin bir üyesi olan TGFβ, hücre büyümesi, diferansiyasyonu, apoptosis, migrasyonu, hücre adezyonu ve immun cevap

başta olmak üzere çok çeşitli hücrel durumları regüle eden bir sitokindir. Tümörigenezde TGF β tümör supressör rol oynayarak epitelyal hücrelerin büyümesini sınırlar, hücre diferansiyasyonunu kontrol eder. Ancak ileri evre epitelyal tümörlerde ise anjiyogenezisi artırarak epitelyal mezenkimal transizyonu (EMT) artırarak kanserin ilerlemesinde ve kanser metastazında etkili ana sitokindir. TGF β sinyali hücrede çok fazla aşama ile iletilmekte olup bu yolağın negatif regülasyon mekanizmaları varlığı ile hücrede sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir (13).

TGF β 1, TGF β 2 ve TGF β 3 olmak üzere 3 farklı isoformu vardır. TGF β 1 en bol olan ve en sık ekspresse edilen formudur. TGF β etkisini, TGF β Reseptör I (T β RI), TGF β Reseptör II (T β RII) ve TGF β Reseptör III (T β RIII) reseptörleri üzerinden gösterir. TGF β , T β RIII' e bağlandıktan sonra sinyal iletimini transmembran serin/threonin protein kinaz aktivitesine sahip olan T β RI ve T β RII ile sağlar. T β RI transkripsiyon faktör ailesinden olan SMAD2 ve SMAD3 proteinlerini fosforilize ederek intrasellüler sinyal iletimini başlatır. Sitoplazmada fosforilize olan SMAD2 ve SMAD3'e SMAD4' de katılarak sitoplazmadan nükleusa transkripsiyon hedef genlerini aktive etmek için geçerler. SMAD7, SMAD2 ve SMAD3' ün fosforilizasyonunu inhibe eden ve TGF- β sinyalini inhibe eden inhibitör SMAD'dır (9, 10, 12, 13) (Şekil 9).

TGF β /SMAD sinyal yolağının amacı hücre siklusunun G1 fazında bulunan hücreleri durdurarak hücre proliferasyonunu durduraktır. Bunu da CDK inhibitörleri olan p15 ve p21 seviyesini artırarak yapmaktadır. Ayrıca pro-apoptotik Bax genini up-regüle ederek ve anti-apoptotik Bcl2 genini down-regüle ederek apoptozisi stimüle etmektedir. Kanser gelişiminde ise TGF β 'ya karşı direnç geliştiği ve duyarsızlık olduğu düşünülmektedir (7). Kolon, pankreas gibi bazı kanserlerde de TGF β ' ya direnç gelişimi yanı sıra özellikle SMAD4 olmak üzere SMAD proteinlerinde ve/veya TGF β reseptörlerinde defekt olduğu gösterilmiştir. Meme, akciğer, prostat gibi bir çok kanserde TGF β 'nın büyüme inhibitörü etkisine direnç geliştiği düşünülmekle birlikte bu mekanizma tam olarak anlaşılammıştır. Bunların yanı sıra hücre yüzeyinde bulunan T β RI, T β RII ve T β RIII ekspresyonunda azalma, inhibitör SMAD7 ekspresyonunda artmanın, TGF β direncine neden olabileceği düşünülmektedir (9, 10, 11). Prostat Kanseri dokularında yapılan çalışmalarda T β RI ve T β RII ekspresyonunda kayıp gösterilmiştir (73).

Kanser hücreleri ekspresse ettikleri tümör spesifik antijenler nedeniyle immun sistem tarafından tanınırlar ve bu tümör hücrelerinin destrüksiyonuna yol açar. Ancak tümör hücrelerinden salgılanan TGF β , aktive kanser hücresi aracılı immunosupresyona neden olur ve kanser hücreleri immun mekanizmadan kaçır. TGF β 'nın immunosupresif

etkisi T hücreleri ve makrofaj gibi tümör presente eden hücreler (APCs) üzerinden gerçekleşir (9, 10).

TGF β 'nin transkripsiyon regülasyonu dışında hücrede aktin filamentleri reorganizasyonu ve epitelyal mezankimal transizyon (EMT) rolü de vardır. İleri evre kanserlerde kanserin ilerlemesi ve metastaz yapma yeteneği, neoanjyogenezis, immün yanıtta kaçma ve EMT ile kazanılmaktadır (8).

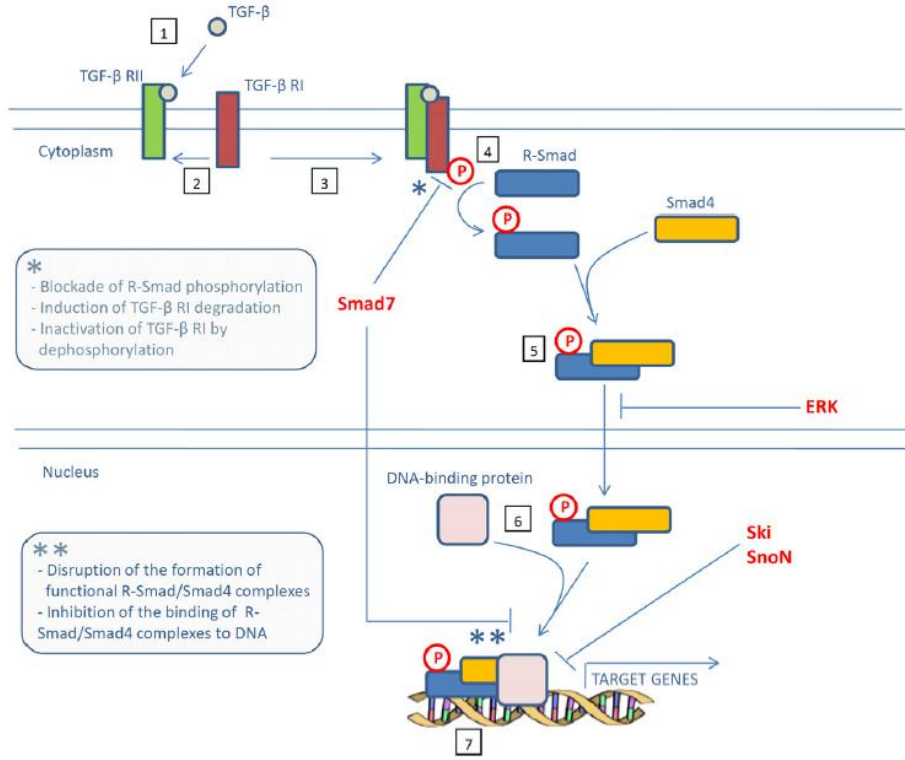
2.16.4. SMAD2

TGF β ailesi direkt olarak SMAD sinyal yolağını aktive etmektedir. SMAD ailesinin 1'den 8'e kadar olmak üzere 8 adet SMAD proteini tanımlanmıştır. Bunlar 3 fonksiyonel gruba ayrılmışlardır: 1. Reseptör tarafından aktive edilen SMADlar (R-SMADs), 2. Ortak mediatör SMADlar (Co-SMADs), 3. İnhibitör SMADlar (I-SMADs) (12, 13).

SMAD2 proteini R-SMAD grubunda olup 18. Kromozomda kodlanmaktadır. SMAD2 ve SMAD3'ün her ikisi beraber, T β RI tarafından direkt olarak C-Terminal uçlarından fosforile edilerek aktive olmaktadır. Bu fosforilasyon neticesinde hücre sitoplazmasında bulunan Co-SMAD proteinlerine (SMAD4) bağlanma ve sonrasında nükleusa translokasyon gerçekleşir. Böylece tüm SMAD proteinleri hücrenin transkripsiyonel aktivitesine co-aktivatör veya co-repressör olarak etki ederek TGF β hedef genleri üzerinde regülasyonu sağlar (Şekil 9). SMAD2 ve SMAD3'ün nükleus içine etkileştiği aralarında BRCA1, BRCA2, c-MYC, PAX8'in de bulunduğu 20'den fazla protein olduğu bildirilmiştir. Ancak SMAD2 ve SMAD3'ün TGF β 'nin hangi etkisini hangisinin ilettiği net olarak ayırd edilememiştir (12).

Hücre siklusundaki G1 fazında rol alan CDK8 ve CDK9, SMAD2/3/4 kompleksini fosforile eder ve SMAD bağımlı transkripsiyonu aktive eder. Böylece CDK8 ve CDK9 SMAD transkripsiyonel aktivatörlerin ve RNA Polimeraz enziminin regülasyonunu kontrol ederler. (14).

Serviks, kolon, akciğer ve karaciğer karsinomlarında SMAD2 kaybı ve mutasyonu gösterilmiştir (10). Yapılan prostat hücre kültürü çalışmasında SMAD2 gen ekspresyon kaybında hücrelerde malign transformasyon görülmüştür (74).



Şekil 9. TGFβ/SMAD yolağının şematik gösterilmesi (Int J Mol Sci. 2013;14(12):23774-90).

2.16.5. SMAD7

SMAD7 proteini, aynı zamanda “Mother Against Decapentaplegic Homolog 7 (MADH7)” olarak da bilinmekte olup 18. Kromozomda kodlanmaktadır. SMAD7 proteini I-SMAD grubundan olup sitoplazmada TβRI’ in SMAD2/3’ ü fosforilize etmesini inhibe ederek ve de nükleusta da SMAD2/3/4 kompleksinin DNA ile birleşmesini engelleyerek TGFβ sinyalini inhibe eder. SMAD7’nin ana rolü TGFβ’nın negatif regülasyonudur (10, 13) (Şekil 9).

İnsan kolon kanserli doku ve kansere komşu kolon dokusundan Western-Blot yöntemi ile yapılan bir çalışmada, SMAD7 proteinin kanserli dokuda, komşu normal dokuya oranla anlamlı artmış ekspresyonu olduğu gösterilmiştir (75). Yapılan diğer çalışmalarda, SMAD7’nin Ülseratif Kolit, Crohn Hastalığı gibi inflamatuvar bağırsak hastalıklarında, hatta Helicobacter Pylori gastritinde dahi TGFβ ilişkili anti-inflamatuvar sinyali sınırlandırmak için aşırı ekspresyonu gösterilmiştir (13). Ayrıca prostat hücre kültüründe ve prostat kanserli ratlar üzerinde yapılan çalışmalarda, prostat kanser hücrelerinde ektopik SMAD7 ekspresyon artışının apoptozisi indüklediği gösterilmiştir (76, 77).

2.16.6. MMP9 (Matriks Metalloproteinaz 9)

Matriks Metalloproteinazları (MMPs), çinko bağımlı proteazlar ailesinden olup ekstrasellüler matriksin yapısal komponentlerinin proteolitik degradasyonundan sorumludurlar. MMP9 tümör büyümesinde, invazyonunda, anjiyogenezisde ve kanser metastazında rol aldığı bilinmektedir. Stromal ve inflamatuvar hücreler ile tümör hücrelerinden salgılanmaktadır (78,79). İnsan prostat kanser hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda TGF β 'nın MMP9 üretimini indüklediği gösterilmiştir (80).

GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olguların Genel Özellikleri

Bu çalışmada 2000-2011 yılları arasında Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı arşivi kullanılarak prostat adenokarsinomu tanısı alan olgular yeniden gözden geçirildi ve çalışmaya düzenli klinik takibi olan 100 olgu alındı. Her olgunun dosyasından takip süresi, hayatta kalma süresi, klinik takip bilgileri (serum PSA düzeyleri, transrektal ultrason bulguları, kemik sintigrafisi ve MR tetkik sonuçları, preoperatif ve postoperatif tedavileri) araştırıldı. Çalışmaya Hastane Klinik Araştırmalar ve Etik Kurul onayı alındıktan sonra başlandı.

3.2. Hematoksilen&Eozin (H&E) Boyalı Kesitlerin Değerlendirilmesi

Her olgunun H&E boyalı preparatlarının tamamı yeniden değerlendirilerek, olguların tümü modifiye 2010 Gleason Derecelendirme Sistemine göre yeniden derecelendirildi. İstatiksel değerlendirme yapılırken olgular iki farklı Gleason skorlama grubu oluşturularak sınıflandırıldı. Buna göre, Gleason skor grubu-1: Gleason skor ≤ 7 (Düşük-Orta) ve Gleason skor ≥ 8 (Yüksek) olmak üzere 2'ye ayrıldı. Gleason skor grubu-2 ise Gleason skor 6-7-8-9 olmak üzere 4' e ayrıldı.

Ayrıca ekstrakapsüler yayılım varlığı, cerrahi sınırların durumu, seminal vezikül invazyonu, lenfovasküler ve perinöral invazyon varlığı yeniden incelendi. Lenf nodu diseksiyonu yapılan olgularda lenf nodlarına ait H&E boyalı preparatlarının tamamı yeniden değerlendirilerek lenf nodu metastazı yeniden değerlendirildi.

Olguların tümü "American Joint Committee on Cancer (AJCC)" tarafından 2010 yılında modifiye edilen TNM sistemine göre yeniden evrelendirildi.

3.2.1. Biyokimyasal PSA Rekürrensi

Radikal prostatektomi ameliyatı sonrasında 100 hastanın klinik takipleri düzenli olarak yapıldı. Hastane kayıtlarından ve hasta dosyalarından takip serum PSA seviyeleri ile sintigrafi ve MR bulguları incelendi. Postoperatif 3.-5.yıllardan sonra serum PSA düzeyinde 0,1 ng/ml' nin üzerindeki yükselmeler PSA rekürrensi olarak kabul edildi.

3.3. İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemleri

Her bir olgu için tümör Gleason derecelerini en iyi temsil eden, komşu normal prostat dokusunu ve olguda var ise yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi (HGPN) alanını içeren parafin bloklardan 3 adet 3-4mm çaplarında dokular çıkarıldıktan sonra her olgu için ayrı yeni bir parafin blok hazırlandı. Hazırlanan parafin bloklarından poly-l-lysine ile kaplı lamlara 3µ kalınlığında kesitler alındı. İmmunohistokimya uygulanacak kesitler 37°C etüvde bir gece boyunca deparafinize edildi.

3.3.1. CD68/ Makrofaj Marker Ab-3 (Mouse monoklonal, klon KP1, Thermo Scientific)

Deparafinizasyon işleminden sonra 30 dakika ksilolde deparafinize, 30 dakika alkolde rehidrate edildikten sonra 10 dakika distile suda rehidrate edildi. 270ml distile su ve 30ml SİTRAT ile hazırlanan “antijen retrieval” çözeltisi içinde, mikrodalga fırında 5 dakika 100°C’de, 10 dakika 80°C’de, 15 dakika 60°C’de tutuldu. SİTRAT solüsyonu soğutulmak üzere 5 dakika mikodalga fırın içinde ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. 5 dakika distile su ile yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini baskılamak amacıyla distile su ile hazırlanan %3 H₂O₂ çözeltisinde 10 dakika tutuldu. Daha sonra “phosphate Buffer Salina (PBS)” ile 3 dakika yıkanan kesitlere, labeled streptavidin-biotin peroksidaz tekniği ile immunohistokimyasal boyama uygulandı. Uygulamada önce kesitlere protein “blocking solution” damlatılarak oda ısısında 10 dakika protein blokajı yapıldı. PBS ile 3 dakika yıkanan kesitlere 1:100 oranında dilüe edilmiş CD68 antikoru 1.5 saat oda ısısında uygulandı. PBS ile yıkama işleminden sonra biotinlenmiş immunglobulin oda ısısında 20 dakika uygulandıktan sonra PBS ile 10 dakika yıkandı. Ardından konjuge streptavidin enzim oda ısısında 20 dakika uygulandıktan sonra PBS ile 10 dakika yıkandı. Kesitlerin görüntülenmesi DAB ile sağlandı, zemin boyama için Harris hematoksilen kullanıldı. Çeşme suyunda yıkama yapıldıktan sonra kesitler kurutuldu, ksilen ile şeffaflaştırıldıktan sonra nonaqueus kapama maddesi ile kapatıldı. Çalışmada yöntemin pozitif kontrolü için tonsil kesitleri kullanıldı.

3.3.2. Anti-HEXİM1 Antikoru (Rabbit Poliklonal, React with Human, Mouse, Rat, Abcam ab25388)

Deparafinizasyon işlemi sonrasında CD 68 antikoru boyaması için yapılan yöntemin aynısı Anti-HEXİM1 antikoru için de uygulandı. Farklı olarak 1:400 antikor

dilüsyonu kullanıldı ve antikor 1 saat oda ısısında uygulandı. Çalışmada yöntemin pozitif kontrolü için böbrek dokusu kesitleri kullanıldı.

3.3.3. TGF-beta (Mouse monoklonal antikor, klon TGFB17, Novocastra™)

Deparafinizasyon işlemi sonrasında CD 68 antikor boyaması için yapılan yöntemin aynı TGF-beta antikor için de uygulandı. Farklı olarak sitrat yerine ethilendiamine-tetraacetic acid (EDTA) çözeltisi ile 1:20 antikor dilüsyonu kullanıldı ve antikor 1.5 saat oda ısısında uygulandı. Çalışmada yöntemin pozitif kontrolü için plasenta dokusu kesitleri kullanıldı.

3.3.4. MMP-9 (Mouse monoklonal antikor, klon 15W2, Novocastra™)

Deparafinizasyon işlemi sonrasında CD 68 antikor boyaması için yapılan yöntemin aynı MMP-9 antikor için de uygulandı. Farklı olarak sitrat yerine ethilendiamine-tetraacetic acid (EDTA) çözeltisi ile 1:20 antikor dilüsyonu kullanıldı ve antikor 2 saat oda ısısında uygulandı. Çalışmada yöntemin pozitif kontrolü için karaciğer dokusu kesitleri kullanıldı.

3.3.5. SMAD2 Antikor (Rabbit monoklonal, klon EP784Y, GeneTex)

Deparafinizasyon işlemi sonrasında CD 68 antikor boyaması için yapılan yöntemin aynı SMAD-2 antikor için de uygulandı. Farklı olarak sitrat yerine “ethilendiamine-tetraacetic acid (EDTA)” çözeltisi ile yapılan “antijen retrieval” işlemi, mikrodalga fırında 5 dakika 100°C’de tutularak yapıldı. 1:200 antikor dilüsyonu kullanıldı ve antikor 2 saat oda ısısında uygulandı. Çalışmada yöntemin pozitif kontrolü için prostat adenokarsinomu dokusu kesitleri kullanıldı.

3.3.6. Anti-MADH7 Antikor (SMAD 7, Rabbit poliklonal, React with Human, Mouse, Rat, Abcam ab90085)

Deparafinizasyon işlemi sonrasında CD 68 antikor boyaması için yapılan yöntemin aynı SMAD-7 antikor için de uygulandı. Farklı olarak sitrat yerine ethilendiamine-tetraacetic acid (EDTA) çözeltisi ile yapılan “antijen retrieval” işlemi, mikrodalga fırında 5 dakika 100°C’de tutularak yapıldı. 1:200 antikor dilüsyonu kullanıldı ve antikor 2 saat oda ısısında uygulandı. Çalışmada yöntemin pozitif kontrolü için akciğer dokusu kesitleri kullanıldı.

3.4. İmmunohistokimyasal Olarak Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi

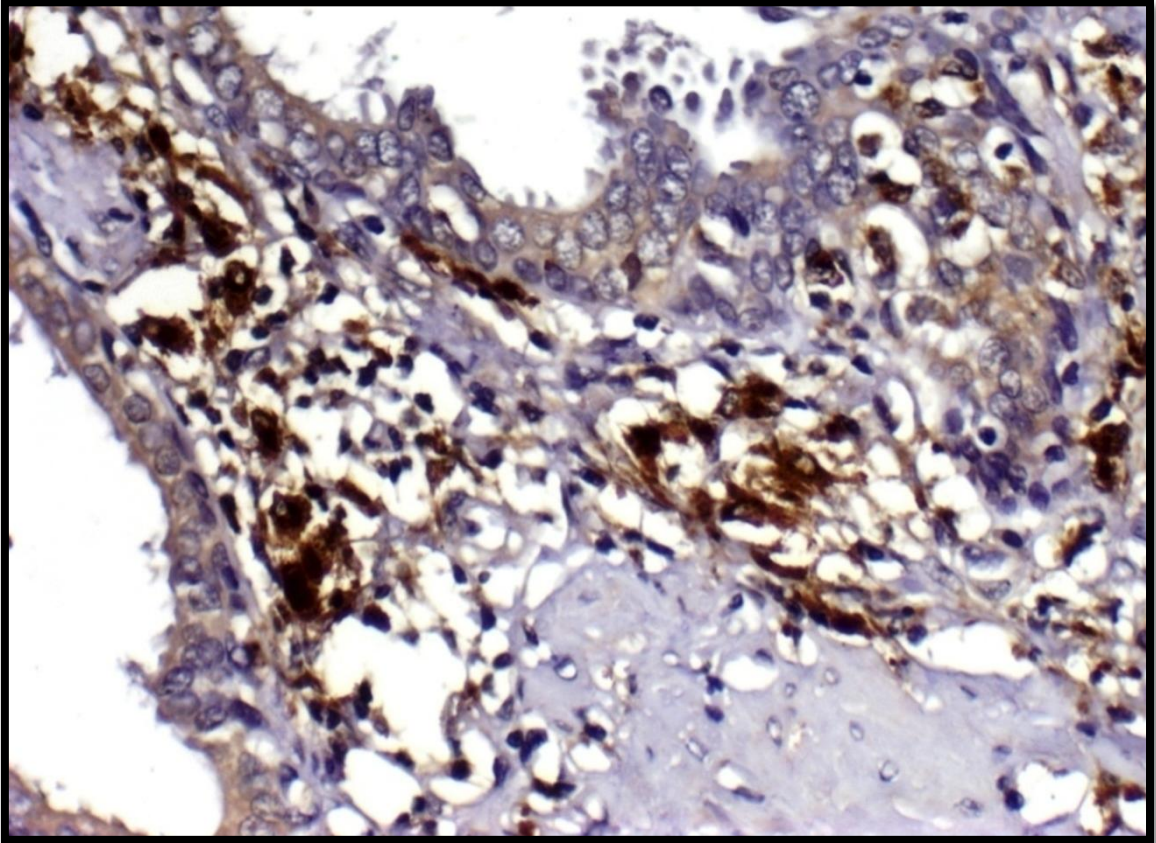
3.4.1. CD68 Pozitif Tümör İlişkili Makrofaj (TAM) Sayısının Değerlendirilmesi

CD68 monoklonal antikoru ile tümör içindeki makrofajların varlığı araştırıldı. CD68 ile boyanan makrofajlar x400 orijinal büyütmede ve en yüksek 3 alanda sayılarak ortalama değerler bulundu ve 3 skor altında değerlendirildi (Resim 21).

Skor 1: CD68 boyalı makrofaj sayısı 0-5 arasında

Skor 2: CD68 boyalı makrofaj sayısı 5-15 arasında

Skor 3: CD68 boyalı makrofaj sayısı 15' den fazla



Resim 21. CD68 antikoru ile skor 3 TAM yoğunluğu (x400 büyütme)

3.4.2. HEXİM1 ile Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi

HEXİM1 antikorumun, tüm tümör hücrelerinde nükleer ekspresyon gösterdiği izlendi. Ekspresyon şiddetine göre 3 skor altında sınıflandırıldı.

Skor 1: Hafif derecede (Resim 22)

Skor 2: Orta derecede (Resim 23)

Skor 3: Şiddetli derecede (Resim 24)

3.4.3. SMAD7 ile Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi

SMAD7 antikorumun tüm tümör hücrelerinde hem nükleer hem de sitoplazmik ekspresyon gösterdiği izlendi. Nükleer ve sitoplazmik ekspresyonlar arasında anlamlı fark görülmediği için her tümör için tek bir SMAD7 ekspresyon şiddeti belirlendi ve 3 skor altında sınıflandırıldı.

