T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI

PROSTAT KANSERİNDE TEDAVİNİN FARKLI YOLAK GENLERİNİN EKSPRESYONU ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Ayad Issa S. ABUD

DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Bayram KIRAN

ŞUBAT - 2021
KASTAMONU

TEZ ONAYI

Ayad Issa S. ABUD tarafından hazırlanan "**Prostat Kanserinde Tedavinin Farklı Yolak Genlerinin Ekspresyonu Üzerindeki Etkisi**" adlı tez çalışmasının savunma sınavı **01.01.2021** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Prof. Dr. Bayram KIRAN Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Ünvan Ad SOYAD XXX Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Ünvan Ad SOYAD XXX Üniversitesi (yoksa bu alanı siliniz)	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Enstitü Müdürü Prof. Dr. İzzet ŞENER .....

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

Ayad Issa S. ABUD

ÖZET

DOKTORA TEZİ

PROSTAT KANSERİNDE TEDAVİNİN FARKLI YOLAK GENLERİNİN EKSPRESYONU ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

AYAD ISSA S. ABUD

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN: PROF. DR. BAYRAM KIRAN

Prostat kanseri (PCa) dünyada en sık teşhis edilen kanserlerden biridir. Prostat dokusunda tümör baskılayıcı olarak fosfataz ve tensin homolog (PTEN) geni ve düzenleyici olarak Androjen reseptör (AR) geni olmak üzere iki ana düzenleyici gen rol oynar. Bu genler, normal prostat dokusundaki ekspresyonları ile karşılaştırıldığında çoklu hücresel olayları düzenler. Bu çalışma, prostat kanseri dokularında PTEN ve AR genlerinin kombinasyon halinde ve tek tek ekspresyonlarını değerlendirmektedir. Tripoli Üniversitesi, Tripoli Tıp Merkezi Patoloji Laboratuvarı Bölüm arşivlerinden alınan, 2009 ve 2017 yılları arasına ait, 3 grupta (10 normal kontrol, 30 benign tümör ve prostat kanserli 30 tümör örneği) toplanacak şekilde, formalinle fikse edilmiş ve parafine gömülü toplam 70 doku, 60 numune (30 benign ve 30 tümörlü numune) kantitatif Gerçek Zamanlı PCR analizi ile değerlendirildi. Düşük PTEN ve yüksek AR oranı benign dokularda sırasıyla %56.7 ve %30 ve kanser dokularında sırasıyla %63.3 ve %36.67 olarak saptandı. Bu sonuç düşük PTEN ve yüksek AR ekspresyonu ile anlamlı şekilde ilişkili olarak, benign dokularda %16.7 ve kanser dokularında ise %13.3 değerlerinde tespit edildi. Prostat kanseri, erkeklerde 60 ila 74 yaş arasında artmaktadır. Vakaların %60'ında düşük PTEN ekspresyonunun %43.3 olduğu görüldü. Düşük PTEN ekspresyonunun %46.7 olduğu hastaların %80'inde yapılan GS 7 ila GS 10 histopatolojik inceleme, PTEN kaybı olan hastaların patolojik evrelerinin veya Gleason skorlarının ve yaşlarının daha ileri olduğunu ve PTEN gen ekspresyonun azalması ve hem BPH hem de PCa örneklerinde androjen reseptörü ekspresyonun artması arasında anlamlı bir korelasyon olduğunu gösterdi. Bildiğimiz kadarıyla, bu Libya'daki PCa patoloji örneklerinde PTEN ve AR ekspresyonu üzerine yapılan ilk çalışmadır ve prostat kanseri genetiğinde daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

ANAHTAR KELİMELER: PTEN, Gleason skorları, prostat kanseri, androjen reseptörü BPH, Gerçek Zamanlı PCR, FFPE

Şubat 2021, 83 Sayfa

ABSTRACT

PH.D THESIS

EFFECT OF TREATMENT ON EXPRESSIONS OF DIFFERENT PATHWAYS GENES IN PROSTATE CANCER

AYAD ISSA S. ABUD

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF GENETICS AND BIOENGINEERING