Skor 1: Hafif derecede (Resim 25)

Skor 2: Orta derecede (Resim 26)

Skor 3: Şiddetli derecede (Resim 27)

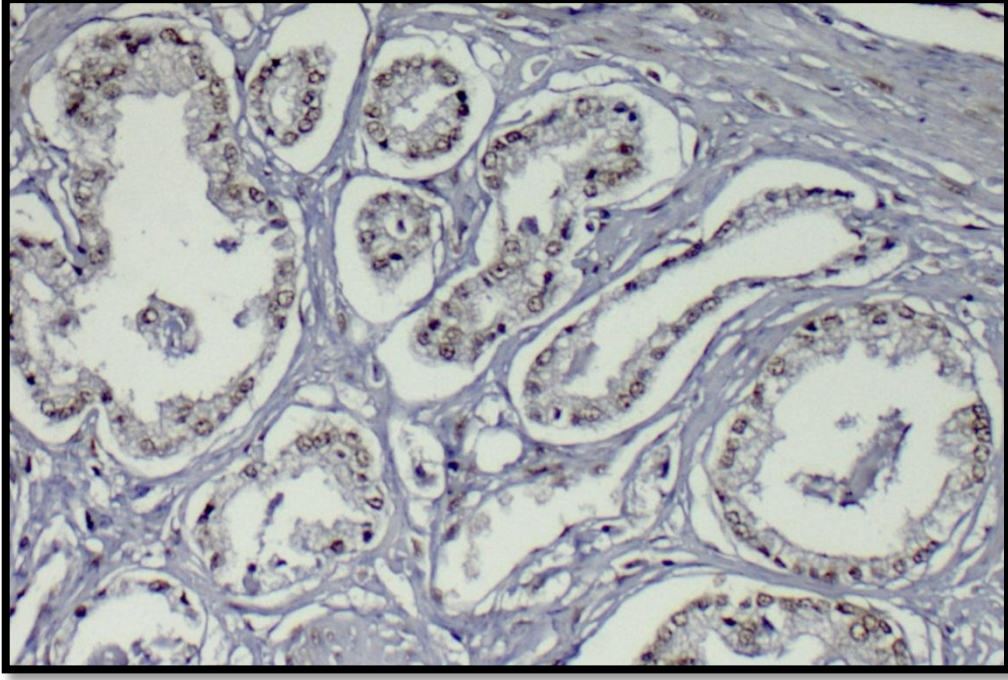
3.4.4. SMAD2, TGFβ ve MMP9 ile Boyanan Kesitlerin Değerlendirilmesi

SMAD2, TGFβ ve MMP9 antikorumları ile tümör hücrelerinde sitoplazmik ekspresyon izlendi ve ekspresyon şiddetlerine göre 3 skor altında sınıflandırıldı.

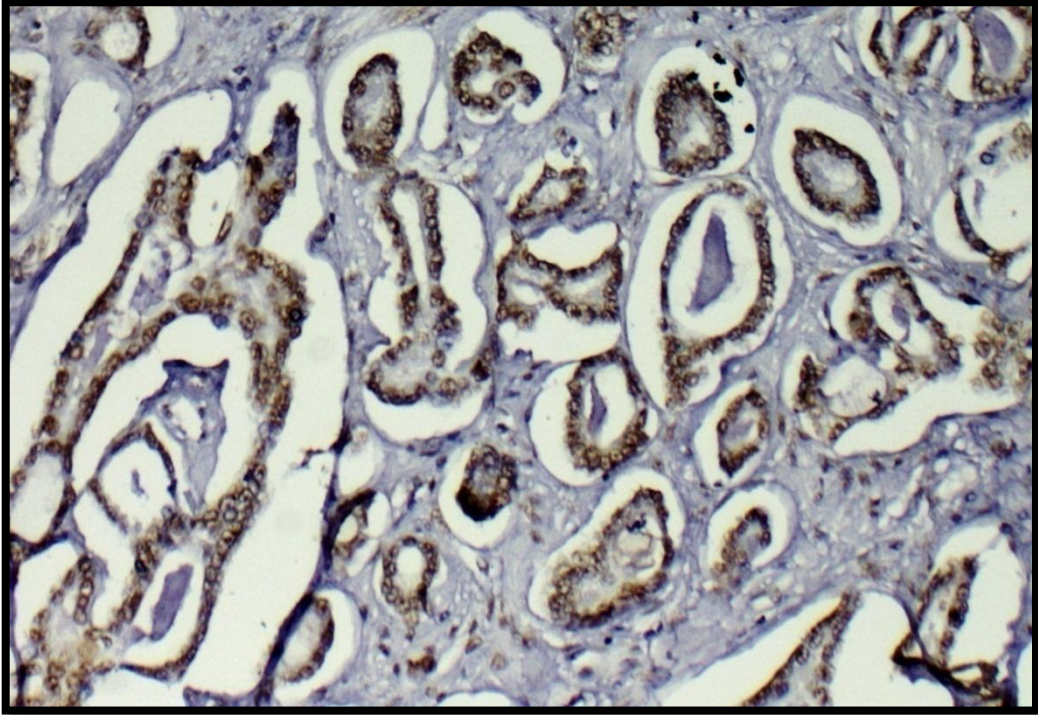
Skor 1: Hafif derecede (SMAD2: Resim 28;TGFβ: Resim 31;MMP9: Resim 34).

Skor 2: Orta derecede (SMAD2: Resim 29; TGFβ: Resim 32;MMP9: Resim 35).

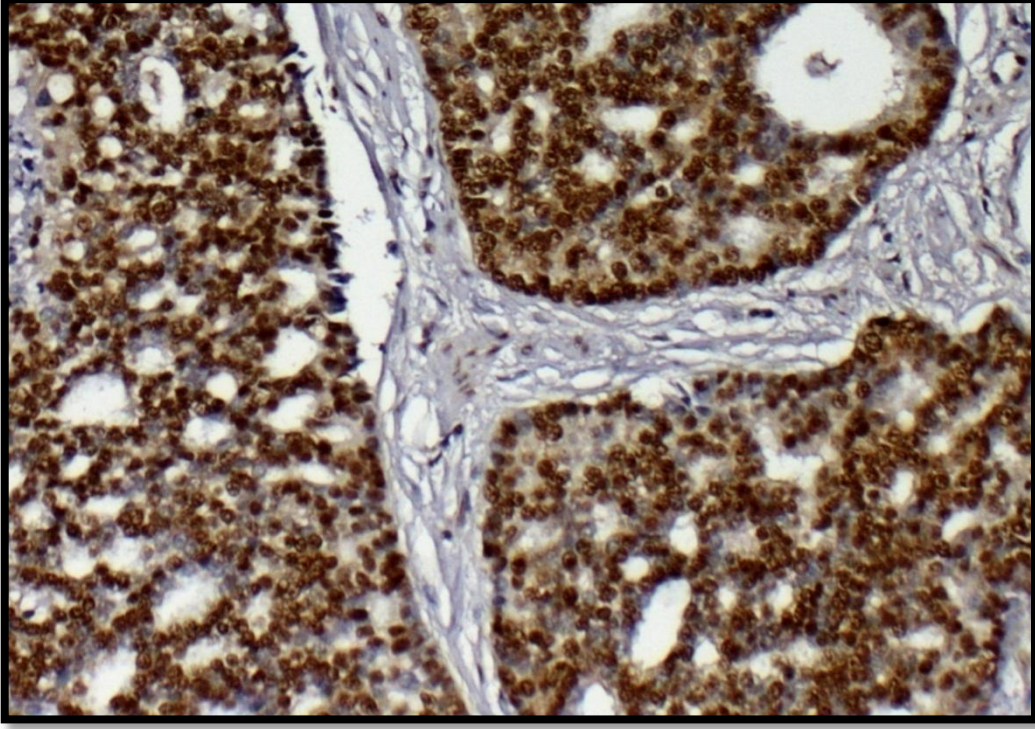
Skor 3: Şiddetli derecede (SMAD2: Resim 30; TGFβ: Resim 33; MMP9: Resim 36).



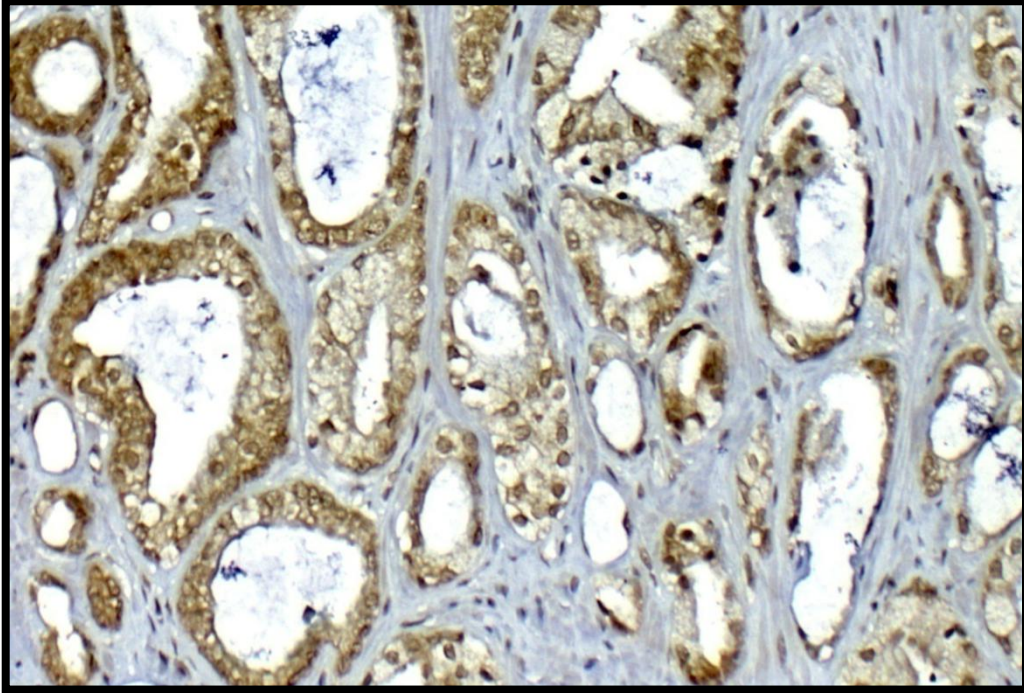
Resim 22. Hafif derecede nükleer HEXİM1 ekspresyonu (x200 büyütme)



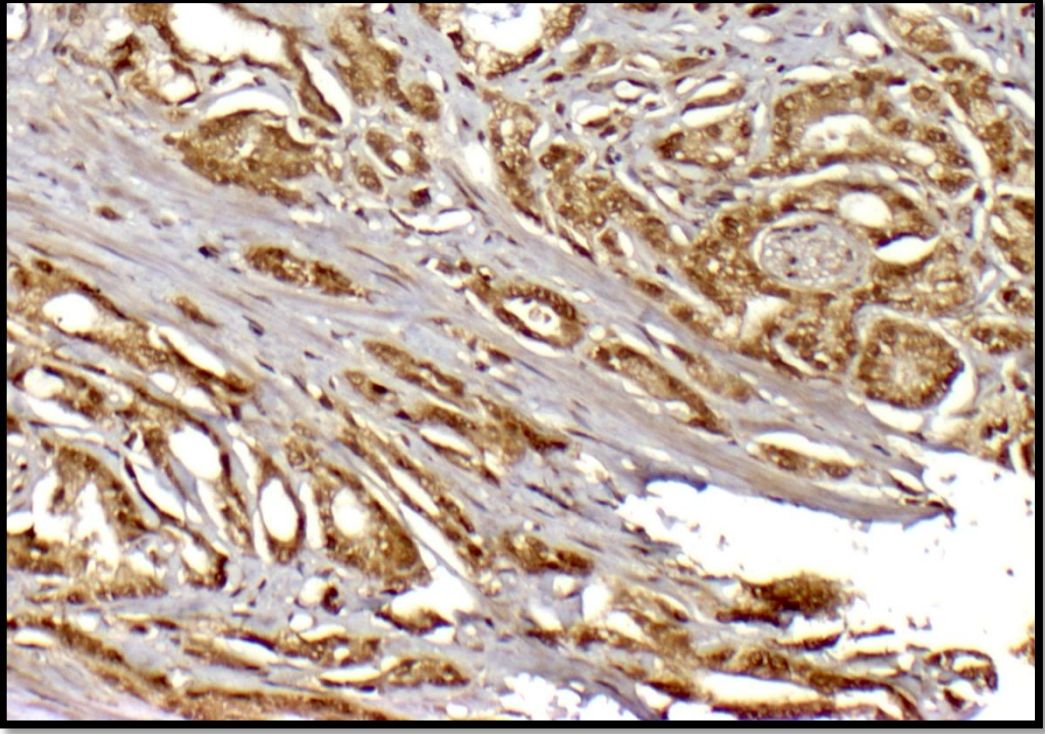
Resim 23. Orta derecede nükleer HEXİM1 ekspresyonu (x200 büyütme)



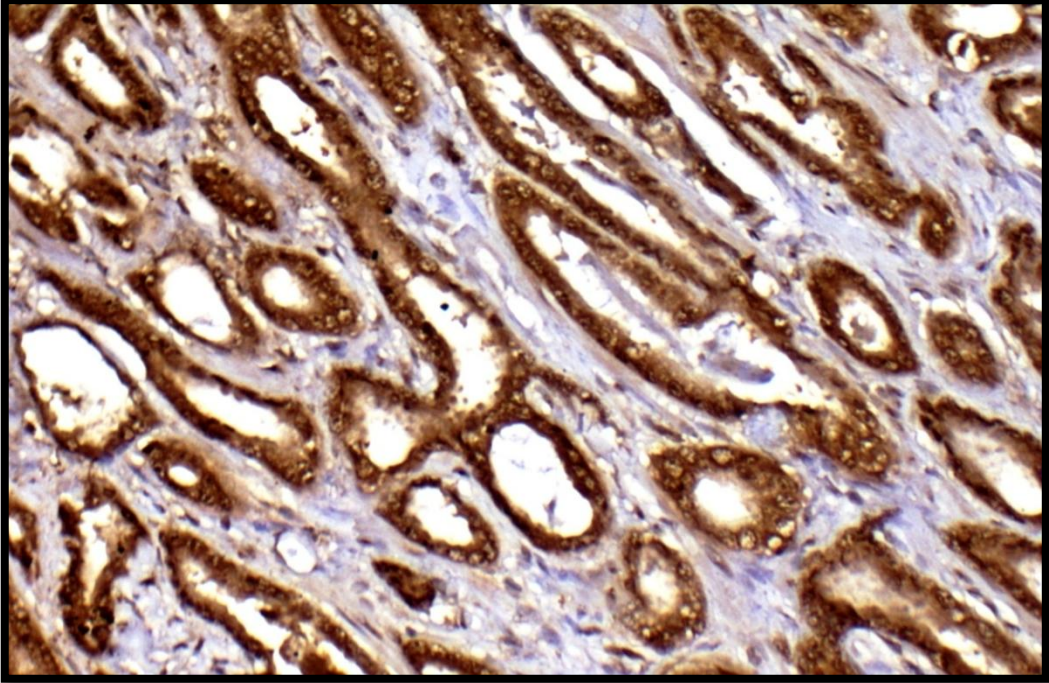
Resim 24. Şiddetli derecede nükleer HEXİM1 ekspresyonu (x200 büyütme)



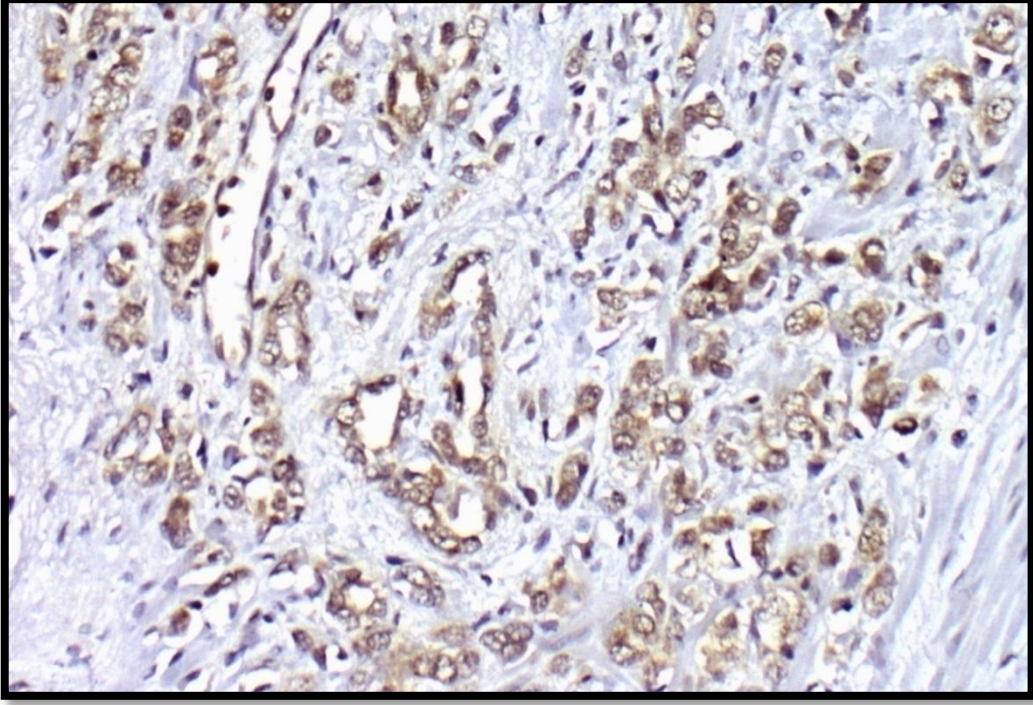
Resim 25. Hafif derecede nükleer ve sitoplazmik SMAD7 (x200 büyütme)



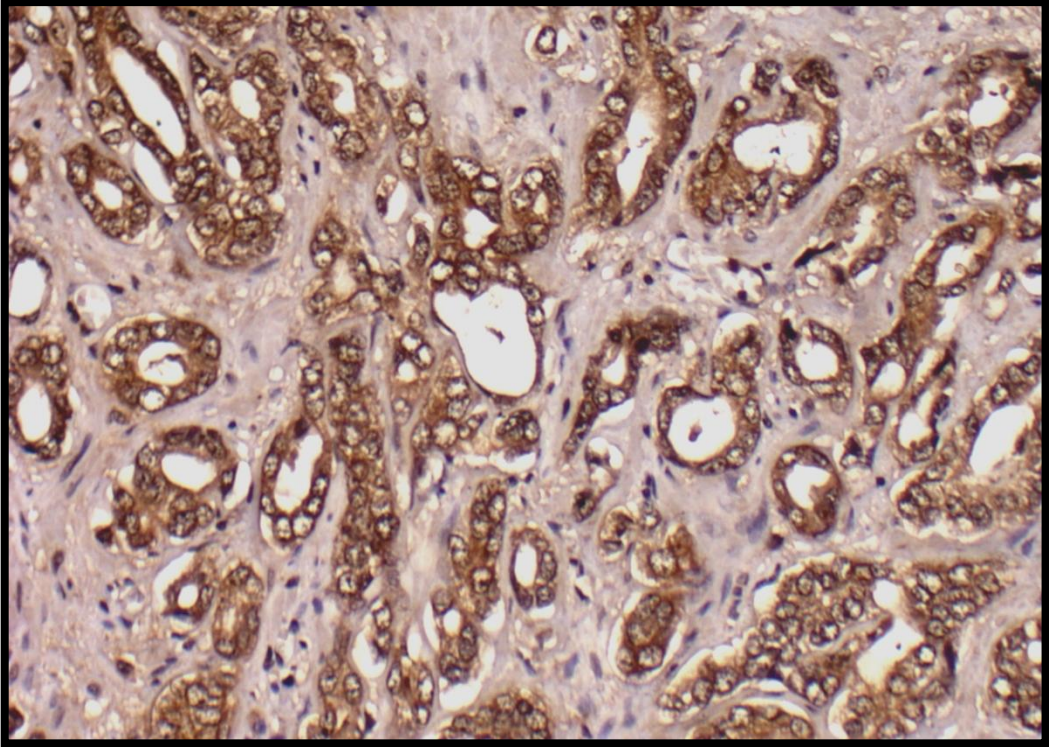
Resim 26. Orta derecede nükleer ve sitoplazmik SMAD7 (x200 büyütme)



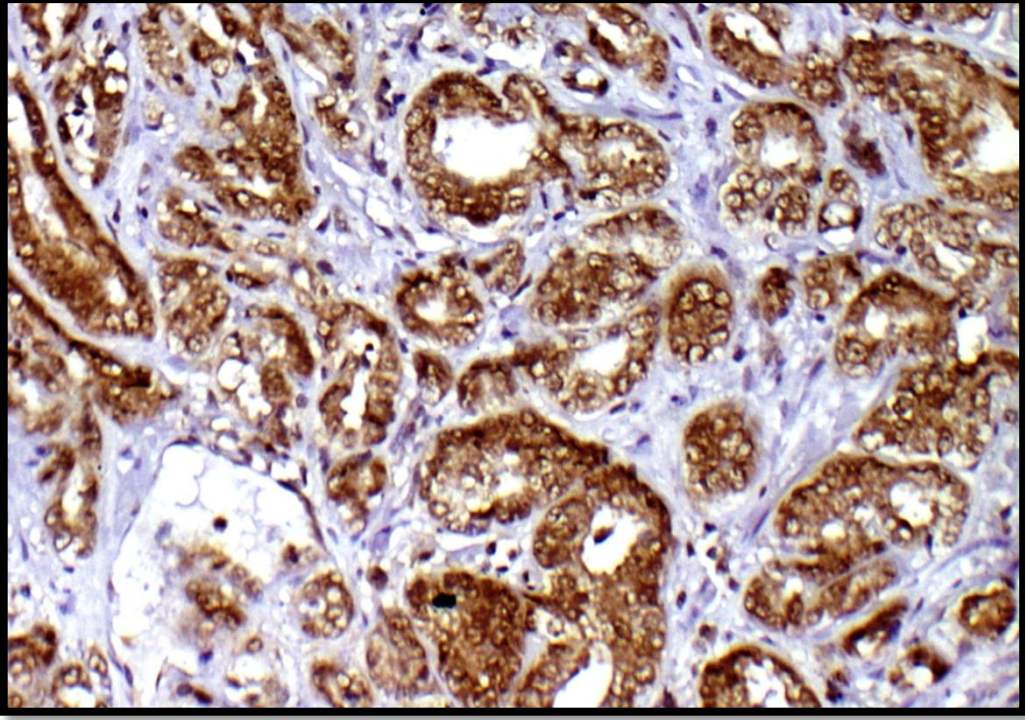
Resim 27. Şiddetli derecede nükleer ve sitoplazmik SMAD7 (x200 büyütme)



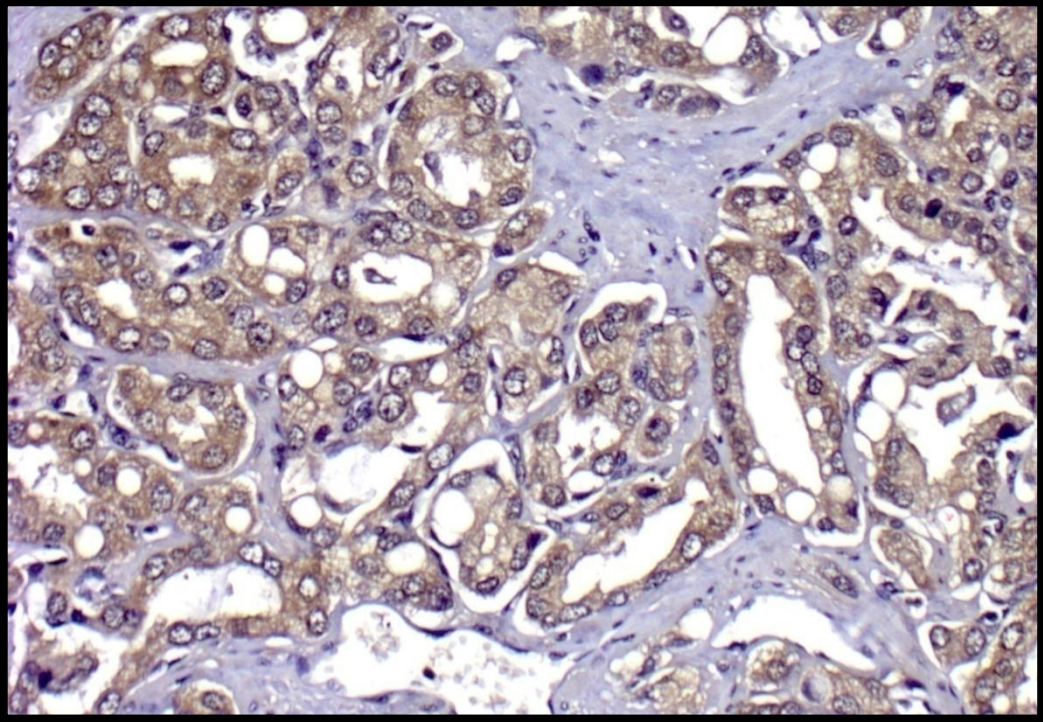
Resim 28. Hafif derecede sitoplazmik SMAD2 ekspresyonu (x200 büyütme)