SUPERVISOR: PROF. DR. BAYRAM KIRAN

Prostate cancer (PCa) is one of the most commonly diagnosed cancers in the world. There are two main regulators genes; phosphatase and tensin homolog (PTEN) gene as tumor suppressor in prostate tissue, and Androgen receptor (AR) gene as regulate multiple cellular events compared with their expressions in normal prostate tissue. The present study evaluates the combination and individual expression of PTEN gene and AR gene expression in prostate cancers tissues. A total of 70 Formalin-fixed paraffin-embedded tissues in 3 groups (10 normal control, 30 benign and 30 tumor samples with prostate cancer) from the archives of Pathology Laboratory Department in Tripoli Medical Centre in Tripoli University during the period between 2009 and 2017. The Quantitative Real Time PCR analysis was conducted in 60 samples (30 benign and 30 tumor samples). The rate of low of PTEN and high AR in benign tissues were 56.7%and 30%, respectively, and in Cancer tissues the rate was 63.3%and 36.67%respectively. Significantly correlated low PTEN expression and high AR expression were identified in 16.7%of benign and 13.3%in cancer tissues. The prostate cancer increases in men from 60 years to 74 years. There were 60%of cases, where low PTEN expression is 43.3%. In the histopathological examination GS 7 to GS 10 in 80%of patients where low PTEN expression is 46.7%. This study indicated that patients with PTEN loss were associated with higher pathological stage or Gleason score and age, a significant correlation between the decrease of PTEN gene expression and increase Androgen receptor expression in both BPH and PCa samples. To our knowledge, this is the first study on the expression of PTEN and AR in PCa pathology samples in Libya and further studies are needed in genetics of prostate cancer.

KEYWORDS: PTEN, Gleason Scores ,Prostate Cancer ,Androgen Receptor BPH , Real Time PCR, FFPE

Şubat 2021, 83 Page

TEŞEKKÜR

Öncelikle doktora çalışmalarım kapsamında yapılan araştırmalar ve çalışmanın yazıya dönüştürülmesi süresince yapmış olduğu rehberlik, sergilemiş olduğu sabır ve sağlamış olduğu motivasyon için danışmanım Prof. Dr. Bayram KIRAN'a en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Danışmanımın yanı sıra, tez komitemizde yer alan tüm hocalarıma, vermiş oldukları yüreklendirici destekler ve çalışmanın seyrine katkı sağlayan yorum ve soruları için teşekkürlerimi sunarım.

Etik Kurul onayının alınması ve çalışmada kullanılan doku örneklerine ulaşılmasında verdiği destekler için Tripoli Üniversitesi Patoloji Laboratuvarı Başkanı Dr. Taha BENYASAAD'a içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Ayrıca bana laboratuvar kitlerini sağlayan ve qPCR ile çalışmama öncülük eden MOLGEN BİYOTEKNOLOJİ LABORATUVARI'na şükranlarımı sunarım.

Ayrıca arkadaşım Dr. Faruk ÇELİK'e çalışma konusu üzerine yapılan tartışmalarda verdiği aydınlatıcı bilgiler için teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, desteklerini hayatımın her aşamasında hissettiğim aileme, eşime ve çocuklarıma teşekkürlerimi sunarım.

Ayad Issa S. ABUD

Kastamonu, 2021

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI ..... **ii**
TAAHHÜTNAME ..... **iii**
ÖZET ..... **iv**
ABSTRACT ..... **v**
TEŞEKKÜR ..... **vi**
İÇİNDEKİLER ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **x**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **xi**
1. GİRİŞ **1**
1.1 Prostat Bezi 1
1.1.1 Anatomi 1
1.1.2 Prostat Bezinin İşlevi 3
1.1.3 İyi Huylu Prostat Hiperplazisi (BPH) 4
1.2 Prostat Kanseri 7
1.2.1 Prostat kanseri Risk Faktörleri 9
1.2.2 Prostat Spesifik Antijen 12
1.2.3 Gleason Derecelendirme Sistemi 14
1.3 PCa sırasında Genler ve Yolaklar 16
1.3.1 PTEN Geni 16
1.3.1.1 PTEN protein yapısı ve post-translasyonel modifikasyon sahaları 16
1.3.1.2 Tümör baskılayıcı bir gen olarak pten 18
1.3.1.3 PTEN fonksiyonları 19
1.3.1.4 PTEN Kaybı 20
1.3.2 Androjen Reseptörü (AR) 23
1.3.2.1 AR yapısı 23
1.3.2.2 Androjen reseptörünün fonksiyonları 25
1.3.2.3 Androjen reseptör geni sinyalizasyonu 26
1.3.2.4 Androjen regülasyonu, apoptoz ve prostat kanseri 28
1.3.3 PI3K / PTEN / Akt Yolağı 30
1.4 Çalışmanın Amacı 38
2. LİTERATÜR İNCELEMESİ **39**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **44**
3.1 Formalinle fikse edilmiş parafine gömülü doku (FFPET) örnekleri çalışması 44
3.2 Araştırma Popülasyonu 44
3.3 Malzemeler 45
3.4 İşlem Basamakları 45
3.4.1 Doku örnekleri hazırlamak ve ekstraksiyonu 45
3.4.1.2 cDNA sentezi ve cDNA reaksiyonu 49
3.4.1.3 Gerçek zamanlı PCR protokolü 50
3.4.1.4 Analiz yöntemleri 52
3.4.1.5 Karşılaştırmalı C T CT yöntemleri 53
3.4.1.6 Standart eğri yöntemleri 54

3.4.1.7 qPCR Kalite değerlendirmesi 55
4. BULGULAR 57
5. TARTIŞMA 68
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 72
KAYNAKLAR 73
ÖZGEÇMİŞ 83

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1 Prostat Bezi 1
Şekil 1.2 Bölgesel Sınıflandırma 3
Şekil 1.3 İnsan ve fare prostat kanserinin histopatolojisi 7
Şekil 1.4 Prostat Kanserinin Evreleri 8
Şekil 1.5 Prostat Kanseri Risk Faktörleri 10
Şekil 1.6 Gleason Ölçeği 15
Şekil 1.7 PTEN Fonksiyonel alanı 17
Şekil 1.8 Sitoplazmik ve nükleer PTEN fonksiyonları 19
Şekil 1.9 Hücre Ölümü ve Proliferasyonunun Kontrolünde PTEN'in Rolü 20
Şekil 1.10 PTEN kaybı (Ramon Parsons, Laura Simpson, Tumor Suppressor Gen 22
Şekil 1.11 Androjen reseptör geninin şematik temsili 23
Şekil 1.12 Prostat kanserinde ana androjen reseptörü sinyal yolaklarının özeti ... 27
Şekil 1.13 Androgen Regülasyonu, Apoptoz ve Prostat Kanseri 29
Şekil 1.14 PI3K/PTEN/Akt yolağı 30
Şekil 1.15 PI3K/Akt/mTOR yolağının şematik temsili 33
Şekil 1.16 PTEN, AR ve PI3K/Akt/mTOR yolağı 35
Şekil 3.1 Doku örnekleri hazırlamak 46
Şekil 3.2 dakika boyunca 12.000 g'de ve 4°C'de santrifüjlenmesi 46
Şekil 3.3 15 saniye kuvvetlice vortekslenmesi 47
Şekil 3.4 Sulu Fazdan RNA'nın Çökeltilmesi 48
Şekil 3.5 Biorad CFX Connect cihazı 51
Şekil 3.6 Real time PCR sonucunda melting curve analizi 52
Şekil 3.7 erime eğrisi analizi 55
Şekil 3.8 PCR reaksiyonu ilerliyor 56
Şekil 4.1 Sonuçları gösteren resim Excel tablosu 57
Şekil 4.2 İyi huylu koşullarda PTEN ve AR gen ekspresyonu 59
Şekil 4.3 PTEN ve AR gen ekspresyonu için kanser vakaları 61
Şekil 4.4 Azaltılmış GEN ifadesi PTEN ve artan AR ekspresyonunun bir karşılaştırması. 62
Şekil 4.5 BPH ve kanser vakalarında PTEN gen ekspresyonunun karşılaştırılması 62
Şekil 4.6 bph ve kanser arasında pten ifadesinin karşılaştırılması 63
Şekil 4.7 Gen ifadesi ile Gliason skorları arasındaki ilişki tablosu 64
Şekil 4.8 60 ila 75 yaş arasındaki BPH vakalarının %86.7'si ve düşük PTEN BPH vakaları- nın %82.35'i, ilişkili semptomlar ve komplikasyonlar nedeniyle yaşlı erkekler için önemli bir sağlık sorunuydu 65
Şekil 4.9 Yaş ile prostat kanseri insidansı arasındaki ilişki ve pten ekspresyonunda azalma 65
Şekil 4.10 BPH ve kanser vakalarında AR gen ekspresyonunun karşılaştırılması 66

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1 PCa progresyonu sırasında regülasyonu bozulan aday genler ve yolaklar 16
Tablo 3.1 Reaktifler cDNA sentezi 50
Tablo 3.2 PCR sürecinin 3 temel adımı 51
Tablo 4.1 PTEN ve AR gen ekspresyonu için iyi huylu vakalar oluşur 58
Tablo 4.2 PTEN ve AR gen ekspresyonu için kanser vakaları 59
Tablo 4.3 Gen ifadesi ile Gliason skorları arasındaki ilişki tablosu 63
Tablo 4.4 PTEN ve AR ekspresyonunun BPH insidansı, yaş ve prognoz ile ilişkisi 64
Tablo 4.5 PTEN ve AR ekspresyonunun PCa insidansı ve yaşla ilişkisi 65
Tablo 4.6 PTEN ve AR ifadesi ile tanı arasındaki ilişki 66