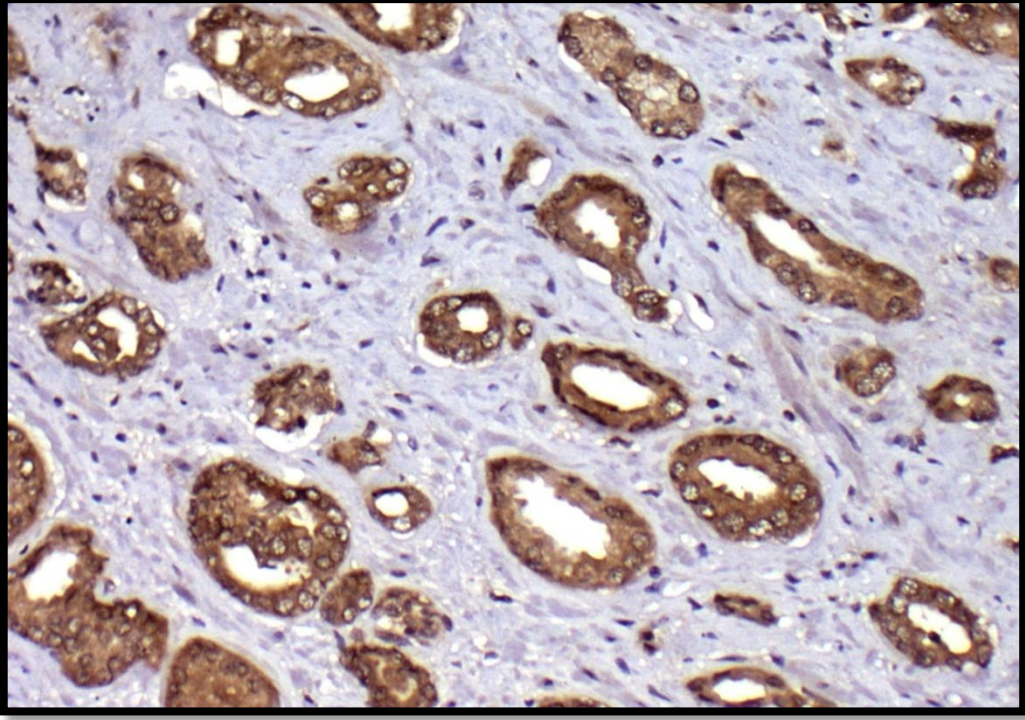
Resim 29. Orta derecede sitoplazmik SMAD2 ekspresyonu (x200 büyütme)



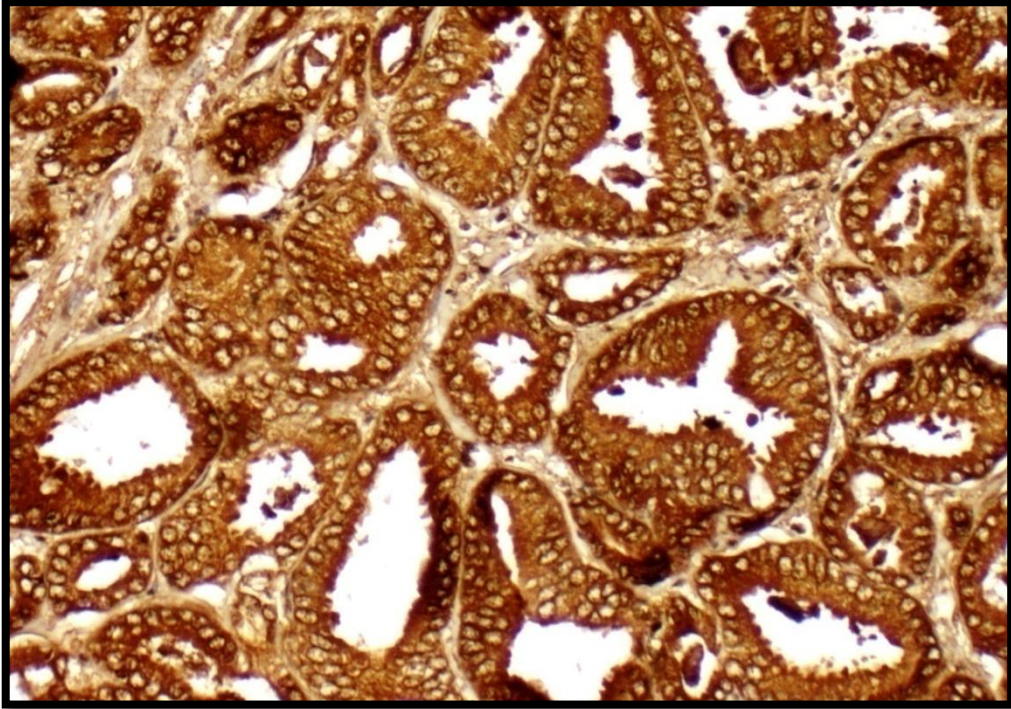
Resim 30. Şiddetli derecede sitoplazmik SMAD2 ekspresyonu (x200 büyütme)



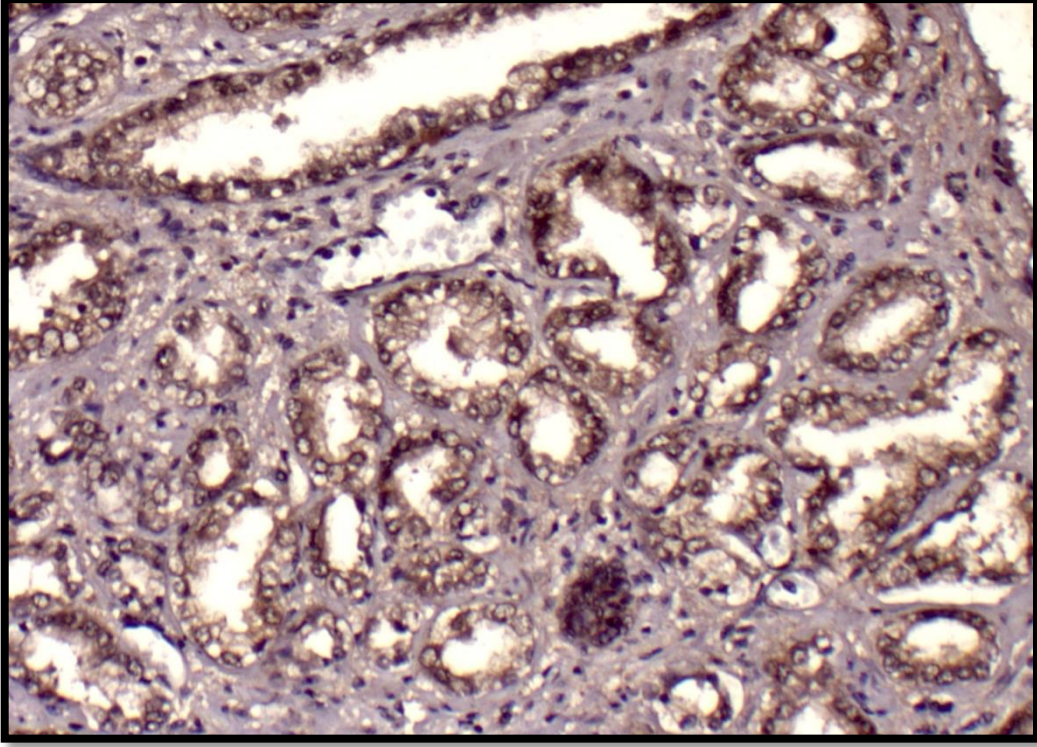
Resim 31. Hafif derecede nükleer ve sitoplazmik TGFβ ekspresyonu (x200 büyütme)



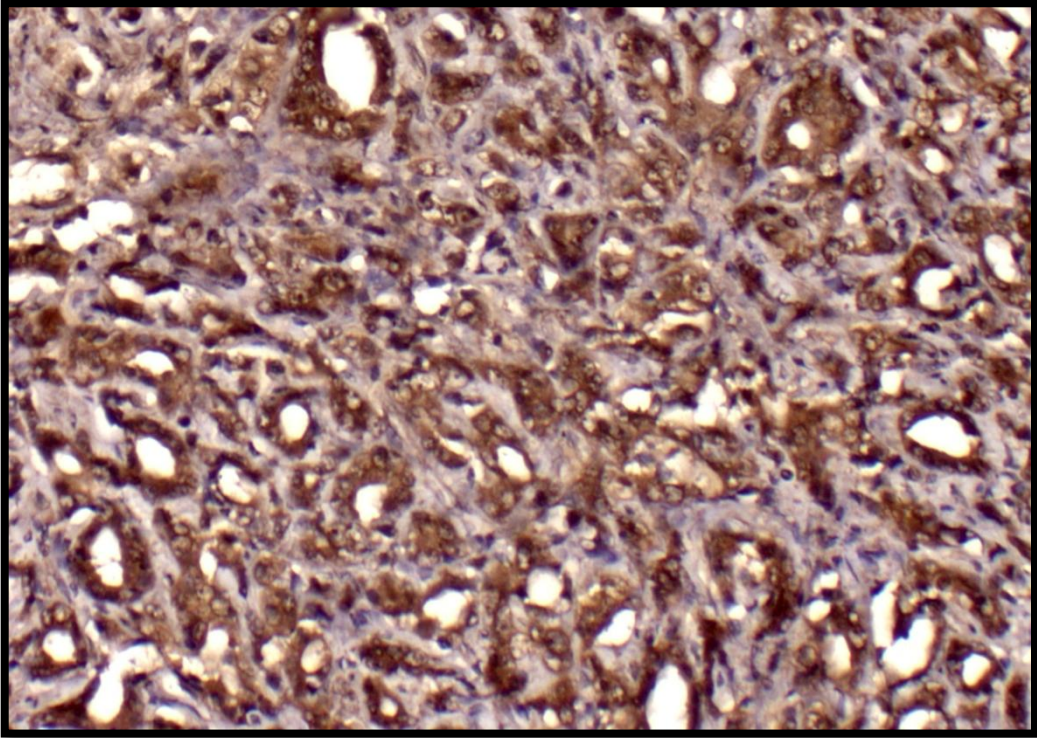
Resim 32. Orta derecede nükleer ve sitoplazmik TGF β ekspresyonu (x200 büyütme)



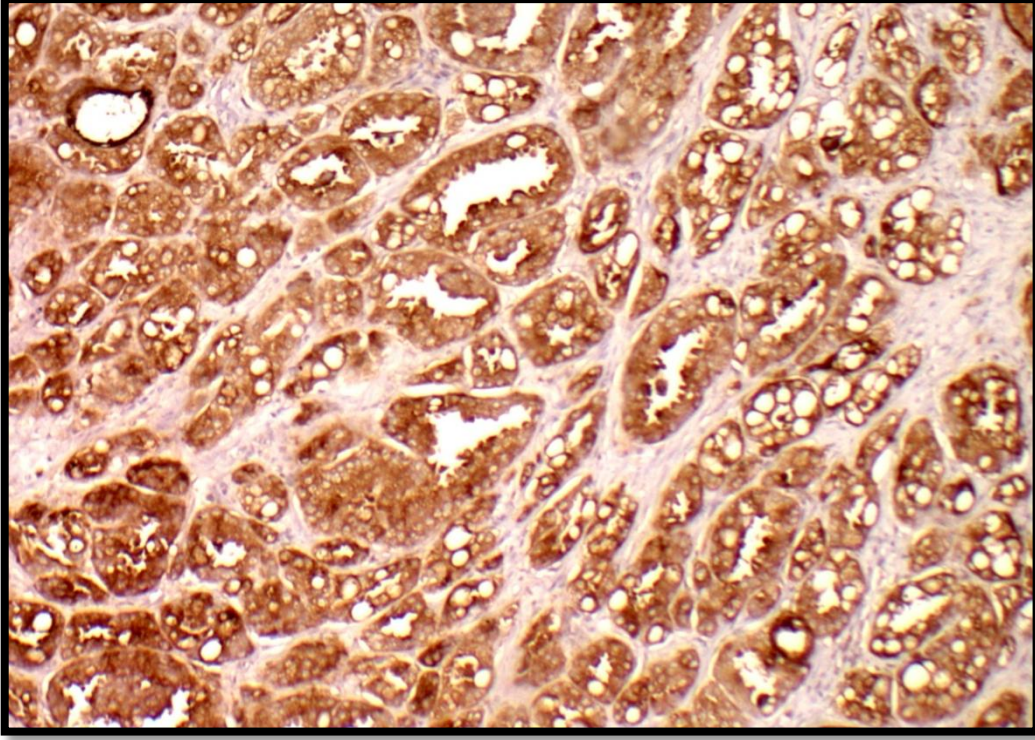
Resim 33. Şiddetli derecede nükleer ve sitoplazmik TGF β ekspresyonu (x200 büyütme)



Resim 34. Hafif derecede sitoplazmik MMP9 ekspresyonu (x200 büyütme)



Resim 35. Orta derecede sitoplazmik MMP9 ekspresyonu (x200 büyütme)



Resim 36. Şiddetli derecede sitoplazmik MMP9 ekspresyonu (x100 büyütme)

3.5. İstatiksel Analiz

Verilerin istatiksel analizleri “Statistical Package for the Social Sciences” (SPSS) for Windows yazılımı, version 11.0, SPSS INC, Chicago, IL, USA” ile yapılmıştır. Gruplanabilen klinikopatolojik verilerin birbirleri ve immunohistokimyasal veriler ile karşılaştırılmasında **Ki-kare Testi**, ortalama değerler ile diğer klinikopatolojik verilerin karşılaştırılmasında **Mann-Whitney U Testi** (iki grup arasındaki karşılaştırma) ve **Kruskal Wallis Testi** (ikiden fazla grup arasındaki karşılaştırma) kullanılmıştır. Kantitatif değişkenler için değerler ortalama \pm **standart sapma** olarak verildi. İmmunohistokimyasal verilerin birbiri ile karşılaştırılması “**Spearman’s rho**” **korelasyon testi** ile yapıldı. p değeri 0.05’ in altındaki değerler istatiksel olarak anlamlı kabul edildi. Biyokimyasal rekkürens için sürelerin belirlenmesi için **Kaplan-Meier eğrisi** kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmamızda incelenen prostat adenokarsinomlu 100 olgunun ortalama yaşları $61.56 \pm 6,2$ (46-72) olup tüm hastalar ortalama $71,39 \pm 21.30$ (11-105) ay süre ile takip edildi. Hastaların 18 tanesinde sinir koruyucu radikal prostatektomi, 81 tanesinde radikal prostatektomi ve 1 tanesine sistoprostatektomi ameliyatı yapıldı. 100 hastadan 50 tanesine (%50) bilateral pelvik lenf nodu diseksiyonu yapıldı. 100 hastanın sadece 5 tanesi farklı nedenlerle hayatlarını kaybetmekle beraber hastaların ortalama $71,39 \pm 21.30$ (11-105) ay sürede hastaliksız sağkalım oranı %100'dür.

İncelenen 100 olgunun prostat bezlerinin, ortalama boyutları $5,34 \pm 0,87$ cm (4-8 cm), ortalama ağırlıkları $55,05 \pm 35,52$ gr (18-295 gr), ortalama hacimleri $56,07 \pm 36$ cc (19-300) ölçülmekle beraber prostat bezlerinin tamamı ya da tamamına yakını ortalama $48,76 \pm 12$ (21-86) adet parça sayısı ile örneklendi.

Hastaların ameliyat öncesi ortalama serum sPSA düzeyleri $1,1 \pm 1,62$ (0,26-7,06), ortalama serum tPSA düzeyleri $9,94 \pm 8,74$ (2,77-55) ve ortalama PSA oranları $\%13,88 \pm 7,30$ (3,98-34,45) olarak ölçüldü.

Hastalardan 10 tanesi (%10) ameliyat öncesi tedavi aldı. 10 hastanın 3 tanesi GnRH analogu olan Lucrin tedavisi, 1 tanesi Antiandrojenik ajan olan Casodex ve 6 tanesi de Lucrin+Casodex tedavisi aldı. 100 hastanın 21 tanesinde (%21) postoperatif biyokimyasal PSA rekürrensi görüldü.

Hastanın 18 tanesinde diabetes mellitus, 36 tanesinde hipertansiyon hastalığı vardır. 38 tanesi sigara, 17 tanesi alkol kullanma alışkanlığı vardır. Hastaların 12 tanesinde nefrolitiazis öyküsü var olup 25 tanesinde benign prostat hiperplazi mevcuttur.

Olguların Gleason skor, klinik evre ve patolojik T evresine göre dağılımı tablo 5 'de belirtildi.

Tablo 5'den de izleneceği üzere, olguların 62 tanesinin (%62) Gleason skor 6 - 7 (düşük-orta dereceli), 38 tanesinin (%38) Gleason skor 8 - 9 (yüksek dereceli) olduğu görüldü. Ayrıca 6 tane Gleason skor 6 olan hasta, 57 tane Gleason skor 7 olan hasta, 17 tane Gleason skor 8 olan hasta, 20 tane gleason skor 9 olan hasta tespit edildi. Bunların yanı sıra 6 tane Gleason skor $(3+3)=6$, 24 tane Gleason skor $(3+4)=7$, 33 tane Gleason skor $(4+3)=7$, 17 tane Gleason skor $(4+4)=8$, 16 tane Gleason skor $(4+5)=9$, 4 tane Gleason skor $(5+4)=9$ prostat adenokarsinomu izlendi. Bu olgulardan 80 tanesinde adenokarsinoma eşlik eden yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi görüldü.

Tablo 5. Gleason Skor ile Klinik Evreler ve Patolojik T Evreleri arasındaki ilişki

		N	Gleason Skor			Gleason Skor				
			<7	>8	<i>p</i>	6	7	8	9	<i>p</i>
		62	38		6	57	17	20		
Klinik Evre	IIA	2	1	1	<i>p</i> <0.01	0	1	1	0	<i>p</i> <0.001
	IIB	21	20	1		5	15	1	0	
	III	77	41	36		1	41	15	20	
Klinik Evre	II	23	21	2	<i>p</i> <0.01	5	16	2	0	<i>p</i> <0.001
	III	77	41	36		1	41	15	20	
Patolojik T Evre	pT2a	2	1	1	<i>p</i> <0.01	0	1	1	2	<i>p</i> <0.001
	pT2b	21	20	1		5	15	1	21	
	pT3a	70	39	31		1	39	15	70	
	pT3b	7	2	5		0	2	0	7	
Patolojik T Evre	pT2	23	21	2	<i>p</i> <0.01	5	16	2	0	<i>p</i> <0.001
	pT3	77	41	36		1	41	15	20	

Tablo 5’de de görüldüğü üzere, klinik evreleme yapıldığında olguların 23 tanesi (%23) evre II, 77 tanesi (%77) evre III olarak değerlendirildi. Patolojik T evresine göre olguların 2 tanesi (%2) pT2a, 21 tanesi (%21) pT2b, 70 tanesi (%70) pT3a ve 7 tanesi (%7) pT3b olarak değerlendirildi.

Tablo 5’den de anlaşıldığı gibi olguların Gleason skorları ile klinik evreleri ve patolojik T evreleri arasında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki bulundu ($p<0.05$). Tümörün Gleason derecesi ve dolayısı ile skoru arttıkça hastanın patolojik T evresi ve klinik evresi de arttığı dikkati çekmektedir.

Olguların Gleason skor, klinik evre, patolojik T evresi, PSA rekürrensi, klinik özellikler ve prognostik faktörler arasındaki ilişki tablo 6 ve 7 ‘de özetlenmiştir.

Tablo 6’dan da anlaşıldığı gibi hastaların yaşları ile PSA rekürrensi varlığı ($p=0.143$), Gleason skorları (Gleason skor-1 için $p=0,188$; Gleason skor-2 için $p=0,247$) ve diğer histopatolojik özellikler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$).

Tablo 6 ve Tablo 7’de izlendiği gibi Gleason skor-1 ile lenfovasküler invazyon ($p=0.000$), perinöral invazyon ($p=0.007$), ekstraprostatik yayılım ($p=0,001$), cerrahi sınır pozitifliği ($p=0,014$), preoperatif serum tPSA düzeyi ($p=0,045$) ve prostat hacmi ($p=0,028$) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki bulundu ($p<0.05$). Gleason skor-1 ile vezikula seminalis invazyonu ($p=0,059$), tümör hacmi ($p=0,167$) arasında anlamlı ilişki

bulunmamakla beraber Gleason skor-2 ile veziküla seminalis invazyonu ($p=0,005$), tümör hacmi ($p=0,014$) arasında anlamlı pozitif ilişki bulundu ($p<0.05$).

Çalışmaya alınan 100 hastanın sadece 21 tanesinde (%21) biyokimyasal PSA rekürrensi tespit edildi. Tablo 7’de izlendiği gibi PSA rekürrensi ile olguların Gleason Skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu görüldü ($p<0.01$). Buna ek olarak tümörde izlenen lenfovasküler invazyon ($p=0,001$), perinöral invazyon ($p=0.036$), tümörün veziküla seminalis invazyonu ($p=0,034$) ile PSA rekürrensi arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki bulundu ($p<0.05$). Yüksek Gleason skorlu ve lenfovasküler-perinöral invazyon gösteren tümörlerin, düşük Gleason skorlu ve lenfovasküler-perinöral invazyonu olmayan tümörlere göre postoperatif dönemde daha fazla biyokimyasal rekürrens gösterdiği izlendi. Tümörün ekstrakapsüler yayılım göstermesi ($p=0,081$) ve cerrahi sınırdaki tümör bulunması ($p=0,540$) ile PSA rekürrensi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmedi ($p>0.05$). Ayrıca tablo 6’da izlendiği gibi PSA rekürrensi ile hasta yaşı ($p=0,143$), prostat hacmi ($p=0,133$), tümör hacmi ($p=0,675$), preoperatif serum tPSA düzeyi ($p=0,888$) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

Olguların ortalama tümör hacimleri $4,12 \pm 4,5$ (0,07-25) ml’ dir. Tablo 6’ da izlendiği gibi, tümör hacimleri ile Gleason skor-2 ($p=0.014$), perinöral invazyon ($p=0.031$), veziküla seminalis invazyonu ($p=0.03$), ekstraprostatik yayılım ($p=0.004$) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki bulundu ($p<0.05$). Bunlara ek olarak, evre IIa hastaların ortalama tümör hacimleri $1,53 \pm 1,51$ ml (0,46-2,60 ml), evre IIb hastaların ortalama tümör hacimleri $3,06 \pm 4,59$ ml (0,07-20 ml), evre III hastaların ortalama tümör hacimleri $4,48 \pm 4,50$ ml (0,19-25 ml) olup evre IIa, IIb, III olan hastalar arasında tümör hacimleri açısından istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki bulundu ($p=0,020$) (Tabloda gösterilmedi). Farklı patolojik T evresindeki tümör hacimlerine baktığımızda ise, evre pT2a hastaların ortalama tümör hacimleri $1,53 \pm 1,51$ ml (0,46-2,60 ml), evre pT2c hastaların ortalama tümör hacimleri $3,06 \pm 4,59$ ml (0,07-20 ml), evre pT3a hastaların ortalama tümör hacimleri $3,90 \pm 0,1$ (9-20 ml), evre pT3b hastaların ortalama tümör hacimleri $10,25 \pm 7,56$ ml (2,5-25 ml) olarak saptandı. Tümör hacimleri ile patolojik T evreleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki bulundu ($p=0,002$) (Tabloda gösterilmedi).