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

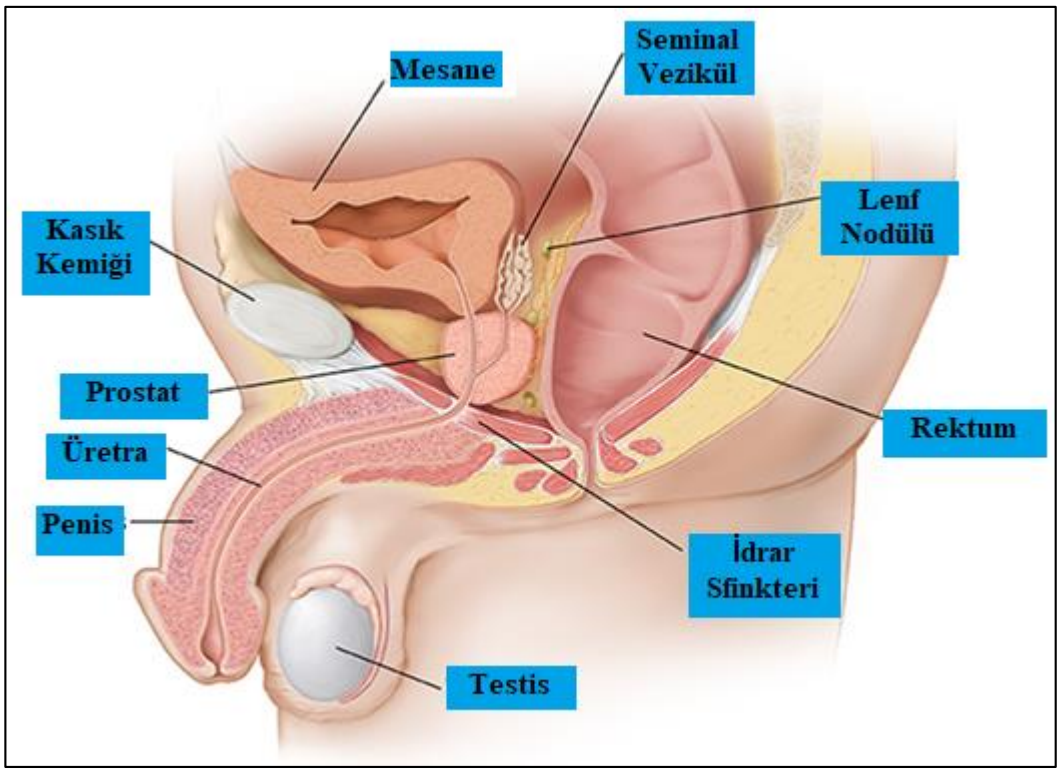
AR	**:** Androjen Reseptörü
BPH	**:** Benign Prostat Hiperplazisi
PSA	**:** Prostat-Spesifik Antijen
PCa	**:** Prostat Kanseri
PTEN	**:** Fosfataz ve Tensin Homologu
GS	**:** Gleason Skorları