Olguların ortalama preoperatif serum tPSA düzeyi $9,94 \pm 8,74$ (2,77-55) ng/ml’ dir. Tablo 6’ da izlendiği gibi, tPSA düzeyleri ile Gleason skor-1 ($p=0,045$), lenfovasküler invazyon ($p=0,033$), veziküla seminalis invazyonu ($p=0,017$) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki bulundu ($p<0.05$).

Olguların 28 tanesinde (%28) cerrahi sınırdaki tümör pozitifliği görüldü. Tablo 7' de izlendiği gibi cerrahi sınır pozitifliği ile Gleason skor (Gleason skor-1 için $p=0,011$ ve Gleason skor-2 için $p=0,042$), klinik evre ($p=0,002$) ve patolojik T evresi ($p=0,004$) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişkili bulundu ($p<0,05$). Gleason skoru yüksek olan tümörlerin, düşük olanlara göre daha fazla cerrahi sınır pozitifliği gösterdiği bulundu. Tablo 6' da görüldüğü gibi cerrahi sınır pozitifliği ile tümör hacmi ($p=0,074$), prostat hacmi ($p=0,163$), hasta yaşı ($p=0,546$), preoperatif serum tPSA düzeyi ($p=0,119$) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p>0,05$).

Ekstrakapsüler yayılım 76 tümörde (%76) izlenirken, 24 tümörde (%24) yoktur. Tablo 6'da izlendiği gibi ekstrakapsüler yayılım ile tümör hacmi ($p=0,004$) arasında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki ($p<0,05$) mevcut olup, tümör hacmi fazla olan tümörlerde ekstrakapsüler yayılımın da fazla olduğu dikkati çektir. Buna ek olarak prostat hacmi az olan olgularda ekstrakapsüler yayılım oranı daha fazla olduğu saptandı ve prostat hacmi ile ekstrakapsüler yayılım arasında istatistiksel olarak zıt anlamlı ilişki görüldü ($p=0,045$). Tablo 7' de görüldüğü gibi ekstrakapsüler yayılım ile Gleason skor (Gleason skor-1 için $p=0,001$, Gleason skor-2 için $p=0,000$), hastanın klinik evresi ($p=0,000$) ve tümörün patolojik T evresi ($p=0,000$) arasında istatistiksel olarak kuvvetli pozitif anlamlı ilişki bulundu ($p<0,001$). Gleason skoru yüksek tümörlerin, Gleason skoru düşük tümörlere göre daha fazla ekstrakapsüler yayılım gösterdikleri dikkati çektir.

Veziküla seminalis invazyonu 7 tümörde (%7) mevcut olup 93 tümörde (%93) yoktur. Veziküla seminaliste tümör invazyonu görülen tümörler ile tümör invazyonu görülmeyen tümörler karşılaştırıldığında preoperatif serum tPSA düzeyleri açısından istatistiksel anlamlı ilişki bulundu ($p=0,017$) ve invazyon gösteren olgularda serum preoperatif serum tPSA düzeylerinin daha yüksek olduğu dikkati çektir. Ayrıca veziküla seminalis invazyonu görülen olgularda postoperatif PSA rekürrensini daha sık olduğu dikkati çektir. Veziküla seminalis invazyonu ile PSA rekürrensi ($p=0,015$), tümör hacmi ($p=0,03$), tümörün Gleason skoru (Gleason skor-1 için $p=0,059$, Gleason skor-2 için $p=0,005$) ve patolojik T evresi ($p=0,000$) arasında istatistiksel anlamlı pozitif ilişki bulundu ($p<0,05$) (Tablo 6 ve 7).

Duktus deferens invazyonu 100 olgunun 1 tanesinde (%1) mevcut olup istatistiksel olarak anlam çıkarmak için sayı yetersizdir.

Lenfovasküler invazyon olguların 31 tanesinde (%31) izlenirken, 69 tanesinde (%69) yoktur. Tablo 6 ve Tablo 7'de görüldüğü gibi lenfovasküler invazyon ile preoperatif serum tPSA düzeyi ($p=0,033$), postoperatif PSA rekürrensi ($p=0,001$), Gleason skor

(Gleason skor-1 için $p=0,000$; Gleason skor-2 için $p=0,001$), klinik evre (0,041) ve patolojik T evresi ($p=0,0016$) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki bulundu ($p<0.05$). Lenfovasküler invazyon görülen olguların, görülmeyenlere göre daha yüksek Gleason skoruna sahip oldukları ve daha fazla PSA rekürrensi gösterdikleri dikkati çekti. Lenfovasküler invazyon gösteren 31 olgunun tümünde perinöral invazyon olduğu görüldü ve her ikisi arasında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki bulundu ($p=0,005$) (Tabloda gösterilmedi). Lenfovasküler invazyon gösteren 31 olgunun 5 tanesinde veziküla seminalis invazyonu izlendi ve aralarında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki bulundu ($p=0,016$) (Tabloda gösterilmedi). Lenfovasküler invazyon gösteren 31 olgunun 28 tanesinde ekstraprostatik yayılım mevcut olup aralarında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki bulundu ($p=0,025$) (Tabloda gösterilmedi). Tablo 6'da görüldüğü gibi, hasta yaşı ($p=0,566$), tümör hacmi ($p=0,158$), prostat hacmi (0,592) ile lenfovasküler invazyon arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$).

Perinöral invazyon 85 olguda (%85) mevcut olup 15 olguda (%15) yoktur. Tablo 7'de görüldüğü gibi, PSA rekürrensi gösteren tüm tümörlerde perinöral invazyon mevcut olup perinöral invazyon ile PSA rekürrensi ($p=0,036$) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki bulundu ($p<0.05$). Perinöral invazyon gösteren olguların daha yüksek Gleason skoruna (Gleason skor-1 için $p=0,007$; Gleason skor-2 için $p=0,000$), klinik evreye ($p=0,000$), patolojik T evresine ($p=0,000$) ve tümör hacmine ($p=0,031$) sahip oldukları görüldü. Bunlar arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki saptandı ($p<0.05$). Prostat hacmi azaldıkça perinöral invazyon görülme olasılığının arttığı dikkati çekti ve aralarında istatistiksel olarak zıt anlamlı ilişki bulundu ($p=0,016$). Perinöral invazyon görülen 85 olgunun 73 tanesinde ekstraprostatik yayılım mevcut olup perinöral invazyon ile ekstraprostatik yayılım arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki bulundu ($p=0,000$) (Tabloda gösterilmedi). Perinöral invazyon görülen 85 olgunun 7 tanesinde veziküla seminalis invazyonu görüldü; ancak perinöral invazyon görülmesi ile veziküla seminalis invazyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanamadı ($p=0,249$) (Tabloda gösterilmedi).

Hastaların 50 tanesine bilateral pelvik lenf nodu diseksiyonu yapıldı. 50 hastanın ortalama lenf nodu sayısı $9,54 \pm 5,4$ (2-26) adettir. Lenf nodu diseksiyonu yapılan hastaların 13 tanesinin Gleason primer derecesi 3, 34 tanesinin 4 ve 3 tanesinin 5'dir. Lenf nodlarının hiçbirinde metastaz görülmedi (%0).

Tablo 6. Klinikopatolojik bulguların korelasyonu

		n	Hasta Yaşı		PBoyutu		PAğırlığı		PHacmi		Tümör Hacmi		tPSA	
			Ort ± SD	p	ort± SD	p	ort± SD	p	ort± SD	p	ort± SD	p	ort± SD	p
PSA Rec	Yok	79	61,08±6,58	p>0.05	5,37±0,85	p>0.05	56,29±36,18	p>0.05	57,62±37,06	p>0.05	4,35±4,85	p>0.05	9,75±8,13	p>0.05
	Var	21	63,38±6,10		5,23±0,95		50,38±33,34		50,23±31,81		3,25±2,78		10,64±10,94	
Gleason Skor	<7	62	60,87±6,62	p>0.05	5,45±0,87	p>0.05	59,90±41,13	p>0.05 (p=0,054)	61,15±41,26	p=0,028	3,91±4,42	p>0.05	9±7,04	p<0.05
	>8	38	62,68±6,29		5,16±0,86		47,13±22		47,78±23,38		4,46±4,67		11,46±10,88	
Gleason Skor	6	6	58,33±7,84	p>0.05	5,66±0,40	p>0.05	79,33±50,19	p>0.05 (p=0,056)	79,16±45,87	p<0.05	0,94±0,59	p<0.05	11,19±13,55	p>0.05
	7	57	61,11±6,44		5,40±0,92		57,42±39,77		58,71±40,54		4,20±4,50		8,71±6,08	
	8	17	61,41±7,45		5,21±0,92		43,53±17,40		44,17±19,39		3,22±2,53		9,70±4,46	
	9	20	63,95±5,15		5,18±0,80		50,80±25,57		51,75±26,52		5,59±5,85		13,22±14,36	
LVİ	Yok	69	61,23±6,6	p>0.05	5,36±0,87	p>0.05	55,96±38,7	p>0.05	57,31±39,26	p>0.05	3,70±4,01	p>0.05	8,68±6,39	p<0.05
	Var	31	62,29±6,2		5,30±0,89		53,03±27,6		53,32±27,77		5,05±5,41		12,71±12,13	
PNİ	Yok	15	62,93±7,3	p>0.05	5,70±1,01	p>0.05	77,20±63,12	p<0.05	77,33±64,61	p<0.05	2,40±2,71	p<0.05	12,04±11,72	p>0.05
	Var	85	61,32±6,3		5,28±0,84		51,14±26,83		52,32±27,14		4,42±4,70		9,57±8,13	
VSI	Yok	93	61,62±6,5	p>0.05	5,37±0,88	p>0.05	56,11±36,58	p>0.05	57,13±37,06	p>0.05	3,66±3,88	p<0.05	9,28±7,56	p<0.05
	Var	7	60,71±7,2		4,88±0,73		41±7,48		42±8,58		10,25±7,56		18,61±16,97	
EPY	Yok	24	60,88±8,22	p>0.05	5,62±0,92	P>0.05 (p=0,066)	71,79±57,72	p<0.05	72,66±57,91	p<0.05	2,86±4,32	p<0.05	10,69±9,59	p>0.05
	Var	76	61,78±5,94		5,25±0,84		49,76±22,93		50,83±23,80		4,52±4,51		9,70±8,51	
R+	Yok	72	61,76±6,63	p>0.05	5,40±0,88	p>0.05	57,44±38,44	p>0.05	58,56±39,10	p>0.05	3,65±3,92	p>0.05 (p=0,074)	9,93±9,84	p>0.05
	Var	28	61,04±6,32		5,20±0,84		48,89±26,20		49,66±25,92		5,32±5,64		9,97±5,16	

Tablo 7. PSA Rekürrensi, Gleason skor, klinik ve patolojik T evrelerinin prognostik faktörler ile korelasyonu

		PSA Rec			Gleason Skor			Gleason Skor					Klinik Evre			Patolojik T Evre					
		Yok	Var	<i>p</i>	≤7	≥8	<i>p</i>	6	7	8	9	<i>p</i>	II	III	<i>p</i>	pT2a	pT2b	pT3a	pT3b	<i>p</i>	
		n	79	21		62	38		6	57	17	20		23	77		2	21	70	7	
LVİ	Yok	69	61	8	<i>p</i> ≤0,001	52	17	<i>p</i> ≤0,001	6	46	9	8	<i>p</i> ≤0,001	20	49	<i>p</i> <0,05	1	19	47	2	<i>p</i> ≤0,01
	Var	31	18	13		10	21		0	11	8	12		3	28		1	2	23	5	
PNİ	Yok	15	15	0	<i>p</i> <0,05	14	1	<i>p</i> ≤0,001	5	9	0	1	<i>p</i> ≤0,001	12	3	<i>p</i> ≤0,001	0	12	3	0	<i>p</i> ≤0,001
	Var	85	64	21		48	37		1	48	17	19		11	74		2	9	67	7	
VSI	Yok	93	76	17	<i>p</i> <0,05	60	33	<i>p</i> >0,05	6	55	17	15	<i>p</i> ≤0,01	23	70	<i>p</i> >0,05	2	21	70	0	<i>p</i> ≤0,001
	Var	7	3	4		2	5		0	2	0	5		0	7		0	0	7	0	
EPY	Yok	24	22	2	<i>p</i> >0,05	22	2	<i>p</i> ≤0,001	5	17	2	0	<i>p</i> ≤0,001	23	1	<i>p</i> ≤0,001	2	21	1	0	<i>p</i> ≤0,001
	Var	76	57	19		40	36		1	40	15	20		0	76		0	0	69	7	
CS	Yok	72	58	14	<i>p</i> >0,05	50	22	<i>p</i> <0,05	6	45	10	11	<i>p</i> <0,05	23	49	<i>p</i> ≤0,01	2	21	46	3	<i>p</i> ≤0,01
	Var	28	21	7		12	16		0	12	7	9		0	28		0	0	24	4	
PSA Rec	Yok	79	-	-	-	54	25	<i>p</i> ≤0,01	5	49	12	13	<i>p</i> <0,05	21	58	<i>p</i> >0,05	2	19	55	3	<i>p</i> <0,05
	Var	21	-	-		8	13		1	8	5	7		2	19		0	2	15	4	

İmmunohistokimyasal Bulgular:

CD68 antikoruna ile x400 orijinal büyütmelerde sayılan ortalama TAM sayısı, HEXİM1, TGFβ, SMAD2, SMAD7 ve MMP9 ile klinikopatolojik bulguların karşılaştırılması tablo 8, tablo 9, tablo 10 ve tablo 11’de verildi.

TAM sayısı ve klinikopatolojik bulgular arasındaki ilişki:

Tablo 8’de izlendiği gibi TAM sayısı ile Gleason skor (Gleason skor-1 için $p=0.013$, Gleason skor-2 için $p=0.045$), klinik evre ($p=0.044$) arasında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki bulundu. TAM sayısı ile patolojik T evresini evre 2a, 2c, 3a, 3b olarak ayırdığımızda ($p=0.335$) aralarında istatistiksel olarak anlamlı sonuç yokken patolojik T evresini evre 2 ve 3 olarak ayırdığımızda ($p=0.044$) aralarında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki olduğu bulundu.

TAM sayısı yüksek olan tümörlerde perinöral invazyon ($p=0.019$), ekstraprostatik yayılım ($p=0,025$), cerrahi sınır pozitifliğinin ($p=0,013$) de fazla olduğu saptandı ve aralarında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki bulundu ($p<0.05$). Ancak TAM sayısı arttıkça tümörde lenfovasküler invazyon görülme sıklığının arttığını izlenmekle beraber aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. ($p=0,061$) TAM sayısı ile veziküla seminalis invazyonu ($p=0.617$) arasında istatistiksel olarak anlam bulunamadı ($p>0.05$).

Tablo 8 ve tablo 10’da izlendiği gibi TAM sayısı ile PSA rekürrensi arasında istatistiksel olarak anlam bulunamadı ($p=0,702$). TAM sayısı ile hasta yaşı ($p=0,193$), prostat hacmi ($p=0,816$), tümör hacmi ($p=0,333$), preoperatif serum tPSA düzeyi ($p=0,070$) arasında istatistiksel olarak anlam bulunamadı ($p>0.05$).

HEXİM1 ekspresyonu ve klinikopatolojik bulgular arasındaki ilişki:

Tablo 8’de izlendiği gibi HEXİM1 ekspresyonunun, yüksek gleason skorlu olgularda ($p_1=0,019$; $p_2=0.006$) ve ileri klinik evre ($p=0.000$) ile ileri patolojik T evresi ($p=0.000$) gösteren olgularda daha fazla olduğu dikkati çekti ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki görüldü ($p<0.05$). HEXİM1 ekspresyonu ile PSA rekürrensi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0.001$).

Tablo 8’de izlendiği gibi HEXİM1 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon ($p=0.000$), perinöral invazyon ($p=0.000$), ekstraprostatik yayılım ($p=0.000$), cerrahi sınır

pozitifliği ($p=0.001$), veziküla seminalis invazyonu ($p=0.042$) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki mevcuttur ($p<0.05$).

Tablo 10'da izlendiği gibi HEXİM1 ekspresyonunun, tümör hacmi fazla olan olgularda daha kuvvetli olduğu gösterildi ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0.003$). HEXİM1 ekspresyonu ile hasta yaşı ($p=0.382$), prostat hacmi ($p=0.116$), preoperatif serum tPSA düzeyi ($p=0.244$) arasında istatistiksel olarak anlam bulunamadı ($p>0.05$).

TGFβ ekspresyonu ve klinikopatolojik bulgular arasındaki ilişki:

Tablo 8'de izlendiği gibi TGFβ ekspresyonunun şiddetinin gleason skoru yükseldikçe arttığı görüldü ve aralarında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki saptandı ($p_1=0.014$; $p_2=0.017$). TGFβ ekspresyonu perinöral invazyon ($p=0.022$) ve cerrahi sınır pozitifliği ($p=0.005$) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki mevcuttur ($p<0.05$). TGFβ ekspresyonu şiddetlendikçe tümörde lenfovasküler invazyon görülme sıklığının arttığını izlenmekle beraber aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p=0,079$). TGFβ ekspresyonu ekstraprostatik yayılım gösteren olgularda daha şiddetli görülür iken ekstraprostatik yayılımı olmayan olguların çoğunda TGFβ ekspresyonu hafif derecede olduğu gözlenmekle beraber TGFβ ekspresyonu ile ekstraprostatik yayılım arasında ($p=0.097$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p>0.05$). TGFβ ekspresyonu ile veziküla seminalis invazyonu ($p=0.919$) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

Tablo 8'de izlendiği gibi TGFβ ekspresyonu ile klinik evre ($p=0.174$) ve patolojik T evresi ($p=0.238$) arasında istatistiksel olarak anlam bulunamadı ($p>0.05$). TGFβ ekspresyonu ile PSA rekürrensi ($p=0.207$) arasında istatistiksel olarak anlam bulunamadı ($p>0.05$). Tablo 10'da izlendiği gibi TGFβ ekspresyonu ile hasta yaşı ($p=0.894$), prostat hacmi ($p=0.163$), tümör hacmi ($p=0.920$) ve preoperatif serum tPSA düzeyi ($p=0.614$) arasında istatistiksel olarak anlam bulunamadı ($p>0.05$).

Tablo 8. TAM Sayısı, HEXİM1 ekspresyonu ve TGFβ ekspresyonu ile klinikopatolojik bulguların korelasyonu

		N	CD68 + TAM sayısı				HEXİM1 ekspresyonu				TGFβ ekspresyonu			
			Hafif	Orta	Şiddetli	<i>P value</i>	Hafif	Orta	Şiddetli	<i>P value</i>	Hafif	Orta	Şiddetli	<i>P value</i>
PSA Rekürrensi	Yok	79	29	30	20	<i>p</i> >0.05	20	34	25	<i>p</i> ≤0.001	27	25	27	<i>p</i> >0.05
	Var	21	6	8	17		0	5	16		3	9	9	
Gleason Skor	≤ 7	62	28	22	12	<i>p</i> <0.05	16	27	19	<i>p</i> <0.05	25	19	18	<i>p</i> <0.05
	≥ 8	38	7	16	15		4	12	22		5	15	12	
Gleason Skor	6	6	5	1	0	<i>p</i> <0.05	4	2	0	<i>p</i> <0.01	5	0	1	<i>p</i> <0.05
	7	57	23	22	12		12	26	19		20	20	17	
	8	17	3	7	7		3	6	8		1	7	9	
	9	20	4	8	8		1	5	14		4	7	9	
Klinik Evre	Evre II	23	12	9	2	<i>p</i> <0.05	12	7	4	<i>p</i> ≤0.001	10	8	5	<i>p</i> >0.05
	Evre III	77	23	29	25		8	32	37		20	26	31	
pT Evre	pTIIa	2	1	1	0	<i>p</i> >0.05	1	1	0	<i>p</i> ≤0.001	0	2	0	<i>p</i> >0.05
	pTIIc	21	11	8	2		11	6	4		10	6	5	
	pTIIIa	70	21	27	22		8	31	31		18	24	28	
	pTIIIb	7	2	2	3		0	1	6		2	2	3	
LVİ	Yok	69	29	25	15	<i>p</i> >0.05	20	32	17	<i>p</i> ≤0.001	24	25	20	<i>p</i> >0.05
	Var	31	6	13	12		0	7	24		6	9	16	
PNI	Yok	15	9	6	0	<i>p</i> <0.01	11	3	1	<i>p</i> ≤0.001	8	6	1	<i>p</i> <0.01
	Var	85	26	32	27		9	36	40		22	28	35	
EPY	Yok	24	13	9	2	<i>p</i> <0.01	13	7	4	<i>p</i> ≤0.001	11	8	5	<i>p</i> >0.05
	Var	76	22	29	25		7	32	37		19	26	31	
CS	Negatif	72	30	28	14	<i>p</i> <0.01	20	30	22	<i>p</i> ≤0.001	26	27	19	<i>p</i> <0.01
	Pozitif	28	5	10	13		0	9	19		4	7	17	
VSi	Yok	93	33	36	24	<i>p</i> >0.05	20	38	35	<i>p</i> <0.05	28	32	33	<i>p</i> >0.05
	Var	7	2	2	3		0	1	6		2	2	3	

Tablo 9. SMAD2, SMAD7 ve MMP9 ekspresyonu ile klinikopatolojik bulguların korelasyonu

		N	SMAD2 ekspresyonu				SMAD7 ekspresyonu				MMP9 ekspresyonu			
			Hafif	Orta	Şiddetli	<i>P value</i>	Hafif	Orta	Şiddetli	<i>P value</i>	Hafif	Orta	Şiddetli	<i>P value</i>
PSA Rec	Yok	79	33	24	12	<i>p</i> ≤0.001	31	31	17	<i>p</i> <0.05	22	39	18	<i>p</i> ≤0.001
	Var	21	5	3	13		15	6	0		0	17	14	
Gleason Skor	≤ 7	62	29	19	14	<i>p</i> >0.05 (<i>p</i> =0,065)	31	17	14	<i>p</i> <0.05	19	26	17	<i>p</i> <0.05
	≥ 8	38	9	18	11		15	20	3		3	20	15	
Gleason Skor	6	6	6	0	0	<i>p</i> <0.05	3	1	2	<i>p</i> >0.05	3	2	1	<i>p</i> >0.05
	7	57	23	20	14		28	17	12		16	25	16	
	8	17	4	9	4		6	10	1		2	9	6	
	9	20	5	7	8		9	9	2		1	10	9	
Klinik Evre	Evre II	23	13	9	1	<i>p</i> <0.05	9	6	8	<i>p</i> <0.05	9	8	6	<i>p</i> >0.05 (<i>p</i> =0,077)
	Evre III	77	25	28	24		37	31	9		13	38	26	
pT Evre	pT IIa	2	1	1	0	<i>p</i> >0.05	0	2	0	<i>p</i> <0.05	1	1	0	<i>p</i> >0.05
	pTIIc	21	12	8	1		9	4	8		8	7	6	
	pTIIIa	70	24	24	22		32	29	9		12	34	24	
	pTIIIb	7	1	4	2		5	2	0		1	4	2	
LVİ	Yok	69	33	23	13	<i>p</i> <0.01	26	27	16	<i>p</i> <0.001	22	34	13	<i>p</i> ≤0.001
	Var	31	5	14	12		20	10	1		0	12	19	
PNİ	Yok	15	11	3	1	<i>p</i> <0.01	4	3	8	<i>p</i> ≤0.001	7	5	3	<i>p</i> <0.05
	Var	85	27	34	24		42	34	9		15	41	29	
EPY	Yok	24	13	10	1	<i>p</i> <0.05	9	7	8	<i>p</i> ≤0.05	9	9	6	<i>p</i> >0.05
	Var	76	25	27	24		37	30	9		13	37	26	
CS	Negatif	72	28	28	16	<i>p</i> >0.05	31	26	15	<i>p</i> >0.05	19	36	17	<i>p</i> <0.01
	Pozitif	28	10	9	9		15	11	2		3	10	15	
VSi	Yok	93	37	33	23	<i>p</i> >0.05	41	35	17	<i>p</i> >0.05	21	42	30	<i>p</i> >0.05
	Var	7	1	4	2		5	2	0		1	4	2	