1. GİRİŞ

1.1 Prostat Bezi

1.1.1 Anatomi

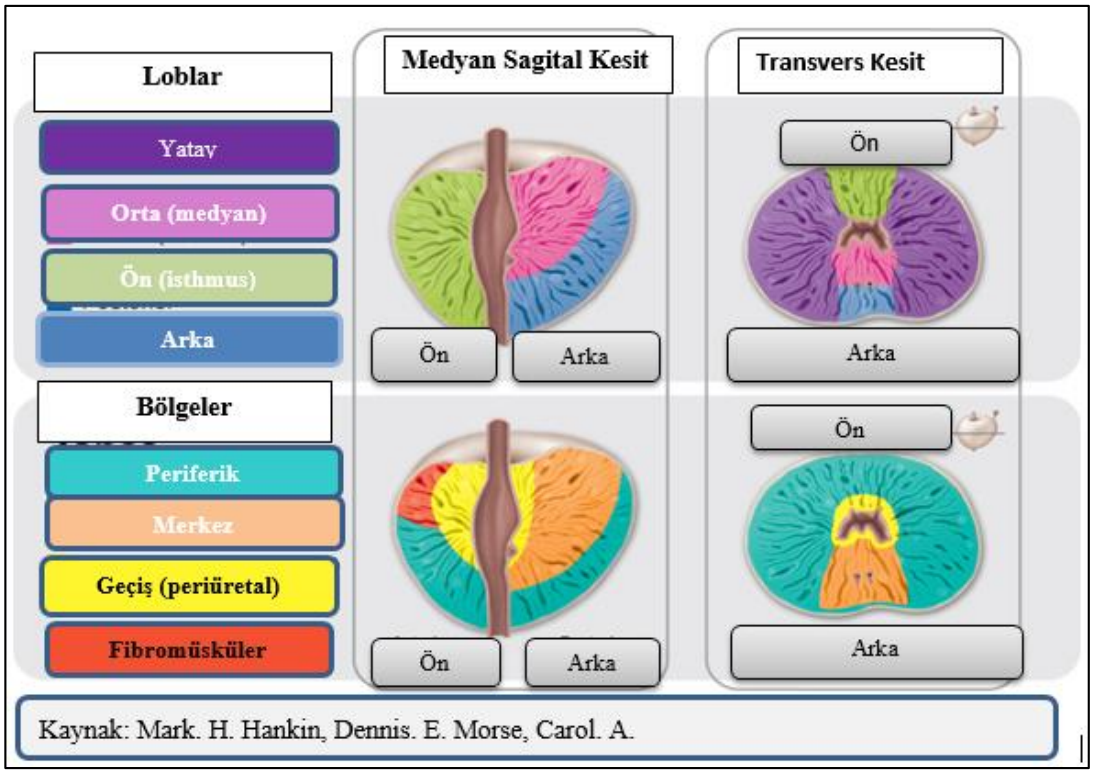
Prostat, 7-16 gram ağırlığında olabilen ve ortalama ağırlığı yaklaşık 11 gram olan, erkekte cinsel fonksiyona yardımcı bir fonksiyona sahip, pelvis tabanında yer alan, mesane boynu ve üretrayı çevreleyen bir ekzokrin bezdir. Üretra, iki amaca hizmet eder; işeme ve ejekülasyon. Üretra, mesaneden prostat yoluyla penisin ucuna doğru ilerler ve prostattan geçen bölümüne ise prostatik üretra adı verilir (bkz. Şekil1).



Şekil 1.1 Prostat Bezi

Sperm, testislerde üretildikten sonra, olgunlaşma için epididim olarak bilinen sarmal bir bölüme hareket eder ve daha sonra mesane ve seminal veziküllerin etrafında dolanan vas deferens olarak bilinen iki kas tüpüne girer. Seminal vezikül, spermi ejekülasyona kadar birkaç gün barındırabilir. Ejekülasyon sırasında prostat kasları kasılır ve spermi prostatik üretra içerisine penisin ucuna doğru atar (Leissner KH,

Tisell LE, 1979). Prostat iki farklı sistemle sınıflandırılabilir; bölgeler veya loblar. Bölgesel sınıflandırma daha çok patolojide kullanılır ve prostatı dört farklı bölgeye ayırır (bkz. Şekil 2). Periferik bölge (PZ) prostatın yaklaşık %70'ini oluşturur ve üretrayı çevreler. Prostat kanserlerinin yaklaşık %80'i periferal bölgede gelişir. Merkez bölge (CZ) ejakülatuar kanalları çevreler ve prostatın %25'ini oluşturur ve prostat kanserlerinin sadece %2,5'i bu bölgede ortaya çıkar, ancak burada gelişen kanserler daha agresiftir. Geçiş bölgesi (TZ) proksimal üretrayı çevreleyen prostat kanserlerinin %20'sinin ortaya çıktığı bölgedir. TZ zamanla büyür; iyi huylu prostat büyümesi bu bölgeden kaynaklanır. Son bölge olan ön fibro-musküler bölge sadece kas ve fibröz dokudan oluşur. Lob sınıflandırma sistemi de prostatı dört farklı bölgeye ayırır: ön lob (kabaca TZ ile aynı), arka lob (PZ ile karşılaştırılabilir), yan loblar (tüm bölgeleri kapsar) ve medyan veya orta lob (CZ). Bu sınıflandırma genellikle prostatın anatomisini tanımlarken kullanılır (Cohen vd., 2008). Merkezi ve periferik bölgeler, spermatik sıvıyı salgılayan tübülo-alveolar glandüler dokudan oluşurken, ön fibro-kas bölgesi işemeyi başlatabilen düz kastan oluşur. Prostatın üretra ve ejakülatuar kanallar arasındaki kavşaktaki konumu, onun idrar ve genital işlevini açıklayabilir. Şu anda kullanılan anatomik model 1968'de McNeal vd., tarafından önerilmiştir. Prostat bezi, mesaneden çizgili sfinktere dikey yolunda üretrayı çevreleyen 4 bölgeye bölünmüştür. Bölgesel sınıflandırma daha çok patolojide kullanılır ve prostatı dört farklı bölgeye ayırır (bkz. Şekil 2). Bu nedenle, yaşlanmayla birlikte prostatta oluşan anatomik değişiklikler cinsel ve idrar semptomlarında rol oynayabilir (Kumar ve Majumder, 1995).