Tablo 10. TAM Sayısı, HEXİM1 ekspresyonu ve TGFβ ekspresyonu ile klinik bulguların korelasyonu

		CD68 + TAM sayısı			HEXİM1 ekspresyonu			TGFβ ekspresyonu		
		Hafif	Orta	Şiddetli	Hafif	Orta	Şiddetli	Hafif	Orta	Şiddetli
Hasta Yaşı (yıl)	Ort ± SD	62,34±6.9	60,11±6.2	62,59±6,1	62.60±7.2	60.51±6.5	62.05±6.1	61.13±6.7	61.50±6.4	61.97±6.6
	<i>p</i>	<i>p</i> >0.05			<i>p</i> >0.05			<i>p</i> >0.05		
Prostat Hacmi (ml)	Ort ± SD	59,52±48.3	53,05±24	55,85±32.1	72.10±58.6	49.26±24.81	54.73±28.5	64.05±52.2	54.55±21.9	50.86±29.4
	<i>p</i>	<i>p</i> >0.05			<i>p</i> >0.05			<i>p</i> >0.05		
Tümör Hacmi (ml)	Ort ± SD	4,76±5.7	3,38±3.2	4,32±4.1	2.01±2.3	4.44±4.5	4.84±4.9	5.21±6.4	4.01±3.9	3.32±2.6
	<i>p</i>	<i>p</i> >0.05			<i>p</i> <0.05			<i>p</i> >0.05		
tPSA (ng/ml)	Ort ± SD	10,81±11.15	7,67±2.8	12,09±10.2	9.99±10	9.05±8.1	10.79±8.7	11.18±11.8	8.33±3.4	10.44±9.1
	<i>p</i>	<i>p</i> >0.05			<i>p</i> >0.05			<i>p</i> >0.05		

71

Tablo 11. SMAD2, SMAD7 ve MMP9 ekspresyonu ile klinik bulguların korelasyonu

		SMAD2 ekspresyonu			SMAD7 ekspresyonu			MMP9 ekspresyonu		
		Hafif	Orta	Şiddetli	Hafif	Orta	Şiddetli	Hafif	Orta	Şiddetli
Hasta Yaşı (yıl)	Ort ± SD	60.63±6.7	61.11±7.1	63.64±4.7	61.07±6.3	61.11±7.1	63.88±5.3	60.68±6.6	61.30±6.7	62.53±6.2
	<i>p</i>	<i>p</i> >0.05			<i>p</i> >0.05			<i>p</i> >0.05		
Prostat Hacmi (ml)	Ort ± SD	63.53±51	53.35±22	48.76±20	52.20±25.99	48.81±23.58	82.35±63	52.47±17.9	50.08±19.7	67.15±56.2
	<i>p</i>	<i>p</i> >0.05			<i>p</i> <0.05			<i>p</i> >0.05		
Tümör Hacmi (ml)	Ort ± SD	4.22±4.3	4.64±5.5	3.20±2.6	3.9±4.7	4.41±4.8	3.85±3	3.65±3	4.05±4.6	4.54±5.2
	<i>p</i>	<i>p</i> >0.05			<i>p</i> >0.05			<i>p</i> >0.05		
tPSA (ng/ml)	Ort ± SD	9.84±7.9	10.62±11	9.09±5.06	9.65±8.2	9.37±8.2	12.10±11.2	9.24±7.9	10.15±10	10.13±7.2
	<i>p</i>	<i>p</i> >0.05			<i>p</i> >0.05			<i>p</i> >0.05		

SMAD2 ekspresyonu ve klinikopatolojik bulgular arasındaki ilişki:

Tablo 9’da izlendiği gibi SMAD2 ekspresyonu ile Gleason skor-2 ($p=0.032$), klinik evre ($p=0.020$) arasında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki görüldü ($p<0.05$). SMAD2 ekspresyonu ile PSA rekürrensi arasında istatistiksel olarak kuvvetli pozitif anlamlı ilişki saptandı ($p=0.000$).

Tablo 9’da izlendiği gibi SMAD2 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon ($p=0.007$), perinöral invazyon ($p=0.008$), ekstraprostatik yayılım ($p=0.020$) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki mevcuttur ($p<0.05$). SMAD2 ekspresyonu ile cerrahi sınır pozitifliği ($p=0.578$) ve veziküla seminalis invazyonu ($p=0.372$) arasında istatistiksel olarak anlam bulunamadı ($p>0.05$). SMAD2 ekspresyonu ile patolojik T evresi ($p=0.146$) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

Tablo 11’de izlendiği gibi SMAD2 ekspresyonu ile hasta yaşı ($p=0,200$), prostat hacmi ($p=0,513$), tümör hacmi ($p=0,902$), preoperatif serum tPSA düzeyi ($p=0,796$) arasında istatistiksel olarak anlam bulunamadı ($p>0.05$).

SMAD7 ekspresyonu ve klinikopatolojik bulgular arasındaki ilişki:

Tablo 9’da izlendiği gibi SMAD7 ekspresyonu azaldıkça klinik evre ($p=0.033$) ve patolojik T evresinin ($p=0.028$) arttığı görüldü ve aralarında istatistiksel olarak zıt anlamlı ilişki bulundu ($p<0.05$). SMAD7 ekspresyonunun az olduğu olgularda PSA rekürrensi olasılığının fazla olduğu istatistiksel olarak saptandı ($p=0.012$). SMAD7 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon ($p=0.013$), perinöral invazyon ($p=0.000$), ekstraprostatik yayılım ($p=0.050$) arasında istatistiksel olarak anlamlı zıt ilişki mevcuttur ($p<0.05$). Tablo 11’de izlendiği gibi SMAD7 ekspresyonunun, prostat hacmi fazla olan olgularda daha kuvvetli olduğu gösterildi ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0.015$).

Tablo 9’da izlendiği gibi SMAD7 ekspresyonu ile cerrahi sınır pozitifliği ($p=0.251$), veziküla seminalis invazyonu ($p=0.289$) arasında istatistiksel olarak anlam bulunamadı ($p>0.05$). Tablo 11’de izlendiği gibi SMAD7 ekspresyonu ile hasta yaşı ($p=0.347$), tümör hacmi ($p=0.681$), preoperatif serum tPSA düzeyi ($p=0.950$) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p>0.05$). Buna ek olarak SMAD7 ekspresyonu ile Gleason skor-1 arasında ($p=0.022$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcut olup Gleason skor-2 arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p=0.248$).

MMP9 ekspresyonu ve klinikopatolojik bulgular arasındaki ilişki:

Tablo 9’da izlendiği gibi MMP9 ekspresyonu ile Gleason skor-1 ($p=0.027$) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ($p<0.05$). MMP9 ekspresyonu ile PSA rekürrensi ($p=0.000$) arasında istatistiksel olarak kuvvetli anlamlı ilişki bulundu ($p<0.05$).

Tablo 9’da izlendiği gibi MMP9 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon ($p=0.000$), perinöral invazyon ($p=0.043$), cerrahi sınır pozitifliği ($p=0.012$) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki mevcuttur ($p<0.05$). MMP9 ekspresyonu ile ekstraprostatik yayılım ($p=0.109$) ve veziküla seminalis invazyonu ($p=0.805$) arasında istatistiksel olarak anlam bulunamadı ($p>0.05$). MMP9 ekspresyonu ile klinik evre ($p=0.077$) ve patolojik T evresi ($p=0.422$) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

Tablo 11’de izlendiği gibi MMP9 ekspresyonu ile hasta yaşı ($p=0,610$), prostat hacmi ($p=0,747$), tümör hacmi ($p=0,895$), preoperatif serum tPSA düzeyi ($p=0,552$) arasında istatistiksel olarak anlam bulunamadı ($p>0.05$).

TAM sayısı ve diğer immunohistokimyasal boyama sonuçları Tablo 12, Tablo 13, Tablo 14, Tablo 15, Tablo 16, Tablo 17’de gösterilmiştir.

Tablo 12. TAM Sayısı ile diğer immunohistokimyasal bulguların korelasyonu

	N	HEXİM1 Ekspresyonu				TGFβ ekspresyonu				SMAD2 ekspresyonu				SMAD7 ekspresyonu				MMP9 ekspresyonu				
		1	2	3	<i>P value</i>	1	2	3	<i>P value</i>	1	2	3	<i>P value</i>	1	2	3	<i>P value</i>	1	2	3	<i>P value</i>	
TAM sayısı	1	35	11	18	6	<i>p</i> ≤0.001	24	11	0	<i>p</i> ≤0.001	18	11	6	<i>p</i> >0.05	18	11	6	<i>p</i> >0.05	15	12	8	<i>p</i> ≤0.001
	2	38	9	15	14		6	21	11		18	14	6		18	14	6		7	20	11	
	3	27	0	6	21		0	2	25		10	12	5		10	12	5		0	14	13	

Tablo 13. HEXİM1 ekspresyonu ile diğer immunohistokimyasal bulguların korelasyonu

	N	CD68 + TAM Sayısı				TGFβ ekspresyonu				SMAD2 ekspresyonu				SMAD7 ekspresyonu				MMP9 ekspresyonu				
		1	2	3	<i>P value</i>	1	2	3	<i>P value</i>	1	2	3	<i>P value</i>	1	2	3	<i>P value</i>	1	2	3	<i>P value</i>	
HEXİM1 ekspresyonu	1	20	11	9	0	<i>p</i> <0.001	8	9	3	<i>p</i> ≤0.001	10	7	3	<i>p</i> <0.05	5	7	8	<i>p</i> <0.05	8	9	3	<i>p</i> ≤0.001
	2	39	18	15	6		15	16	8		16	16	7		20	14	5		13	20	6	
	3	41	6	14	21		7	9	25		12	14	15		21	16	4		1	17	23	

Tablo 14. TGFβ ekspresyonu ile diğer immunohistokimyasal bulguların korelasyonu

	N	CD68 + TAM Sayısı				HEXİM1 Ekspresyonu				SMAD2 ekspresyonu				SMAD7 ekspresyonu				MMP9 ekspresyonu				
		1	2	3	<i>P value</i>	1	2	3	<i>P value</i>	1	2	3	<i>P value</i>	1	2	3	<i>P value</i>	1	2	3	<i>P value</i>	
TGFβ ekspresyonu	1	30	24	6	0	<i>p</i> ≤0.001	8	15	7	<i>p</i> ≤0.001	13	12	5	<i>p</i> >0.05	16	9	5	<i>p</i> >0.05	10	12	8	<i>p</i> <0.05
	2	24	11	21	2		9	16	9		12	14	8		15	13	6		9	18	7	
	3	36	0	11	25		3	8	25		13	11	12		15	15	6		3	16	17	

Tablo 15. SMAD2 ekspresyonu ile diğer immunohistokimyasal bulguların korelasyonu

	N	CD68 + TAM Sayısı				HEXİM1 Ekspresyonu				TGFβ ekspresyonu				SMAD7 ekspresyonu				MMP9 ekspresyonu				
		1	2	3	P value	1	2	3	P value	1	2	3	P value	1	2	3	P value	1	2	3	P value	
SMAD2 ekspresyonu	1	38	16	13	6	p>0.05	10	16	12	p<0.05	13	12	13	p>0.05	13	15	10	p≤0.001	14	14	10	p≤0.01
	2	37	12	15	11		7	16	14		12	14	11		13	20	4		5	23	9	
	3	25	10	9	8		3	7	15		5	8	12		20	2	3		3	9	13	

Tablo 16. SMAD7 ekspresyonu ile diğer immunohistokimyasal bulguların korelasyonu

	N	CD68 + TAM Sayısı				HEXİM1 Ekspresyonu				TGFβ ekspresyonu				SMAD2 ekspresyonu				MMP9 ekspresyonu				
		1	2	3	P value	1	2	3	P value	1	2	3	P value	1	2	3	P value	1	2	3	P value	
SMAD7 ekspresyonu	1	46	18	11	6	p>0.05	5	20	21	p<0.05	16	15	15	p>0.05	13	13	20	p≤0.001	11	17	18	p≤0.01
	2	37	18	14	6		7	14	16		9	13	15		15	20	2		3	25	9	
	3	17	10	12	5		8	5	4		5	6	6		10	4	3		8	4	5	

Tablo 17. MMP9 ekspresyonu ile diğer immunohistokimyasal bulguların korelasyonu

	N	CD68 + TAM Sayısı				HEXİM1 Ekspresyonu				TGFβ ekspresyonu				SMAD2 ekspresyonu				SMAD7 ekspresyonu				
		1	2	3	P value	1	2	3	P value	1	2	3	P value	1	2	3	P value	1	2	3	P value	
MMP9 ekspresyonu	1	22	15	7	0	p≤0.001	8	13	1	p≤0.001	10	9	3	p<0.05	14	5	3	p≤0.01	11	3	8	<0.05
	2	4	12	20	14		9	20	17		12	18	16		14	23	9		17	25	4	
	3	32	8	11	13		3	6	23		8	7	17		10	9	13		18	9	5	

TAM Sayısı ile immunohistokimyasal boyama sonuçları arasındaki ilişki:

Tablo 12’de izlendiği gibi, TAM sayısı arttıkça tümör hücrelerinde HEXİM1 ekspresyonu ($p=0.000$), TGF β ekspresyonu ($p=0.000$), MMP9 ekspresyonu ($p=0.000$) şiddetlerinde artma olduğu görüldü ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki bulundu ($p<0.05$). TAM sayısı ile SMAD2 ekspresyon şiddeti ($p=0.258$) ve SMAD7 ekspresyon şiddeti ($p=0.376$) arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilemedi ($p>0.05$).

HEXİM1 Ekspresyonu ile immunohistokimyasal boyama sonuçları arasındaki ilişki:

Tablo 13’de izlendiği gibi, tümör hücrelerinde HEXİM1 ekspresyonunun, tümörde TAM sayısı arttıkça arttığı görüldü ve aralarında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki bulundu ($p=0.000$). Tümör hücrelerinde HEXİM1 ekspresyon şiddeti artıkça, hücrelerde TGF β ekspresyon ($p=0.000$), MMP9 ekspresyonu ($p=0.000$), SMAD2 ekspresyonu ($p=0.030$) şiddetinde de artma izlendi ve aralarında istatistiksel olarak pozitif anlamlı sonuç elde edildi ($p<0.05$). HEXİM1 ekspresyon şiddeti ile SMAD7 ekspresyon şiddeti arasında istatistiksel olarak anlamlı zıt ilişki bulundu ($p=0.029$) ve tümör hücrelerinde HEXİM1 ekspresyon şiddeti arttıkça SMAD7 ekspresyon şiddetinde azalma olduğu tespit edildi. Ayrıca tümör stromasında ve inflamatuvar hücrelerde yaygın HEXİM1 nükleer ekspresyonu izlendi.

TGF β Ekspresyonu ile immunohistokimyasal boyama sonuçları arasındaki ilişki:

Tablo 14’de izlendiği gibi tümör hücrelerinde TGF β ekspresyon şiddetinin, tümörde TAM sayısı arttıkça arttığı görüldü ($p=0.000$) ve aralarında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki bulundu ($p<0.05$). Tümör hücrelerinde TGF β ekspresyon şiddeti ile HEXİM1 ekspresyonu ($p=0.000$), MMP9 ekspresyonu ($p=0.009$) arasında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki bulundu ($p=0.000$). Tümör hücrelerinde TGF β ekspresyon şiddeti ile SMAD2 ekspresyon ($p=0.250$) ve SMAD7 ($p=0.480$) ekspresyon şiddetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilemedi ($p>0.05$). Ayrıca tümör stromasında, stromal ve damar içi inflamatuvar hücrelerde yaygın TGF β ekspresyonu izlendi.

SMAD2 Ekspresyonu ile immunohistokimyasal boyama sonuçları arasındaki ilişki:

Tablo 15’de izlendiği gibi tümör hücrelerinde SMAD2 ekspresyon şiddeti ile HEXİM1 ekspresyonu ($p=0.030$), MMP9 ekspresyonu ($p=0.008$) arasında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki bulundu ($p<0.05$). Tümör hücrelerinde SMAD2 ekspresyon şiddeti arttıkça, SMAD7 ekspresyon şiddetinde azalma olduğu görüldü ($p=0.001$) ve aralarında istatistiksel olarak zıt anlamlı sonuç elde edildi. ($p<0.05$). SMAD2 ekspresyon şiddeti ile TAM sayısı ($p=0.258$) ve TGF β ekspresyon şiddeti ($p=0.250$) aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo16).

SMAD7 Ekspresyonu ile immunohistokimyasal boyama sonuçları arasındaki ilişki:

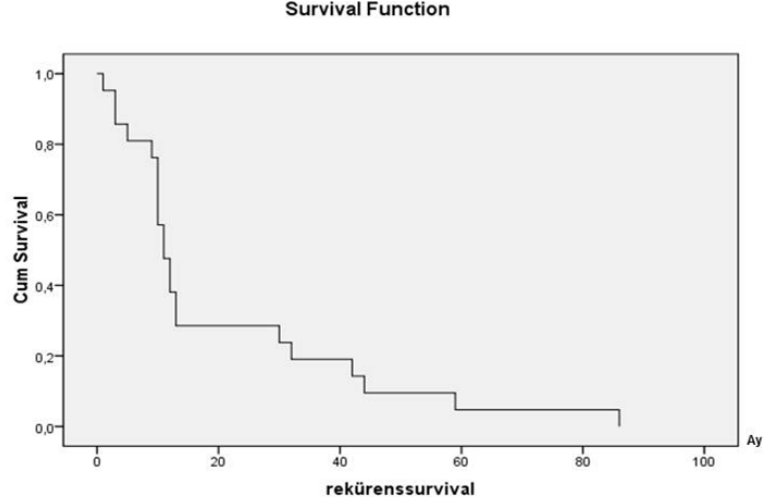
Tablo 16’da izlendiği gibi tümör hücrelerinde SMAD7 ekspresyon şiddeti arttıkça, SMAD2 ekspresyon şiddetinde azalma olduğu görüldü ($p=0.001$) ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu. Tümör hücrelerinde SMAD7 ekspresyon şiddeti arttıkça, HEXİM1 ekspresyon şiddetinde de azalma izlendi ($p=0.029$) ve aralarında istatistiksel olarak zıt anlamlı sonuç elde edildi ($p<0.05$). SMAD7 ekspresyon şiddeti ile TAM sayısı ($p=0.376$) ve TGF β ekspresyon şiddeti ($p=0.480$) ve MMP9 ekspresyon şiddeti ($p=0.239$) aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

MMP9 Ekspresyonu ile immunohistokimyasal boyama sonuçları arasındaki ilişki:

Tablo 17’de izlendiği gibi tümör hücrelerinde MMP9 ekspresyon şiddetinin, tümörde TAM sayısı arttıkça arttığı görüldü ($p=0.001$) ve aralarında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki bulundu ($p<0.05$). MMP9 ekspresyon şiddeti ile HEXİM1 ekspresyonu ($p=0.000$), TGF β ekspresyonu ($p=0.009$), SMAD2 ekspresyonu ($p=0.008$) şiddetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ($p<0.05$). MMP9 ekspresyonu ve SMAD7 ekspresyonu ($p=0.239$) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p>0.05$). Ayrıca tümör stromasında, stromal ve damar içi inflamatuvar hücrelerde yaygın MMP9 sitoplazmik ekspresyonu izlendi.

Biyokimyasal PSA Rekürrensi:

100 hastanın 21 tanesinde postoperatif dönemde biyokimyasal PSA rekürrensi görülmüştür. Yapılan Kaplan Meier analizinde, 100 Hastanın 10.ayda rekürrens yüzdesi %57.1, 30.ayda %23.8, 44.ayda %0.95, 59.ayda %0.48 olup 59.ayda %0'dır.

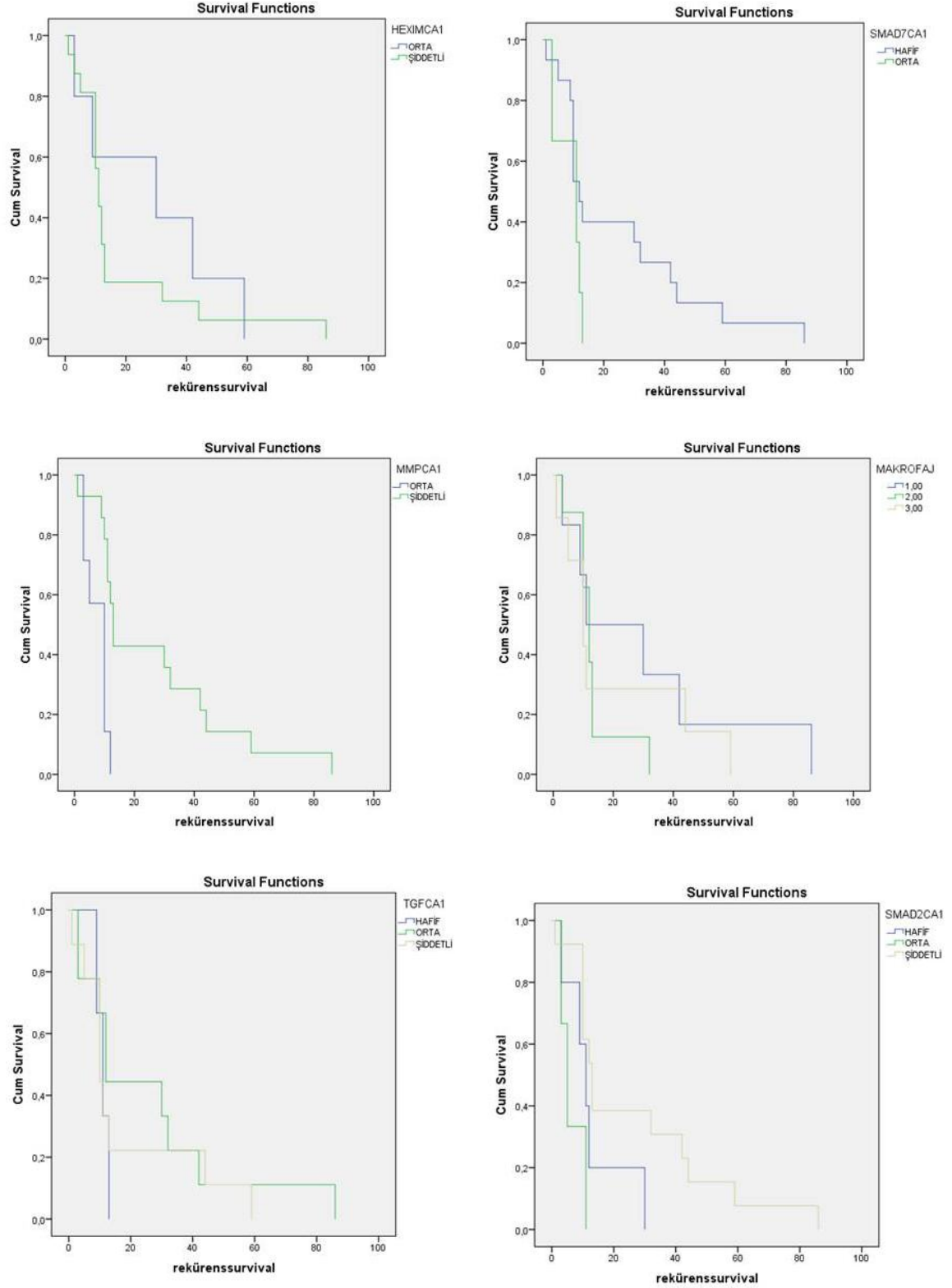


Şekil 10. Biyokimyasal PSA rekürrensini Kaplan Meier eğrisi ile gösterilmesi

Yapılan Cox Regresyon Analizinde biyokimyasal PSA rekürrensi ile hasta yaşı, tümörün ekstrakapsüler yayılımı, vezikula seminalis invazyonu yanı sıra HEXİM1 ekspresyonu, SMAD7 ekspresyonu, MMP9 ekspresyonu ilişkili olarak bulunmuştur. TAM sayısı da p değeri 0,05' ten yüksek olmasına karşın kısmen anlamlı olarak kabul edilebilir.