Şekil 1.2 Bölgesel Sınıflandırma

1.1.2 Prostat Bezinin İşlevi

Prostatın gelişimi, büyümesi ve işlevi büyük ölçüde androjenlere, en önemlisi DHT'ye bağlıdır ve androjenlerin yokluğu hızla prostat boyutunda bir azalmaya yol açar (Randall vd., 1994). Prostat bezinin birincil işlevi, seminal sıvının bir kısmını depolamak ve cinsel aktivite sırasında ejekülasyona yardımcı olmaktır; prostattaki düz kaslar, ejakülasyon sırasında meninin atılmasına yardımcı olur. Meni prostat tarafından üretilen ve seminal sıvının %25'ini oluşturan hafif alkali bir sıvıdır ve sperm hareketliliğine ve canlılığına izin verir. Vajinal yol asidiktir, bu nedenle meninin alkalitesi, spermin canlı kalmasını sağlamak için ortamı nötralize eder. Prostat, seminal sıvıya bir dizi bileşen katkısı sağlayan bir tübüloalveolar bezdir. Erkeklerde mesane boynu ile pelvik diyafram arasında bulunur ve seminal veziküllere bitişik ejakülatuar kanalları çevreleyen üretrayı çevreler, düz kas stromasından oluşur ve oldukça epitelyal bir organdır.

Prostat kanserlerinin büyük çoğunluğu glandüler epitelde gelişen kötü huylu tümörler olan adenokarsinomlardır (Miller ve Torkko, 2001). Salgı üreme organı olarak prostat,

ejakülasyon sırasında sperm sıvısına prostat sıvısı ekleme işlevini yerine getirir, ejakülatın yaklaşık%20'sini oluşturur ve sitrik asit, çinko, prostatik asit fosfataz, K + ve Na + gibi elektrolitler ve PSA gibi birkaç bileşik içerir (Kavanagh, JP, 1985). Prostat bezi erkek üremesinde önemli bir rol oynar. Prostat bezi erkek üremesinde önemli rol oynar. Steroid ve peptid hormonlarına bağlı prostat bezinin gelişimi, farklılaşması ve devamlılığı ve bunun yanı sıra spermatozoanın normal çalışması için gerekli olan enzimleri, lipitleri, aminleri ve metal iyonlarını salgılar.

Prostatik sıvının enzimatik özellikleri, seminal pıhtılaşmanın yavaşça sıvılaşmasına izin verir ve döllenme şansını artırarak, spermlerin dişi genital yapı içinde hareketliliğini ve hayatta kalmasını artıran faktörlere optimize edilmiş bir şekilde maruz kalmasına izin verir. Prostatın düz kaslarının kasılması, aynı zamanda meninin atılımına da yardımcı olur. Prostat, ~%70 glandüler dokudan ve ~%30 stromal dokudan oluşur ve morfoloji, patoloji ve işleve dayalı olarak bölgelere ayrılabilir (Lee vd., 2011). Periferik bölge, glandüler hacmin ~%70'ini oluşturur ve bezin tabanında yer alır ve bezin dijital rektal muayene ile hissedilmesini sağlar. Bu bölgenin embriyolojik kökeni ürogenital sinüstür. Prostat tümörlerinin yaklaşık %75'i periferik bölgeden kaynaklanır. Geçiş bölgesi de ürogenital sinüsten köken alır. Mesaneden prostata girerken üretrayı çevreler ve yaşla birlikte prostat hacminin sadece %5'ini oluşturur. Prostatın bu kısmı sıklıkla büyür ve idrarın mesaneden prostat yoluyla geçişini zorlaştırır; bu duruma BPH denir. Bununla birlikte, PCa'nın kabaca %20'si geçiş bölgesinden köken almaktadır. Merkezi bölge, iki seminal vezikülden üretraya giden ejakülatuar kanalları çevreler ve prostat hacminin ~%25'ini oluşturur. Bu bölge, Wollfian kanallarından türetildiği için embriyonik kökenindeki geçiş ve periferal bölgelerden farklıdır, ancak bu bölgeden kaynaklanan prostat kanseri oranı daha düşüktür (~%5) (Roehrborn, 2005).