Tablo 18. Cox Regresyon analizi sonucu biyokimyasal PSA rekürrensini etkileyen faktörler

Değişken	HR _{crude}	%95 CI	P değeri
Hasta Yaşı	1,291	1,080-1,545	,005*
EPY	,010	,000-,274	,006*
VSi	13,073	1,120-152,608	,040*
TAM	4,203	,865-20,410	,075
HEXİM1 Ekspresyonu	,157	,029-,842	,031*
SMAD7 Ekspresyonu	5,996	1,132-31,763	,035*
MMP9 Ekspresyonu	,073	,011-,492	,007*



Şekil 11. Biyokimyasal PSA rekürrensi üzerine immunohistokimyasal belirteçlerin etkisinin Kaplan Meier eğrisi ile gösterilmesi

TARTIŞMA

Prostat adenokarsinomu dünyada erkeklerde akciğer kanserlerinden sonra ikinci en sık görülen kanser türü olup tüm kanserlerin yaklaşık %15' ini oluşturmakla birlikte tüm kanserler arasında 5. sıradadır. Erkeklerde kanser ölümlerinde 5. sırayı almaktadır (2). Prostat karsinomunda tedavi kararlaştırılırken klinik evre, preoperatif PSA, hastanın genel durumu yanı sıra iğne biyopsisindeki Gleason skoru da göz önünde bulundurulur. Klinik evreleme için kemik sintigrafisi, BT ve MRI inceleme, Transrektal Ultrason (TRUS), serum PSA seviyesi ölçümü ve transrektal veya transperineal biyopsi uygulanır. Klinik özelliklerine ve biyopsi sonrası tümörün Gleason skoruna göre hastalar düşük-orta-yüksek riskli olmak üzere üç gruba ayrılırlar ve hastanın durumuna göre tedavi şeması planlanır. Tedavi için radikal prostatektomi, adjuvan eksternal-beam radyoterapi, hormonoterapi (Antiandrojenik ajanlar, "Luteinize hormon releasing" hormon analogu ve antagonistleri) tedavi seçeneklerinden biri veya çoklu kombinasyonları tercih edilebilir.

Prostat adenokarsinomları %97 oranında 50 yaş ve üstü hastalarda görülmektedir (3). İlerleyen yaş ile beraber görülme sıklığı ve riski artmaktadır. Öbek ve arkadaşlarının 489 hastada yaptığı bir çalışmada 70 yaş ve altı hastalar (449 adet) ile 70 yaş üstü hastalar (40 adet) arasında az diferansiye tümör (Gleason skoru 7 ve üstü) görülme insidansı, tümörün ekstrakapsüler yayılım göstermesi, cerrahi sınır pozitifliği olması, seminal vezikül invazyonu olması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda ise hastaların ortalama yaşları 61.56 ± 6.2 (46-72) olarak saptanmış olup benzer şekilde hasta yaşları ile Gleason skorları, ekstrakapsüler yayılım, cerrahi sınır pozitifliği, seminal vezikül invazyonu, lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir. Yine Öbek ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 70 yaş ve altı 449 hastanın 54 (%12)' unde, 70 yaş ve üstü 40 hastanın ise 10 (%25)' unda biyokimyasal rekürrens saptanmış olup 70 yaş altındaki hastalarda biyokimyasal rekürrens gelişme riski, 70 yaş üstü hastalarda gelişmesinden 2 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ayrıca çalışmalarında 70 yaş üstü hastalarda daha kısa zamanda rekürrens geliştiğini göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda ise rekürrens gelişen hastaların ortalama yaşları 63.38, gelişmeyen hastaların ortalama yaşları ise 61.08 olup, hasta yaşları ile PSA rekürrensi gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır.

Gleason Grade ve skoru, prostat adenokarsinomunun biyolojik davranışını tahmin etmek için bilinen en önemli prognostik faktörlerden biridir (1, 42). Literatürde yapılan çalışmalara benzer şekilde, çalışmamızda Gleason skor ile klinik evre ve patolojik T evresi arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilmiş olup yüksek Gleason skora sahip tümörlerin, düşük ve orta derece Gleason skorlu tümörlerden daha ileri evrede oldukları görülmüştür (46, 81, 82). Guimaraes ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, 200 hastanın 82 tanesinde cerrahi sınır pozitifliği ve 54 hastada ekstraprostatik yayılım gösterilmiş olup Gleason skor arttıkça tümörde cerrahi sınır pozitifliği ve ekstraprostatik yayılım görülme oranının arttığı bildirilmiştir (83). Bu çalışmada benzer şekilde, yüksek Gleason skorlu tümörlerde daha fazla ekstrakapsüler yayılım ve cerrahi sınır pozitifliği olduğu tespit edilmiştir. Rusthoven ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Gleason skor 6-7-8-9-10 olan tümörler ile hastaların preoperatif serum PSA düzeyleri karşılaştırılmış olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki olduğu rapor edilmiştir (81). Bu çalışmaya benzer şekilde, preoperatif serum tPSA düzeyleri ile Gleason skorlarını karşılaştırdığımızda, düşük (≤ 7) ve yüksek (≥ 8) Gleason skorları ile tPSA düzeyleri arasında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki olduğu saptanmıştır.

Gleason skoru yüksek tümörlerde lenfovasküler invazyonun daha fazla olduğu düşünülmektedir. Lenfovasküler invazyon gösteren tümörlerde de yüksek Gleason skor, cerrahi sınır pozitifliği, ekstraprostatik yayılım, veziküla seminalis invazyonu, ileri klinik evre ve artmış biyokimyasal rekürrens risklerinin olduğu bilinmektedir (52). Yee ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 1298 hastanın 129 (%10)'unda lenfovasküler invazyon, Ertoy Baydar ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 71 hastanın 11'inde lenfovasküler invazyon ve Ferrari ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 620 hastanın 110'unda lenfovasküler invazyon tespit edilmiş olup her üç çalışmada da lenfovasküler invazyon varlığı ile yüksek Gleason skor, ekstrakapsüler yayılım, cerrahi sınır pozitifliği, veziküla seminalis invazyonu ve lenf nodu metastazı arasında pozitif ilişki olduğu bildirilmiştir (34,57,84). Ayrıca Ertoy Baydar ve arkadaşları ile Ferrari ve arkadaşlarının yaptığı iki çalışmada, lenfovasküler invazyonun biyokimyasal rekürrens açısından bağımsız prediktör faktör olmasının yanı sıra lenfovasküler invazyonu olan hastalarda daha kısa sürede rekürrens geliştiği saptanmıştır (34,84). Mevcut çalışmada da, PSA rekürrensi ile lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, veziküla seminalis invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki bulunmuştur. Bunlara ek olarak Ferrari ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, tümör hacmi arttıkça lenfovasküler invazyon görülme oranının arttığı bildirilmiştir (84). Ancak çalışmamızda tümör hacmi ile lenfovasküler

invazyon arasında istatistiksel anlamlı pozitif ilişki bulunamamıştır. Bunlara ek olarak lenfovasküler invazyon ile preoperatif serum tPSA düzeyleri arasında istatistiksel olarak pozitif korelasyon bulunmuştur.

Gleason skorunun hastalık rekürrensi açısından prognostik önemi olduğu bilinmektedir (81). Bianco ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 532 tanesi prostata sınırlı tümörden 21 tanesinde hastalık rekürrensi izlenmiş olup hastalık rekürrensleri açısından bakıldığında sadece Gleason skoru prognostik açıdan anlamlı bulunmuştur (85). Han ve arkadaşlarının 2091 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada ise, hastalar ortalama 5.9 yıl (1-17 yıl) takip edilmiş ve 360 hastada (%17) biyokimyasal rekürrens ($PSA \geq 0.2$ ng/ml) geliştiği gözlenmiştir (86). Biyokimyasal rekürrens gelişen ve gelişmeyen hastalar karşılaştırıldığında ise yüksek Gleason skorun, ileri TNM evresinin ve yüksek preoperatif PSA düzeyinin rekürrens gelişimi açısından önemli olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmalara benzer şekilde, bizim hastalarımız içinden rekürrens gelişenler ile gelişmeyenleri karşılaştırdığımızda, rekürrens gelişenlerin daha ileri patolojik T evresine ve daha yüksek Gleason skoruna sahip oldukları görülmüştür. Ancak bizim çalışmamızda Han ve arkadaşlarının çalışmasının aksine preoperatif PSA düzeyi ile rekürrens gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamamıştır (86).

Cerrahi sınır pozitifliği ve ekstrakapsüler yayılım gösteren tümörlerde PSA rekürrens riskinin daha yüksek olduğu bilinmektedir (42). Hatta Savdie ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada cerrahi sınır pozitifliği gösteren tümörlerde, cerrahi sınırdan devam eden tümörün Gleason derecesi ile hastanın PSA rekürrensi gelişimi arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Cerrahi sınırdan devam eden Gleason derece 4 veya 5 olan tümörlerin, Gleason derece 3 olanlar ile kıyaslandığında ise daha sık rekürrens ile ilişkili oldukları saptanmıştır. Ancak literatürden farklı olarak ekstrakapsüler yayılım ile rekürrens arasında ilişki olmadığı bildirilmiştir (87). Yine Salomon ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada, 137 seminal vezikül invazyonu gösteren ve farklı Gleason skorlarına (3 adet skor 2-4; 83 adet skor 5-7; 51 adet skor 8-10) sahip olgularda, ne ekstrakapsüler yayılımın ne de cerrahi sınır pozitifliğinin hastalığın progresyonu açısından anlamlı olmadığı rapor edilmiştir (88). Bizim çalışmamızda PSA rekürrensi açısından cerrahi sınır pozitifliği ve ekstrakapsüler yayılım olmasının istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadığı bulunmuştur. Bizim ulaştığımız bu sonucun nedeninin çalışmaya dahil edilen toplam olgu sayısının ve cerrahi sınır pozitifliği gösteren olgu sayısı ile PSA rekürrensi gösteren olgu sayısının az olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bu konuda kesin yorum yapabilmek için daha fazla sayıda hasta grubu ile araştırılma

yapılması gerekmektedir. Bunlara ek olarak bizim çalışmamız sonucunda, ekstraprostatik yayılım gösteren tümörlerin daha yüksek Gleason skorlu oldukları, daha fazla tümör hacmine sahip oldukları ve bu tümörlerde daha sık perinöral invazyon ile lenfovasküler invazyon izlendiği gösterilmiştir. Literatürde yapılan bir çalışmada küçük prostat hacmine sahip olguların, büyük hacimli olgulara kıyasla daha fazla tümör hacmine sahip oldukları ve ekstrakapsüler yayılım insidansının daha fazla olduğu gösterilmiştir (89). Çalışmamızda da benzer şekilde prostat hacmi azaldıkça ekstrakapsüler yayılım görülme olasılığının arttığı dikkati çekmiştir. Bununla birlikte hasta yaşı ile ekstraprostatik yayılım arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır.

Prostat adenokarsinomu yayılımında tümörün perinöral invazyonu ve perinöral aralığa geçen tümörün sinirler yoluyla ilerlemesi oldukça önemlidir. Hatta prostat iğne biyopsisinde tümörün perinöral invazyon yaptığını görmenin, hastaya sinir koruyucu radikal prostatektomi yapılmaması gerektiği konusu tartışmalıdır (90). Cozzi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da iğne biyopsisinde perinöral invazyon gösteren olguların radikal prostatektomi materyalinde daha yüksek ekstraprostatik yayılım insidansına sahip olduğu tespit edilmiştir (91). Delancey ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, 3226 hastaya ait prostat adenokarsinomu arasından 634 tanesinde (%20) perinöral invazyon saptanmıştır (92). Perinöral invazyon gösteren hastaların daha yüksek preoperatif serum PSA seviyesine sahip oldukları, tümörün daha yüksek Gleason skorlu ve daha ileri evrede olduğu, daha yüksek oranda ekstraprostatik yayılım, cerrahi sınır pozitifliği, seminal vezikül invazyonu ve lenf nodu metastazı gösterdiği tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde perinöral invazyon ile Gleason skoru, klinik evre, patolojik T evresi arasında istatistiksel olarak pozitif anlamlı ilişki bulunmuştur. Ayrıca perinöral invazyonu olan olguların tümör hacimlerinin, perinöral invazyon göstermeyenlere kıyasla daha fazla olduğu ve prostat hacimlerinin daha az olduğu çalışmamızda gösterilmiştir. Jeon ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, perinöral invazyonun biyokimyasal rekürrens açısından bağımsız risk faktörü olduğu bulunmuştur (93). Benzer şekilde perinöral invazyon gösteren olguların rekürrens riskinin yüksek olduğu çalışmamızda saptanmıştır.

Prostat adenokarsinomunda veziküla seminalis invazyonu varlığı genellikle kötü prognoz ile ilişkilidir (88). Kristiansen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 1050 adet prostat adenokarsinomundan 60 tanesinde (%5.7) veziküla seminalis invazyonu tespit edilmiş olup araştırmada tümörün veziküla seminalis invazyonu göstermesinin, yüksek Gleason skor, artmış lenf nodu metastaz riski ve erken biyokimyasal rekürrens riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur (50). Bu çalışmaya benzer bir şekilde, veziküla seminalis

invazyonu gösteren olguların daha yüksek gleason skorlu ve daha ileri patolojik evrede olduğu çalışmamızda bulunmuştur. Biyokimyasal rekürrens içinde tümörün veziküla seminalis invazyonu göstermesi risk faktörü olarak bildirilmiştir. Olgu sayısının az olması nedeniyle veziküla seminalis invazyonu ve lenf nodu metastazı arasındaki ilişki ile ilgili yorum yapmak sağlıklı olmayacaktır.

Bhatta-Dhar ve arkadaşlarının 336 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, bu hastalardan sadece 140 tanesine pelvik lenf nodu disseksiyonu (PLND) yapılmış olup sadece 1 hastada lenf nodu metastazı saptanmıştır (94). Hastalar 1-96 ay arasında takip edilmiş olup PLND yapılan ve yapılmayan hastalar biyokimyasal rekürrens gelişimi açısından karşılaştırılmıştır. PLND yapılan hastaların 17 tanesinde, yapılmayan hastaların ise 16 tanesinde biyokimyasal rekürrens tespit edilmiş olup aralarında biyokimyasal rekürrens gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu çalışma sonucunda, PLND'nun prostat adenokarsinomu gidişatı açısından belirleyici olmadığı sonucuna varılmıştır. Bizim 100 hastamızın da sadece 50 tanesinde pelvik lenf nodu disseksiyonu yapılmış olup yapılanların hiçbirinde metastaz saptanmamıştır. Ayrıca Gleason derece 4 veya 5 olan bir tümörün 3.2cc'den fazla tümör hacmine sahip olması lenf nodu metastaz riskini 100 kat arttırdığı bildirilmiştir (48). Çalışmamızdaki Gleason primer derecesi 4 ve 5 olan toplam 70 tümörün, en düşük tümör hacmi 3.22cc olmakla beraber sadece 37 tanesinde lenf nodu disseksiyonu yapılmış ve hiçbirinde lenf nodu metastazı görülmemiştir.

Tümör hacmi artışıyla tümörün ekstrakapsüler yayılım, cerrahi sınır pozitifliği, seminal vezikül invazyonu risklerinin de arttığı bilinmektedir (1). Literatüre baktığımızda, Chun ve arkadaşlarının radikal prostatektomi ameliyatı geçiren 780 hastada yaptıkları çalışmada, 147 hastada PSA rekürrensi (≥ 0.1 ng/ml) geliştiği tespit edilmiştir (45). PSA rekürrensi gelişen ve rekürrens olmayan hastaların tümör hacimlerine baktıklarında, yüksek tümör hacminin, radikal prostatektomi materyalinde cerrahi sınır pozitifliği görülmesi açısından ve hastada rekürrens gelişimi açısından en önemli risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Ancak bizim çalışmamızda tümör hacmi ile PSA rekürrensi gelişimi veya tümör hacmi ile cerrahi sınır pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamamıştır. Bunun nedeni hasta sayısının kısıtlı olmasından olabileceğini düşünmekteyiz. Tümör hacmi arttıkça tümörün diferansiyasyon kaybında artma ve metastaz riskinde artış olduğu düşünülmektedir (47). Tümörlerin Gleason skorlarında görülen artış ile tümör hacimlerinde görülen artış çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı

bulunmuştur. Ayrıca tümör hacmi arttıkça perinöral invazyon, veziküla seminalis invazyonu ve ekstraprostatik yayılım görülme sıklığının da arttığı saptanmıştır.

Prostat adenokarsinomu oluşum mekanizmasında kronik inflamasyon ve kronik inflamasyonun etkileri hala tartışma ve araştırma konusudur. İnflamatuar süreçte yer alan makrofaj, nötrofil gibi inflamatuvar hücrelerin mikroorganizmaları yok etmek amacıyla ürettiği hidrojen peroksid, süperoksid, nitrik oksid gibi oksijen ve nitrojen türlerinin, tekrarlayan hücre ve DNA hasarına yol açtığı, bunun da hücre proliferasyonunda artışa neden olduğu bilinmektedir (6,95,96,97). Bu görüş prostat karsinogenezisindeki inflamatuvar kaskadı açıklamaktadır. Gollapudi ve arkadaşlarının 332 hastanın radikal prostatektomi materyalinde yaptıkları çalışmada prostat glandına ait benign, PIN ve kanser dokularında TAM sayısı sayılmıştır. Benign prostat dokusunda ortalama 3.15, PIN alanlarında 4.45, kanserde ise ortalama 6.60 adet TAM olduğu gösterilmiş ve bu alanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuş olup TAM sayısının prostat dokusunda maligniteye geçişte arttığı tespit edilmiştir (98). Shimura ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada da benzer şekilde, aynı hastaların malign prostat dokuları ile benign prostat dokuları TAM sayısı açısından karşılaştırıldığında malign prostat dokularında daha fazla TAM olduğu görülmüştür (99).

Tümör ilişkili makrofajlar, kanda dolaşan monositlerden köken alırlar ve diferansiye olurlar. Yapılan çalışmalarda tümörde çok sayıda TAM bulunmasının kötü prognoz ve metastaz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Diğer yandan yapılan hayvan deneylerinde, tümörde az sayıda TAM olmasının tümör büyümesi ve metastazın inhibisyonu ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (63). Literatürde yapılan çalışmalarda kolon kanserinde TAM sayısının artmasıyla tümörün evre ve histolojik derecesinin arttığı gösterilmiş olup hepatik metastaz riskinin de yüksek olduğu bildirilmiştir (100,101). Ayrıca epitelyal over karsinomlarında da TAM sayısının histolojik derece ile ilişkili olduğu bulunmuştur (102). Özofagus skuamöz hücreli karsinomda (103), mesane kanserinde (104), malign melanomda (105) TAM sayısının yüksek olduğu olgularda tümör invazyonunun da fazla olduğu rapor edilmiştir.

Gollapudi ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada tümörler Gleason skor ≤ 6 , 7, ≥ 8 olmak üzere 3 gruba ayrıldığında TAM sayısı ile tümörün Gleason skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamamıştır (98). Ancak, yine aynı çalışmada olgular primer Gleason derecelerine göre karşılaştırıldığında Gleason derece 4 kanserde, derece 3 kansere göre daha fazla sayıda TAM olduğu görülmüş ve aralarında TAM sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Lissbrant ve arkadaşları ile Shimura ve

arkadaşlarının yaptıkları çalışmalara benzer şekilde çalışmamızda yüksek Gleason skorlu tümörlerde düşük Gleason skorlu tümörlere göre daha yüksek sayıda TAM olduğu bulunmuştur (99,106). Yine Shimura ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada klinik T evresi arttıkça tümörde yer alan TAM sayısının azaldığı görülmüş olup aralarında istatistiksel olarak zıt anlamlı ilişki bulunmuştur (99). Çalışmamızda ise bu sonucun aksine TAM sayısı, ileri klinik evreye ve patolojik T evresine sahip olgularda daha fazla sayıda sayılmış olup TAM sayısı ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki tespit edilmiştir.

Gollapudi ve arkadaşları ile Shimura ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda TAM sayısının, cerrahi sınır durumunu, ekstraprostatik yayılımı, seminal vezikül invazyonunu, lenf nodu metastaz durumunu etkilemediği bildirilmiştir (98,99). Bu iki çalışmanın aksine TAM sayısının yüksek olduğu olgularda ekstraprostatik yayılımın ve cerrahi sınır pozitifliğinin fazla olduğu çalışmamızda görülmüş olup TAM sayısı ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki tespit edilmiştir. Ancak bu iki çalışmaya benzer şekilde seminal vezikül invazyonu ile TAM sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır. Ancak bu sonucun toplam olgu sayımızın ve veziküla seminalis invazyonu gösteren olgu sayımızın az olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. TAM sayısının veziküla seminalis invazyonu açısından da önem taşıdığını düşünmekle birlikte daha sağlıklı sonuç için daha fazla sayıda olgu ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz. Bu çalışmalara ek olarak bizim çalışmamızda TAM sayısının lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon ile ilişkisini araştırdığımızda, tümörde TAM sayısının arttıkça lenfovasküler invazyon ve perinöral invazyon sıklığının arttığı görülmüştür. Gollapudi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya benzer şekilde TAM sayısı ile hasta yaşı, preoperatif serum PSA seviyesi arasında ilişki bulunmamıştır (98). Bunlara ek olarak, prostat hacminin veya tümör hacminin tümörde yer alan TAM sayısını etkilemediği istatistiksel olarak gösterilmiştir.

Lissbrant ve arkadaşları ile Nonomura ve arkadaşlarının yaptıkları iki çalışmada yüksek TAM sayısı biyokimyasal PSA rekürrensi ile ilişkili olarak bulunmuştur (106,107). Ancak bu sonuçlar değerlendirilirken, Lissbrant ve arkadaşları TUR materyallerinde adenokarsinom saptanan hastaların, Nonomura ve arkadaşlarının çalışmasının iğne biyopsisi ile tanı alan hastaların androjen tedavisi sonrası takiplerinde PSA rekürrensi açısından yapıldığı göz önüne alınmalıdır. Literatüre baktığımızda, Shimura ve arkadaşlarının çalışmasında cerrahi sınır pozitif olgular arasında karşılaştırma yapıldığında TAM sayısı yüksek olgularda biyokimyasal PSA rekürrensini daha fazla olduğu istatistiksel olarak gösterilmiş olup bu çalışmada da yalnızca cerrahi sınır pozitifliği olan olgular

arasında PSA rekürrensi açısından TAM sayıları karşılaştırıldığını göz önünde bulundurmalıyız (99). Gannon ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise 40 adet radikal prostatektomi sonrasında takip edilen hastada TAM sayısı ile PSA rekürrensi arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (108). Mevcut çalışmada ise, 100 olgunun tümü arasında yaptığımız karşılaştırmada, 21 olguda PSA rekürrensi tespit edilmiştir. Gollapudi ve arkadaşları ile benzer şekilde TAM sayısı ile hastalık rekürrensi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olmadığı görülmüştür (98). Ancak rekürrens gösteren olguların daha yüksek TAM sayısına sahip olduğu dikkati çekmiştir.

Tümör mikroçevresinin bir komponenti olan TAM'ların bir takım sitokinler salgılayarak tümörün büyümesine, ilerlemesine, anjiyogenezis ve metastaz yapabilme yeteneği kazanmasına yol açtığı bilinmektedir. TAM'lardan salınan önemli proteolitik enzim MMP9'dur. MMP9 ekspresyonunun kanserlerde makrofaj, nötrofil ve lenfositler içeren tümör ilişkili stromal hücrelerden salınımının arttığı ve MMP9'un tümör ilişkili inflamasyonda etkin rol oynadığı bilinmektedir (109). Bu ilişkiyi destekleyecek şekilde çalışmamızda TAM sayısı ile tümör hücrelerinden eksprese edilen MMP9 şiddeti arasında pozitif ilişki olduğu gösterilmiştir.