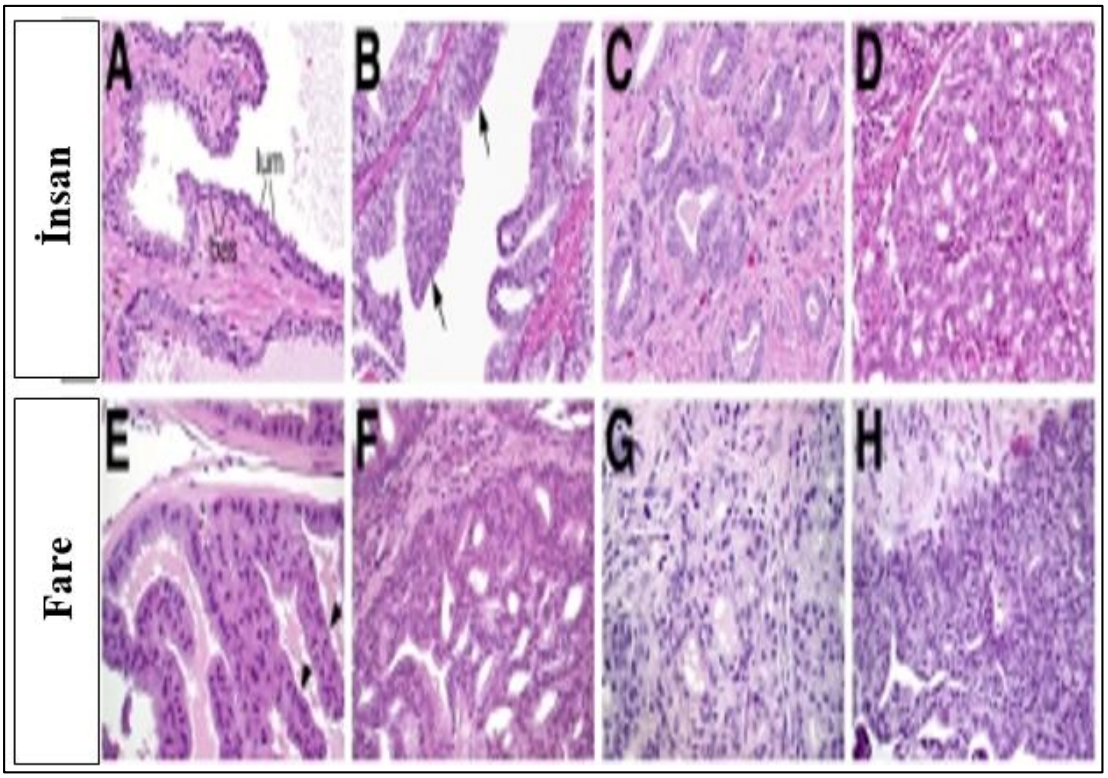
1.1.3 İyi Huylu Prostat Hiperplazisi (BPH)

Prostat kanseri ve BPH, yaygın prostat hastalıklarıdır. BPH, prostatın iyi huylu büyümesidir ve 70-80 yaşları arasındaki erkeklerin %80'ine yakınında histolojik BPH kanıtı vardır (Ziada vd., 1999). İyi huylu prostat hiperplazisi (BPH) ve ilişkili alt idrar yolu semptomları (AÜSS) genellikle yaşlı erkekleri etkiler. Metabolik bozukluklar,

hormon dengesindeki değişiklikler ve kronik inflamasyonla ilişkili yaşa bağlı değişiklikler, AÜSS'ye neden olabilecek diğer durumlara dikkat edilerek BPH gelişimine, BPH'nin teşhisine bağlı tıbbi geçmişe ve odaklanmış fizik muayeneye neden olabilir. Dijital rektal muayene ve idrar tahlili yapılır. Diğer test, prostata özgü antijen, serum kreatinin, idrar sitolojisi, görüntüleme, sistoüretroskopi, işeme sonrası rezidüel ve basınç-akış çalışmaları dahil semptomların sunumuna bağlı olarak düşünülebilir. Birçok tıbbi ve cerrahi tedavi seçeneği mevcuttur. Cerrahi, tıbbi tedavide başarısız olan veya tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları, dirençli idrar retansiyonu, mesane taşları veya obstrüktif üropatinin bir sonucu olarak böbrek yetmezliği gibi BPH'den kaynaklanan komplikasyonları olan hastalar için ayrılmalıdır (Kim vd., 2016). İyi huylu prostat büyümesi nadiren yaşamı tehdit eder. Stromal, fibromüsküler, müsküler fibroadenomatözden neredeyse sadece prostatın geçiş bölgesi (TZ) içinde meydana gelen fibromyoadenomatöz nodüllere kadar değişen birkaç BPH tipi ayırt edilebilir (Colombo vd., 2001). Prostat kanseri, Batı ülkelerinde erkeklerde en sık teşhis edilen kanserdir ve bu ülkelerde kanserden ölümlerin ikinci önde gelen nedenidir.