Karsinogenezisin aşamalarında ve kanser progresyonunda, MMP9 stromal epitelyal ilişkide rol oynayan otokrin ve parakrin etki gösteren önemli bir mediyatördür. Cardillo ve arkadaşlarının prostat kanserli dokularda immunohistokimya ve insitu hibridizasyon yöntemleri ile yaptığı çalışma sonucunda, Gleason skor arttıkça tümör hücrelerinden MMP9 ekspresyonunun da arttığı bildirilmiştir (110). Yapılan çoğu çalışmada MMP9 ile tümörün Gleason skoru arasındaki bu pozitif korelasyon bildirilmesine rağmen Behnsawy ve arkadaşları MMP9 ekspresyonu ile Gleason skor arasında bir ilişki bulamamışlardır (111,112,113,114). Literatürdeki bu bulguların aksine, Özden ve arkadaşlar, MMP9 ekspresyonunun düşük Gleason skorlu tümörlerde (<7) ve Gleason derece 2 ve 3 olan tümörlerde daha fazla olduğu rapor edilmiştir (115). Bizim çalışmamızda de ise, Özden ve arkadaşlarının aksine, diğer çalışmalara benzer şekilde Gleason skoru yüksek tümörlerde MMP9 ekspresyon şiddetinin arttığı gösterilmiştir.

MMP9'un tümör invazyonunu ilerlettiği ve metastaza yol açtığı bilinmektedir. Wilson ve arkadaşlarının yaptığı prostat hücre kültürü çalışmasında, artmış MMP9 seviyesinin kanser gelişimi ve progresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (80). Literatürde yapılan çoğu çalışmada, tümör MMP9 ekspresyonu ile patolojik T evresi, seminal vezikül invazyonu, cerrahi sınır pozitifliği, lenf nodu metastazı arasında pozitif korelasyon olduğu rapor edilmiştir (113). Brehmer ve arkadaşlarının çalışmasında pT1c

tümörlerde, palpabl tümörlere kıyasla daha fazla MMP9 ekspresyonu saptanmakla beraber, bu çalışmanın aksine Behnsawy ve arkadaşları MMP9 ekspresyonu ile bu parametreler arasında anlamlı ilişki bulamamışlardır (112, 114). Özden ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise literatürden tamamen farklı sonuçlar rapor edilmiştir. T2 evresinde olan tümörlerde, T3 evresinde olanlara göre daha fazla MMP9 ekspresyonu görüldüğü ve organa sınırlı tümörlerde, ekstrakapsüler invazyon gösteren tümörlere kıyasla tümör stromasında daha fazla MMP9 ekspresyonu olduğu bildirilmiştir (115). Özden ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın aksine MMP9 ekspresyonu fazla olan tümörlerde daha sık cerrahi sınır pozitifliği olduğunu çalışmamızda saptanmakla beraber ekstrakapsüler yayılım, tümörün klinik ve patolojik T evresi ile MMP9 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır. Ayrıca bu çalışmanın aksine, MMP9 ekspresyonun şiddeti ile lenfovasküler ve perinöral invazyon arasında pozitif ilişki olduğu görülmüştür. Bunlara ek olarak çalışmamızda Miyake ve arkadaşları gibi MMP9 ekspresyon şiddetinin PSA rekürrensi gösteren olgularda, PSA rekürrensi göstermeyenlere göre daha şiddetli olduğu bulunmuştur.

Literatürde yapılan tüm bu çalışma sonuçlarını birlikte değerlendirildiğinde tümörde MMP9 ekspresyonu ve onun prognostik faktörler üzerine etkisi arasında kesin bir sonuç çıkarılamamaktadır. Bunun nedeninin MMP9'un pro-tümörojenik ve anti-tümörojenik çift etkisinden dolayı olduğunu düşünebiliriz. Bu nedenle MMP9 tek başına tümör prognozu açısından bağımsız bir prognostik faktör olarak kabul edilmemektedir. Ancak yaptığımız Cox regresyon analizi sonucunda MMP9 tek başına bağımsız prognostik faktör olarak bulunmuştur.

TAM'lardan salgılanan diğer bir önemli sitokin de TGF β 'dir. TGF β 'nin MMP9 ekspresyonu üzerindeki etkisi farklı dokularda upregülasyon ya da downregülasyon şeklinde olmak üzere birbirlerinden farklıdır. Prostat kanser hücre kültüründe yapılan çalışmalarda da bu durum farklı çalışmalarda farklı sonuçlar şeklinde bulunmuştur (80). Çalışmamızda, Wilson ve arkadaşlarının hücre kültürü ile yaptıkları çalışmaya benzer şekilde tümör hücrelerinden eksprese edilen TGF β ve MMP9 şiddetleri arasında kuvvetli pozitif korelasyon bulunmuştur. Ayrıca TAM sayısı artışı ile MMP9 ekspresyon artışında olduğu gibi TGF β ekspresyonunda da çok anlamlı bir artış tespit edilmiştir.

TGF β 'nin tümör geliştirici etkisi tümör hücre invazyonunu, migrasyonunu, yaşam süresini artırarak, epitelyal mezenkimal transformasyonu sağlayarak, anjiyogenezise yol açarak yapmaktadır. Böylece kanserde TGF β 'nin artışı ileri evre ve metastaz ile sonuçlanmaktadır (7,9,10,11). Miles ve arkadaşlarının prostat kanser hücrelerinde

yaptıkları “Western blot” ve immunopresipitasyon çalışmasında düşük dansiteli kanser hücre kültürü ile yüksek dansiteli kanser hücre kültürü TGF β etkisi açısından karşılaştırıldığında, düşük dansiteli kanser hücre kültüründe TGF β 'nın büyüme üzerine inhibisyon etkisinin daha belirgin olduğu gösterilmiştir (116).

Bunlara ek olarak kanser hücreleri ekspresse ettikleri tümör spesifik antijenler nedeniyle immun sistem tarafından tanınırlar ve bu tümör hücrelerinin destrüksiyonuna yol açar. Ancak tümör hücrelerinden salgılanan TGF β , aktive kanser hücresi aracılı immunosupresyona neden olur ve kanser hücreleri immun mekanizmadan kaçır. TGF β 'nın immunosupresif etkisi T hücreleri ve makrofaj gibi antijen sunan presente eden hücreler üzerinden gerçekleşir (9,10). Bu da bize kanserin ilerlemesinde TAM'ların TGF β yolağı üzerinden etkisinin ne kadar önemli olduğunu göstermektedir.

TGF β ekspresyonunda artış, tümör progresyonu ile ilişkili olup ekspresyon artışı daha çok agresif olan tümörlerde görülmektedir. TGF β sinyalini, hücre membran reseptörleri olan T β RI ve T β RII ile hücre içine aktarır (117). Shimura ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Gleason derece <3 ile Gleason derece \geq 4 olan tümörler, kanser hücreleri ve TAM'lar tarafından ekspresse edilen TGF β şiddetlerine göre karşılaştırıldıklarında yüksek Gleason dereceli kanser hücrelerinde daha yüksek seviyede TGF β ekspresyonu olduğu bulunmuştur. TAM'lardan ekspresse edilen TGF β seviyesinde Gleason dereceleri arasında fark bulunamamıştır. Ancak bu çalışmada yukarıda söz ettiğimiz gibi Gleason skor arttıkça TAM sayısında anlamlı artış olduğu göz önüne alınmalıdır (99). Literatürde yapılan diğer çalışmalarda da TGF β ekspresyonunda artışın ve yüksek Gleason skor ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (11,117). Ayrıca prostat karsinomunda T β RI ve T β RII kaybının yüksek gleason skor ile ilişkili olduğu saptanmıştır (73). Bizim çalışmamızda da TGF β ekspresyon şiddeti ile yüksek ve düşük Gleason skorları arasında pozitif anlamlı fark izlendiği bulunmuştur. Shariat ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TGF β ekspresyon artışı ve T β RI ile T β RII kaybı gösteren olgularda ekstrakapsüler yayılım görülmesinin daha fazla olduğu saptanmıştır (118). Bizde ise, TGF β ekspresyonu ekstraprostatik yayılım gösteren olgularda daha şiddetli görülür iken ekstraprostatik yayılımı olmayan olguların çoğunda TGF β ekspresyonu hafif derecede olduğu gözlenmekle beraber TGF β ekspresyonu ile ekstraprostatik yayılım arasında (p=0.097) istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamamıştır. İstatistiksel anlam bulamamamızın nedeninin olgu sayımızın az olmasına bağlamaktayız. Çünkü bu bulguya ek olarak bizim çalışmamızda TGF β ekspresyonunun şiddeti ile cerrahi sınır pozitifliği durumunun arasında anlamlı pozitif ilişki gösterilmiştir.

Çalışmamızda lenfovasküler invazyon görülen 31 olgunun %80.6'sı orta-şiddetli derecede TGFβ ekspresyonu göstermekte olup, lenfovasküler invazyon görülmeyen 69 olgunun %65'i orta-şiddetli derecede TGFβ ekspresyonu göstermektedir. Bu iki grup arasında χ^2 testinde istatistiksel olarak anlam çıkmamasına karşın ($p=0.079$) lenfovasküler invazyon gösteren olgularda daha yüksek TGFβ ekspresyon şiddeti izlendiğini söyleyebiliriz. Ayrıca bizim çalışmamızda TGFβ ekspresyonunun şiddetli olduğu olguların çoğunda perinöral invazyon olduğu gösterilmiştir ($p<0.05$). Bu sonuçlarla birlikte TGFβ'nın kanser ilerlemesine neden olduğunu söyleyebiliriz.

TGFβ sinyali, nükleusa SMAD bağımlı yol ile aktarılır (9,10,12,13). Miles ve arkadaşlarının prostat kanser hücrelerinde yaptıkları "Western blot" ve immunopresipitasyon çalışmasında kanser hücrelerini TGFβ tedavisinden 4 saat sonra nükleusa SMAD2 ve SMAD3 translokasyonunun arttığı gösterilmiştir (116). Bizim çalışmamızda TGFβ ekspresyonu ile SMAD2 ve SMAD7 ekspresyon şiddetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir. SMAD7 ekspresyonu şiddetli olan olgularda SMAD2 ekspresyonunun hafif olduğu görülmüş olup aralarında zıt anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır. TAM sayısı artışı ile artan TGFβ ekspresyonuna karşın SMAD2 ve SMAD7 ekspresyonunun TAM sayısından etkilenmedikleri görülmüştür.

Yapılan çalışmalarda serviks, kolon, akciğer ve karaciğer karsinomlarında SMAD2 kaybı ve mutasyonu gösterilmiştir (10). Yine yapılan prostat hücre kültürü çalışmasında SMAD2 gen ekspresyon kaybında hücrelerde malign transformasyon olduğu gösterilmiştir (74). Bizim çalışmamızda ise SMAD2 ekspresyon şiddetleri arttıkça olguların daha yüksek Gleason skorlu ve daha ileri klinik evrede oldukları görülmüştür. Ayrıca SMAD2 ekspresyonu şiddetlendikçe tümörün ekstrakapsüler yayılım yapma sıklığının arttığı dikkati çekmiştir. Ancak SMAD2 ekspresyon şiddeti ile cerrahi sınır durumu arasında bir ilişki bulunamamıştır.

SMAD7 aşırı ekspresyonunun TGFβ aracılı karsinogenezis, inflamasyon ve fibrozis etkilerini antagonize ettiği bilinmektedir. (119). İnsan kolon kanserli doku ve kansere komşu kolon dokusundan "Western-Blot" yöntemi ile yapılan bir çalışmada, SMAD7 proteinin kanserli dokuda, komşu normal dokuya oranla anlamlı artmış ekspresyonu olduğu gösterilmiştir (13). Ayrıca prostat hücre kültüründe ve prostat kanserli ratlar üzerinde yapılan çalışmalarda, prostat kanser hücrelerinde ektopik SMAD7 ekspresyon artışının apoptozisi indüklediği gösterilmiştir (76,77). Bizim çalışmamızda ise SMAD7 ekspresyon şiddetleri arttıkça olguların daha yüksek Gleason skorlu oldukları görülmüştür. Tümörlerin SMAD7 ekspresyon şiddeti azaldıkça daha ileri klinik evrede oldukları

izlenmiştir. Ayrıca SMAD7 ekspresyon şiddeti azaldıkça tümörün ekstrakapsüler yayılım yapma sıklığının arttığı saptanmış olup SMAD7 ekspresyon şiddeti ile cerrahi sınır durumu arasında bir ilişki bulunmamıştır. Bunların yanı sıra SMAD7 ekspresyonu düşük olan olgularda lenfovasküler invazyon, perinöral invazyonun daha fazla olduğu dikkati çekmiştir. Prostat hacmi fazla olan olgularda SMAD7 ekspresyonunun da şiddetli olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar ile SMAD7'nin tümör ilerlemesinde rol alan TGFβ'nin etkilerini durdurma yönünde yolakta rol aldığı gözlenmektedir. Bunun yanı sıra SMAD2'nin de TGFβ'nin etkilerini gerçekleştirmede etkin rol aldığı açıkça izlenmektedir. TAM'ların ise TGFβ seviyesini arttırdıkları göz önüne alınır ise prostat adenokarsinomunun ilerlemesinde TAM'ların etkin bir rol adıklarını söyleyebiliriz.

Hücre siklusundaki G1 fazında rol alan CDK9, SMAD2/3/4 kompleksini fosforile ederek SMAD bağımlı transkripsiyonu aktive eder (14). HEXİM1 proteini ise CDK9'a bağlanarak CDK9'un RNA polimeraz II enzimini aktive etmesine engel olur ve transkripsiyonun uzama fazını bloke eder. Hücre G1 fazından S fazına geçemez ve hücre siklusu G1 fazında durur (15, 16). Bu noktada TGFβ/SMAD sinyal yolağı ile HEXİM1 proteinin rolleri, CDK9 proteini üzerinde ve hücre siklusunun G1 fazında kesişmektedir. Kanser oluşumunda ve progresyonunda bu yolların ve proteinlerin etkisinin ne olduğuna dair çalışmalar yapılmaktadır.

Çalışmamızda tümör hücrelerinin TGFβ ekspresyonu ile HEXİM1 ekspresyonu şiddeti arasında pozitif korelasyon olduğu görülmüştür. Ayrıca SMAD2 ekspresyonu arttıkça, HEXİM1 ekspresyonunun arttığı görülmüş olup SMAD7 ekspresyonu azaldıkça HEXİM1 ekspresyonunun arttığı dikkati çekmiştir. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu saptanmıştır. Bunlara ek olarak, TAM sayısı yüksek olgularda TGFβ'nin yanı sıra HEXİM1 ekspresyonunun şiddetli olduğu görülmüştür.

Mascareno ve arkadaşlarının kanserli prostat fare hücreleri ile yaptıkları çalışmada, normal prostat hücrelerinde HEXİM1 ekspresyonu görülmemiş olup benign prostat hiperplazisi olan prostat hücrelerinde nükleer ekspresyon olduğu saptanmıştır. Prostat adenokarsinomlu hücrelerde ise nükleer ve sitoplazmik HEXİM1 ekspresyonu izlenmiştir. Kanser başlangıcında HEXİM1 proteinin hücre içinde dağılımının farklı olmasının karsinogenesisde anlamlı olabileceği üzerinde çalışılmıştır. HEXİM1 gen heterozigotitesi sonucu SMAD proteinleri, AR, TGFβ bağımlı transkripsiyon faktörleri gibi CDK9 bağımlı proteinlerde artma sonucu prostat kanser oluşumu ve kanser ilerlemesi olabileceği düşünülmüştür (120). Mascareno ve arkadaşlarının bu çalışmasında ayrıca HEXİM1

proteinin TGF β /SMAD3 aktivitesinde modölatör olduğu gösterilmiştir. Ayrıca HEXİM1 ekspresyonun kanserli hücrelerde ve kanser oluşum aşamasında arttığı saptanmıştır (120).

Mascareno ve arkadaşlarının prostat kanserli fare hücreleri ile yaptıkları çalışmadan farklı olarak çalışmamızda HEXİM1 ekspresyonu, sadece nükleer bölgede izlenmiştir. HEXİM1 ekspresyonu şiddetlendikçe tümörün Gleason skorunun, klinik ve patolojik T evresinin arttığı görülmüştür. Ayrıca HEXİM1 ekspresyonu şiddetlendikçe tümörde lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, ekstraprostatik yayılım, cerrahi sınır pozitifliği, veziküla seminalis invazyonu daha çok izlenmiştir. Bunlara ek olarak tümör hacmi fazla olan olgularda HEXİM1 ekspresyonunun daha şiddetli olduğu dikkati çekmiştir.

Bu çalışmada şiddetli HEXİM1, SMAD2, MMP-9 ekspresyon gösteren ve düşük SMAD7 ekspresyonu gösteren olgularda PSA rekürrensının daha fazla olduğu gösterilmiştir. Yapılan Cox regresyon analizinde biyokimyasal PSA rekürrensi ile hasta yaşı, tümörün ekstrakapsüler yayılımı, veziküla seminalis invazyonu yanı sıra HEXİM1 ekspresyonu, SMAD7 ekspresyonu, MMP9 ekspresyonu ilişkili olarak bulunmuştur.

SONUÇ

Yapılan hücre kültür çalışmaları ve bizim çalışmamız sonucunda TAM'ların prostat kanseri progresyonunda, özellikle TGF β /SMAD2/SMAD7 döngüsü ve HEXİM1 protein ekspresyonu üzerinde önemli rol aldığını düşünmekteyiz. Kısıtlı sayıda olgu olmasına rağmen, literatürde yapılan hücre kültürü çalışmaları ile paralel sonuçlar elde ettik. HEXİM1 protein ekspresyonunun, TGF β /SMAD2/SMAD7 proteinlerinin prostat adenokarsinomu prognozunu tahmin etmede kullandığımız parametreler ile olan ilişkisini göz önünde bulundurduğumuzda bu yolların prostat adenokarsinomu açısından çok önemli olduğunu gördük. HEXİM1 ekspresyonu şiddetlendikçe tümörün Gleason skorunun, patolojik T evresinin arttığı ve tümörde lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, ekstraprostatik yayılım, cerrahi sınır pozitifliği, veziküla seminalis invazyonu daha sık izlendi. SMAD7'nin TGF β 'nin etkilerini antagonize ederek, karsinom progresyonunu engellemektedir. Çalışmamızda da SMAD7 ekspresyon şiddeti fazla olan olgularda ekstrakapsüler yayılımın az olduğunu, tümörde lenfovasküler invazyon, perinöral invazyonun az olduğu izlendi. Yine TGF β /SMAD2 yolağının prostat adenokarsinomlarında tümör progresyonunu hızlandırdığı, tümör hücre invazyon, migrasyon ve metastaz yeteneğini kazandırdığı bilinmekle birlikte, çalışmamızda TGF β /SMAD2 ekspresyon şiddeti yüksek olan tümörlerde lenfovasküler invazyon, perinöral invazyon, ekstrakapsüler yayılımın fazla olduğu ve tümörün Gleason skorunun yüksek olduğu görüldü. Ayrıca TAM'ların prostat kanseri progresyonunda, özellikle TGF β /SMAD2/SMAD7 döngüsü ve HEXİM1 ekspresyonu üzerinde önemli rol aldığını gösterdik. Bu çalışma sonucunda bu yolda rol alan proteinlerin terapötik tedavi potansiyeli olabileceklerini düşünmekle beraber bu konuda daha fazla olgu üzerinde çalışma yapılması gerektiğini söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Urologic Surgical Pathology. David G.Bostwick, Liang Cheng. 2th Edition. Elsevier. Sayfa 382-579.
2. World Health Organization GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. Erişim: (http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx)
3. Cancer Facts & Figures 2013. Erişim: (<http://www.cancer.org/acs/groups/content/@epidemiologysurveillance/documents/document/acspc-036845.pdf>)
4. Hsing AW, Chokkalingam AP. Prostate cancer epidemiology. *Front Biosci.* 2006;11:1388-413.
5. Hsing AW, Tsao L, Devesa SS. International trends and patterns of prostate cancer incidence and mortality. *Int J Cancer.* 2000;85(1):60-7.
6. Josson S, Matsuoka Y, Chung LW, Zhou HE, Wang R. Tumor-stroma co-evolution in prostate cancer progression and metastasis. *Semin Cell Dev Biol.* 2010;21(1):26-32.
7. Assinder S, Cole N. Does TGF- β induced formation of actin stress fibres reinforce Smad dependent TGF- β signalling in the prostate? *Med Hypotheses.* 2011;76(6):802-4.
8. Horbelt D, Denkis A, Knaus P. A portrait of Transforming Growth Factor β superfamily signalling: Background matters. *Int J Biochem Cell Biol.* 2012;44(3):469-74.
9. Elliott RL, Blobel GC. Role of transforming growth factor Beta in human cancer. *J Clin Oncol.* 2005; 23(9):2078-93.
10. Brier B, Moses HL. Transforming growth factor beta (TGF-beta) and inflammation in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2010; 21(1):49-59.
11. Wikström P, Stattin P, Franck-Lissbrant I, Damber JE, Bergh A. Transforming growth factor beta1 is associated with angiogenesis, metastasis, and poor clinical outcome in prostate cancer. *Prostate.* 1998;37(1):19-29.
12. Brown KA, Pietenpol JA, Moses HL. A tale of two proteins: differential roles and regulation of Smad2 and Smad3 in TGF-beta signaling. *J Cell Biochem.* 2007, 101(1):9-33.
13. Stolfi C, Marafini I, De Simone V, Pallone F, Monteleone G. The dual role of Smad7 in the control of cancer growth and metastasis. *Int J Mol Sci.* 2013;14(12):23774-90.
14. Alarcón C, Zaromytidou AI, Xi Q, Gao S, Yu J, Fujisawa S, Barlas A, Miller AN, Manova-Todorova K, Macias MJ, Sapkota G, Pan D, Massagué J. Nuclear CDKs drive Smad transcriptional activation and turnover in BMP and TGF-beta pathways. *Cell.* 2009; 13;139(4):757-69.
15. Yik J.H, Chen R, Nishimura R, Jennings J.L, Link A.J, Zhou Q. Inhibition of P-TEFb (CDK9/Cyclin T) kinase and RNA polymerase II transcription by the coordinated actions of HEXIM1 and 7SK snRNA. *Mol. Cell* 2003, 12, 971–982.

16. He N, Pezda AC, Zhou Q. Modulation of a P-TEFb functional equilibrium for the global control of cell growth and differentiation. *Mol Cell Biol.* 2006;26(19):7068-76.
17. Sonography. Ragab Hani Donkol and Ahmad Al Nammi Chapter 3: Prostate. 2012. Page 45.
18. Review of Medical Embryology. Ben Pansky, Ph.D, MD. 1982.
19. Dahl J, Greenson KJ. *Histology for Pathologist* (Stacey EM, ed) Third edition. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, pg, 2009.
20. *Clinical Anatomy for Medical Students.* 4th Edition. Richard S.Snell,M.D., Ph.D. Page 351-354.
21. McNeal JE. The zonal anatomy of the prostate. *Prostate* 1981; 2(1):35-49.
22. *Histology A Text and Atlas.* Michael H. Ross and Wojciech Pawlina. 6th edition. 2010 Lippincott Williams & Wilkins 6th edition 2010
23. Aprikian AG, Cordon-Cardo C, Fair WR, Reuter VE. Characterization of neuroendocrine differentiation in human benign prostate and prostatic adenocarcinoma. *Cancer.* 1993; 15;71(12):3952-65.
24. Samaratunga H, Montironi R, True L, Epstein JI, Griffiths DF, Humphrey PA, van der Kwast T, Wheeler TM, Srigley JR, Delahunt B, Egevad L; ISUP Prostate Cancer Group. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 1: specimen handling. *Mod Pathol.* 2011;24(1):6-15.
25. *Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs* Lyon, France, 2004, sayfa 159-214.
26. Evans S, Metcalfe C, Ibrahim F, Persad R, Ben-Shlomo Y. Investigating Black-White differences in prostate cancer prognosis: A systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer.* 2008;123(2):430-5.
27. Culig Z, Santer FR. Androgen receptor signaling in prostate cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2014. [Epub ahead of print]
28. Adam B. Murphy, Folasade Akereyeni, Yaw A. Nyame, Mignonne C. Guy, Iman K. Martin, Courtney M. P. Hollowell, Kelly Walker, Rick A. Kittles, and Chiledum Ahaghotu. Smoking and Prostate Cancer in a Multi-Ethnic Sample. *The Prostate* 2013, 73:1518-1528.
29. Seipel AH, Wiklund F, Wiklund NP, Egevad L. Histopathological features of ductal adenocarcinoma of the prostate in 1,051 radical prostatectomy specimens. *Virchows Arch.* 2013;462(4):429-36.
30. Epstein JI. An update of the Gleason grading system. *J Urol.* 2010;183(2):433-40.
31. Hudson J, Cao D, Vollmer R, Kibel AS, Grewal S, Humphrey PA Foamy gland adenocarcinoma of the prostate: incidence, Gleason grade, and early clinical outcome. *Hum Pathol.* 2012;43(7):974-9.
32. Hansel DE, Epstein JI. Sarcomatoid carcinoma of the prostate: a study of 42 cases. *Am J Surg Pathol.* 2006;30(10):1316-21.
33. Fine SW. Variants and unusual patterns of prostate cancer: clinicopathologic and differential diagnostic considerations. *Adv Anat Pathol.* 2012;19(4):204-16.

34. Baydar D.E., Epstein J. Gleason Grading System, Modifications and Additions to the Original Scheme Turk Patoloji Derg, 2009; 25(3) 59–70.
35. Prostate. In: Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al., eds.: AJCC Cancer Staging Manual. 7th ed. New York, NY: Springer, 2010, pp 457-68.
36. Jewett HJ. The present status of radical prostatectomy for stages A and B prostatic cancer. Urol Clin North Am. 1975;2(1):105-24.
37. Zelefsky MJ, Eastham JA, Sartor AO: Cancer of the prostate. In: DeVita VT Jr, Lawrence TS, Rosenberg SA: Cancer: Principles and Practice of Oncology. 9th ed. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins, 2011, pp 1220-71.
38. Cheng L, Montironi R, Bostwick DG, Lopez-Beltran A, Berney DM. Staging of prostate cancer. Histopathology. 2012;60(1):87-117.
39. Crook J, Ots AF. Prognostic factors for newly diagnosed prostate cancer and their role in treatment selection. Semin Radiat Oncol. 2013;23(3):165-72.
40. Heidenreich A, Bastian PJ, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, van der Kwast T, Mason M, Matveev V, Wiegel T, Zattoni F, Mottet N. EAU guidelines on prostate cancer. part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent-update 2013. Eur Urol. 2014;65(1):124-37.
41. Heidenreich A, Bastian PJ, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, van der Kwast T, Mason M, Matveev V, Wiegel T, Zattoni F, Mottet N. EAU guidelines on prostate cancer. Part II: Treatment of advanced, relapsing, and castration-resistant prostate cancer. Eur Urol. 2014;65(2):467-79.
42. Buhmeida A, Pyrhönen S, Laato M, Collan Y. Prognostic factors in prostate cancer. Diagn Pathol. 2006;1:4.
43. Obek C, Lai S, Sadek S, Civantos F, Soloway MS. Age as a prognostic factor for disease recurrence after radical prostatectomy. Urology. 1999;54(3):533-8.
44. Van der Kwast TH, Amin MB, Billis A, Epstein JI, Griffiths D, Humphrey PA, Montironi R, Wheeler TM, Srigley JR, Egevad L, Delahunt B; ISUP Prostate Cancer Group. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 2: T2 substaging and prostate cancer volume. Mod Pathol. 2011;24(1):16-25.
45. Chun FK, Briganti A, Jeldres C, Gallina A, Erbersdobler A, Schlomm T, Walz J, Eichelberg C, Salomon G, Haese A, Currlin E, Ahyai SA, Bénard F, Huland H, Graefen M, Karakiewicz PI. Tumour volume and high grade tumour volume are the best predictors of pathologic stage and biochemical recurrence after radical prostatectomy Eur J Cancer. 2007;43(3):536-43.
46. Bostwick DG, Graham SD Jr, Napalkov P, Abrahamsson PA, di Sant'agnese PA, Algaba F, Hoisaeter PA, Lee F, Littrup P, Mostofi FK, et al. Staging of early prostate cancer: a proposed tumor volume-based prognostic index. Urology. 1993;41(5):403-11.
47. McNeal JE, Bostwick DG, Kindrachuk RA, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA. Patterns of progression in prostate cancer. Lancet. 1986;1(8472):60-3.
48. McNeal JE. Cancer volume and site of origin of adenocarcinoma in the prostate: relationship to local and distant spread. Hum Pathol. 1992;23(3):258-66.

49. Kryvenko ON, Gupta NS, Virani N, Schultz D, Gomez J, Amin A, Lane Z, Epstein JI. Gleason score 7 adenocarcinoma of the prostate with lymph node metastases: analysis of 184 radical prostatectomy specimens. *Arch Pathol Lab Med.* 2013;137(5):610-7.
50. Shannon BA, McNeal JE, Cohen RJ. Transition zone carcinoma of the prostate gland: a common indolent tumour type that occasionally manifests aggressive behaviour. *Pathology.* 2003;35(6):467-71.
51. Pierorazio PM, Ross AE, Lin BM, Epstein JI, Han M, Walsh PC, Partin AW, Pavlovich CP, Schaeffer EM. Preoperative characteristics of high-Gleason disease predictive of favourable pathological and clinical outcomes at radical prostatectomy. *BJU Int.* 2012;110(8):1122-8.
52. Magi-Galluzzi C, Evans AJ, Delahunt B, Epstein JI, Griffiths DF, van der Kwast TH, Montironi R, Wheeler TM, Srigley JR, Egevad LL, Humphrey PA; ISUP Prostate Cancer Group. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 3: extraprostatic extension, lymphovascular invasion and locally advanced disease. *Mod Pathol.* 2011;24(1):26-38.
53. Tan PH, Cheng L, Srigley JR, Griffiths D, Humphrey PA, van der Kwast TH, Montironi R, Wheeler TM, Delahunt B, Egevad L, Epstein JI; ISUP Prostate Cancer Group. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 5: surgical margins. *Mod Pathol.* 2011;24(1):48-57.
54. Berney DM, Wheeler TM, Grignon DJ, Epstein JI, Griffiths DF, Humphrey PA, van der Kwast T, Montironi R, Delahunt B, Egevad L, Srigley JR; ISUP Prostate Cancer Group. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 4: seminal vesicles and lymph nodes. *Mod Pathol.* 2011;24(1):39-47.
55. Kristiansen A, Wiklund F, Wiklund P, Egevad L. Prognostic significance of patterns of seminal vesicle invasion in prostate cancer. *Histopathology.* 2013;62(7):1049-56.
56. Kryvenko ON, Epstein JI. Histologic criteria and pitfalls in the diagnosis of lymphovascular invasion in radical prostatectomy specimens. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(12):1865-73.
57. Yee DS, Shariat SF, Lowrance WT, Maschino AC, Savage CJ, Cronin AM, Scardino PT, Eastham JA. Prognostic significance of lymphovascular invasion in radical prostatectomy specimens. *BJU Int.* 2011;108(4):502-7.
58. Yik JH, Chen R, Pezda AC, Zhou Q. Compensatory contributions of HEXIM1 and HEXIM2 in maintaining the balance of active and inactive positive transcription elongation factor b complexes for control of transcription. *J Biol Chem.* 2005;280(16):16368-76.
59. Li Q, Price JP, Byers SA, Cheng D, Peng J, Price DH. Analysis of the large inactive P-TEFb complex indicates that it contains one 7SK molecule, a dimer of HEXIM1 or HEXIM2, and two P-TEFb molecules containing Cdk9 phosphorylated at threonine 186. *J Biol Chem.* 2005;280(31):28819-26.
60. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. *Robins and Cotran Pathologic Basis of Disease.* Eight edition. Philadelphia, Elsevier Saunders, 2010.

61. Mantovani A, Sica A. Macrophages, innate immunity and cancer: balance, tolerance, and diversity. *Curr Opin Immunol*. 2010;22(2):231-7.
62. Jin-Yuan Shih, Ang Yuan, Jeremy J.-W. Chen, and Pan-Chyr Yang. Tumor-Associated Macrophage: Its Role in Cancer Invasion and Metastasis. *J. Cancer Mol*. 2006; 2(3): 101-106.
63. Solinas G, Germano G, Mantovani A, Allavena P. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. *J Leukoc Biol*. 2009;86(5):1065-73.
64. Zhang QW, Liu L, Gong CY, Shi HS, Zeng YH, Wang XZ, Zhao YW, Wei YQ. Prognostic significance of tumor-associated macrophages in solid tumor: a meta-analysis of the literature. *PLoS One*. 2012;7(12):e50946.
65. Rehg JE, Bush D, Ward JM. The utility of immunohistochemistry for the identification of hematopoietic and lymphoid cells in normal tissues and interpretation of proliferative and inflammatory lesions of mice and rats. *Toxicol Pathol*. 2012;40(2):345-74.
66. Lew QJ, Chu KL, Chia YL, Cheong N, Chao SH. HEXIM1, a New Player in the p53 Pathway. *Cancers (Basel)*. 2013;5(3):838-56.
67. Montano MM, Desjardins CL, Doughman YQ, Hsieh YH, Hu Y, Bensinger HM, Wang C, Stelzer JE, Dick TE, Hoit BD, Chandler MP, Yu X, Watanabe M. Inducible re-expression of HEXIM1 causes physiological cardiac hypertrophy in the adult mouse. *Cardiovasc Res*. 2013;99(1):74-82.
68. Wittmann BM, Wang N, Montano MM. Identification of a novel inhibitor of breast cell growth that is down-regulated by estrogens and decreased in breast tumors. *Cancer Res*. 2003;63(16):5151-8.
69. Stone B, Schummer M, Paley PJ, Thompson L, Stewart J, Ford M, Crawford M, Urban N, O'Briant K, Nelson BH. Serologic analysis of ovarian tumor antigens reveals a bias toward antigens encoded on 17q. *Int J Cancer*. 2003;104(1):73-84.
70. Chen R, Yik JH, Lew QJ, Chao SH. Brd4 and HEXIM1: multiple roles in P-TEFb regulation and cancer. *Biomed Res Int*. 2014;2014:232870.
71. Barrandon C, Bonnet F, Nguyen VT, Labas V, Bensaude O. The transcription-dependent dissociation of P-TEFb-HEXIM1-7SK RNA relies upon formation of hnRNP-7SK RNA complexes. *Mol Cell Biol*. 2007;27(20):6996-7006.
72. Egloff S, Van Herreweghe E, Kiss T. Regulation of polymerase II transcription by 7SK snRNA: two distinct RNA elements direct P-TEFb and HEXIM1 binding. *Mol Cell Biol*. 2006;26(2):630-42.
73. Kim IY, Ahn HJ, Zelner DJ, Shaw JW, Lang S, Kato M, Oefelein MG, Miyazono K, Nemeth JA, Kozlowski JM, Lee C. Loss of expression of transforming growth factor beta type I and type II receptors correlates with tumor grade in human prostate cancer tissues. *Clin Cancer Res*. 1996;2(8):1255-61.
74. Yang J, Wahdan-Alaswad R, Danielpour D. Critical role of Smad2 in tumor suppression and transforming growth factor-beta-induced apoptosis of prostate epithelial cells. *Cancer Res*. 2009;69(6):2185-90.
75. Stolfi C, De Simone V, Colantoni A, Franzè E, Ribichini E, Fantini MC, Caruso R, Monteleone I, Sica GS, Sileri P, MacDonald TT, Pallone F, Monteleone G. A

functional role for Smad7 in sustaining colon cancer cell growth and survival. *Cell Death Dis.* 2014; 20;5:e1073.

76. Landström M, Heldin NE, Bu S, Hermansson A, Itoh S, ten Dijke P, Heldin CH. Smad7 mediates apoptosis induced by transforming growth factor beta in prostatic carcinoma cells. *Curr Biol.* 2000 May 4;10(9):535-8.
77. Brodin G, ten Dijke P, Funa K, Heldin CH, Landström M. Increased smad expression and activation are associated with apoptosis in normal and malignant prostate after castration. *Cancer Res.* 1999 Jun 1;59(11):2731-8.
78. Nemeth JA, Yousif R, Herzog M, Che M, Upadhyay J, Shekarriz B, Bhagat S, Mullins C, Fridman R, Cher ML. Matrix metalloproteinase activity, bone matrix turnover, and tumor cell proliferation in prostate cancer bone metastasis. *J Natl Cancer Inst.* 2002 Jan 2;94(1):17-25.
79. Dong Z, Bonfil RD, Chinni S, Deng X, Trindade Filho JC, Bernardo M, Vaishampayan U, Che M, Sloane BF, Sheng S, Fridman R, Cher ML. Matrix metalloproteinase activity and osteoclasts in experimental prostate cancer bone metastasis tissue. *Am J Pathol.* 2005 Apr;166(4):1173-86.
80. Wilson MJ, Sellers RG, Wiehr C, Melamud O, Pei D, Peehl DM. Expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 and their inhibitors, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2, in primary cultures of human prostatic stromal and epithelial cells. *J Cell Physiol.* 2002;191(2):208-16
81. Rusthoven CG, Carlson JA, Waxweiler TV, Yeh N, Raben D, Flaig TW, Kavanagh BD. The prognostic significance of Gleason scores in metastatic prostate cancer. *Urol Oncol.* 2014 [Epub ahead of print]
82. Dong F, Wang C, Farris AB, Wu S, Lee H, Olumi AF, McDougal WS, Young RH, Wu CL. Impact on the clinical outcome of prostate cancer by the 2005 international society of urological pathology modified Gleason grading system. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(6):838-43.
83. Guimaraes MS, Quintal MM, Meirelles LR, Magna LA, Ferreira U, Billis A. Gleason score as predictor of clinicopathologic findings and biochemical (PSA) progression following radical prostatectomy. *Int Braz J Urol.* 2008;34(1):23-9.
84. Ferrari MK, McNeal JE, Malhotra SM, Brooks JD. Vascular invasion predicts recurrence after radical prostatectomy: stratification of risk based on pathologic variables. *Urology.* 2004;64(4):749-53.
85. Bianco FJ Jr, Wood DP Jr, Cher ML, Powell IJ, Souza JW, Pontes JE. Ten-year survival after radical prostatectomy: specimen Gleason score is the predictor in organ-confined prostate cancer. *Clin Prostate Cancer.* 2003;1(4):242-7.
86. Han M, Partin AW, Zahurak M, Piantadosi S, Epstein JI, Walsh PC. Biochemical (prostate specific antigen) recurrence probability following radical prostatectomy for clinically localized prostate cancer. *J Urol.* 2003;169(2):517-23.
87. Savdie R, Horvath LG, Benito RP, Rasiyah KK, Haynes AM, Chatfield M, Stricker PD, Turner JJ, Delprado W, Henshall SM, Sutherland RL, Kench JG. High Gleason grade carcinoma at a positive surgical margin predicts biochemical failure after radical prostatectomy and may guide adjuvant radiotherapy. *BJU Int.* 2012;109(12):1794-800.

88. Salomon L, Anastasiadis AG, Johnson CW, McKiernan JM, Goluboff ET, Abbou CC, Olsson CA, Benson MC Seminal vesicle involvement after radical prostatectomy: predicting risk factors for progression. *Urology*. 2003;62(2):304-9.
89. Yadav R, Tu JJ, Jhaveri J, Leung RA, Rao S, Tewari AK. Prostate volume and the incidence of extraprostatic extension: is there a relation? *J Endourol*. 2009;23(3):383-6.
90. Harnden P, Shelley MD, Clements H, Coles B, Tyndale-Biscoe RS, Naylor B, Mason MD. The prognostic significance of perineural invasion in prostatic cancer biopsies: a systematic review. *Cancer*. 2007;109(1):13-24.
91. Cozzi G, Rocco BM, Grasso A, Rosso M, Abed El Rahman D, Oliva I, Talso M, Costa B, Tafa A, Palumbo C, Gadda F, Rocco F. Perineural invasion as a predictor of extraprostatic extension of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Scand J Urol*. 2013;47(6):443-8.
92. DeLancey JO, Wood DP Jr, He C, Montgomery JS, Weizer AZ, Miller DC, Jacobs BL, Montie JE, Hollenbeck BK, Skolarus TA. Evidence of perineural invasion on prostate biopsy specimen and survival after radical prostatectomy. *Urology*. 2013;81(2):354-7.
93. Jeon HG, Bae J, Yi JS, Hwang IS, Lee SE, Lee E. Perineural invasion is a prognostic factor for biochemical failure after radical prostatectomy. *Int J Urol*. 2009;16(8):682-6.
94. Bhatta-Dhar N, Reuther AM, Zippe C, Klein EA. No difference in six-year biochemical failure rates with or without pelvic lymph node dissection during radical prostatectomy in low-risk patients with localized prostate cancer. *Urology*. 2004;63(3):528-31.
95. Wagenlehner FM, Elkahwaji JE, Algaba F, Bjerklund-Johansen T, Naber KG, Hartung R, Weidner W. The role of inflammation and infection in the pathogenesis of prostate carcinoma. *BJU Int*. 2007;100(4):733-7.
96. Sfanos KS, De Marzo AM. Prostate cancer and inflammation: the evidence. *Histopathology*. 2012;60(1):199-215.
97. Chung LW, Huang WC, Sung SY, Wu D, Odero-Marah V, Nomura T, Shigemura K, Miyagi T, Seo S, Shi C, Moliterno J, Elmore J, Anderson C, Isotani S, Edlund M, Hsieh CL, Wang R, Shehata B, Zhau HE. Stromal-epithelial interaction in prostate cancer progression. *Clin Genitourin Cancer*. 2006;5(2):162-70.
98. Gollapudi K, Galet C, Grogan T, Zhang H, Said JW, Huang J, Elashoff D, Freedland SJ, Rettig M, Aronson WJ. Association between tumor-associated macrophage infiltration, high grade prostate cancer, and biochemical recurrence after radical prostatectomy. *Am J Cancer Res*. 2013 Nov 1;3(5):523-9.
99. Shimura S, Yang G, Ebara S, Wheeler TM, Frolov A, Thompson TC. Reduced infiltration of tumor-associated macrophages in human prostate cancer: association with cancer progression. *Cancer Res*. 2000; 15;60(20):5857-61.
100. Forssell J, Oberg A, Henriksson ML, Stenling R, Jung A, Palmqvist R. High macrophage infiltration along the tumor front correlates with improved survival in colon cancer. *Clin Cancer Res*. 2007;13(5):1472-9.

101. Zhou Q, Peng RQ, Wu XJ, Xia Q, Hou JH, Ding Y, Zhou QM, Zhang X, Pang ZZ, Wan DS, Zeng YX, Zhang XS. The density of macrophages in the invasive front is inversely correlated to liver metastasis in colon cancer. *J Transl Med.* 2010;8:13.
102. Wan T, Liu JH, Zheng LM, Cai MY, Ding T. Prognostic significance of tumor-associated macrophage infiltration in advanced epithelial ovarian carcinoma. *Chinese Journal of Cancer* 2009;28(3):323-7.
103. Liu J, Li Z, Cui J, Xu G, Cui G. Cellular changes in the tumor microenvironment of human esophageal squamous cell carcinomas. *Tumour Biol.* 2012 Apr;33(2):495-505.
104. Hanada T, Nakagawa M, Emoto A, Nomura T, Nasu N, Nomura Y. Prognostic value of tumor-associated macrophage count in human bladder cancer. *Int J Urol.* 2000;7(7):263-9.
105. Torisu H, Ono M, Kiryu H, Furue M, Ohmoto Y, Nakayama J, Nishioka Y, Sone S, Kuwano M. Macrophage infiltration correlates with tumor stage and angiogenesis in human malignant melanoma: possible involvement of TNFalpha and IL-1alpha. *Int J Cancer.* 2000;85(2):182-8.
106. Lissbrant IF, Stattin P, Wikstrom P, Damber JE, Egevad L, Bergh A. Tumor associated macrophages in human prostate cancer: relation to clinicopathological variables and survival. *Int J Oncol.* 2000 Sep;17(3):445-51.
107. Nonomura N, Takayama H, Nakayama M, Nakai Y, Kawashima A, Mukai M, Nagahara A, Aozasa K, Tsujimura A. Infiltration of tumour-associated macrophages in prostate biopsy specimens is predictive of disease progression after hormonal therapy for prostate cancer. *BJU Int.* 2011;107(12):1918-22.
108. Gannon PO, Poisson AO, Delvoe N, Lapointe R, Mes-Masson AM, Saad F. Characterization of the intra-prostatic immune cell infiltration in androgen-deprived prostate cancer patients. *J Immunol Methods.* 2009;348(1-2):9-17.
109. Roy R, Yang J, Moses MA. Matrix metalloproteinases as novel biomarkers and potential therapeutic targets in human cancer. *J Clin Oncol.* 2009;27(31):5287-97.
110. Cardillo MR, Di Silverio F, Gentile V. Quantitative immunohistochemical and in situ hybridization analysis of metalloproteinases in prostate cancer. *Anticancer Res.* 2006;26(2A):973-82.
111. Trudel D, Fradet Y, Meyer F, Têtu B. Matrix metalloproteinase 9 is associated with Gleason score in prostate cancer but not with prognosis. *Hum Pathol.* 2010;41(12):1694-701.
112. Brehmer B, Biesterfeld S, Jakse G. Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2 and -9) and their inhibitors (TIMP-1 and -2) in prostate cancer tissue. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2003;6(3):217-22.
113. Miyake H, Muramaki M, Kurahashi T, Takenaka A, Fujisawa M. Expression of potential molecular markers in prostate cancer: correlation with clinicopathological outcomes in patients undergoing radical prostatectomy. *Urol Oncol.* 2010;28(2):145-51.
114. Behnsawy HM, Miyake H, Harada K, Fujisawa M. Expression patterns of epithelial-mesenchymal transition markers in localized prostate cancer: significance in clinicopathological outcomes following radical prostatectomy. *BJU Int.* 2013;111(1):30-7.

115. Ozden F, Saygin C, Uzunaslan D, Onal B, Durak H, Aki H. Expression of MMP-1, MMP-9 and TIMP-2 in prostate carcinoma and their influence on prognosis and survival. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2013 Aug;139(8):1373-82.
116. Miles FL, Tung NS, Aguiar AA, Kurtoglu S, Sikes RA. Increased TGF- β 1-mediated suppression of growth and motility in castrate-resistant prostate cancer cells is consistent with Smad2/3 signaling. *Prostate*. 2012;72(12):1339-50.
117. Reis ST, Pontes-Júnior J, Antunes AA, Sousa-Canavez JM, Abe DK, Cruz JA, Dall'oglio MF, Crippa A, Passerotti CC, Ribeiro-Filho LA, Viana NI, Srougi M, Leite KR. Tgf- β 1 expression as a biomarker of poor prognosis in prostate cancer. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66(7):1143-7.
118. Shariat SF, Menesses-Diaz A, Kim IY, Muramoto M, Wheeler TM, Slawin KM. Tissue expression of transforming growth factor-beta1 and its receptors: correlation with pathologic features and biochemical progression in patients undergoing radical prostatectomy. *Urology*. 2004;63(6):1191-7.
119. Yan X, Liu Z, Chen Y. Regulation of TGF-beta signaling by Smad7. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2009;41(4):263-72.
120. Mascareno EJ, Belashov I, Siddiqui MA, Liu F, Dhar-Mascareno M: Hexim-1 modulates androgen receptor and the TGF- β signaling during the progression of prostate cancer. *The Prostate* 2012;72(9):1035-44.