Prostat kanserlerinin çoğu, periferik bölgede (PZ), prostatın dorsal ve dorso-lateral tarafında meydana gelir. Prostat kanserlerinin <%30'u TZ tümörlerinden oluşur. Bu tümörler daha düşük biyokimyasal nüks oranlarına sahiptirler ve PZ'den kaynaklanan tümörlere göre daha az malignderler (McNeal vd., 1988). Bununla birlikte iyi huylu prostat hiperplazisi, neredeyse sadece periüretral olarak ve prostatta daha merkezi bir yerde bulunan geçiş bölgesinde (TZ) meydana gelir. BPH, hem stromal hem de epitel kompartmanlarının aşırı büyümesi veya hiperplazisi olabilir ve prostatik intraepitelyal neoplaziyi (PIN) içermez. Prostat kanseri, PIN ve / veya diğer atipik proliferasyon lezyonlarından köken alır (De Marzo vd., 1999). Prostat bölgeleri arasındaki farklılıkların moleküler temeli bilinmemektedir. Hastalıkların belirli bir bölge için güçlü bir tercihi olduğu göz önüne alındığında, bunun normal bölgelerdeki önceden var olan moleküler farklılıklardan kaynaklandığı varsayılmaktadır. (Nelson vd., 2004) tarafından gözden geçirilen, prostat kanseri ve BPH üzerinde çeşitli gen ekspresyonu profilleme çalışmaları yapılmıştır (Nelson PS, 2004). Patologlar prostatın TZ'sinin morfolojik olarak PZ'ye benzediğini düşünmektedirler ve diğer çalışmalar da TZ ve PZ'nin morfolojik olarak benzer olduğunu göstermiştir. Prostat bezinin bölgeleri, hem

stromal hem de epitel hücrelerinin karışımından oluşur. Bu hücre türleri arasındaki etkileşimin karmaşıklığı, son yıllarda keşiflerin odak noktası olmuştur ve halen yoğun olarak incelenen bir araştırma alanı olmaya devam etmektedir (Cunha vd., 2003). Bu nedenle prostat bölgelerini incelerken hücre tipi dağılımını ve özelliklerini dikkate almak önemlidir. Cunha vd. (2003) stromal hücrelerin normal prostat epitelinin farklılaşma modelini modüle edebileceğini göstermiştir. Prostat kanseri ve BPH gibi hastalık süreçlerinin yönetilmesinin yanı sıra bunun normal doku için kritik olduğu düşünülmektedir (Cunha vd., 1983). PIN'in prostat kanseri için bir öncü olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir, ancak bu ilişki kesin olarak gösterilmemiştir. PIN genellikle şu şekilde karakterize edilir: lüminal epitelyal hiperplazinin ortaya çıkmasıyla histolojik seviye, bazal hücrelerde azalma, çekirdek ve nükleollerin genişlemesi, sitoplazmik hiperkromazi ve nükleer atipi. Buna ek olarak, yüksek dereceli PIN lezyonları prostat kanserinin tersine genellikle hücresel proliferasyon belirteçlerinde belirgin bir yükselme sergiler. Bununla birlikte, bazal hücrelerin sayısı PIN'de azalır (Shappell vd., 2004). İnsan prostat kanseri önemli fenotipik heterojenite sergilemesine rağmen, prostat kanserlerinin >%95'i patolojik olarak çarpıcı bir lüminal fenotipe sahip olan adenokarsinom olarak sınıflandırılır (Şekil 3). Ek olarak, prostat kanseri teşhisi, karsinomada aşırı eksprese edilen bir lüminal işaret olan a-metilasil-CoA rasemaz (AMACR) için yüksek immün boyama ile desteklenir (Humphrey PA., 2007). PIN, prostat kanseri gibi, en sık olarak prostatın periferik bölgesinde meydana gelir ve genellikle prostat kanserine yakın bir yerde bulunur. Bağıl PIN ve prostat kanseri hacimleri ters orantılı olarak değişir. PIN vakalarında prostat spesifik antijen, prostat kanseri ve normal seviyeler arasında orta düzeydedir, ancak bu yükselme iyi huylu prostat hiperplazisi ile açıklanabilir (Bostwick D G., 1989). Bununla birlikte, genetiği değiştirilmiş fare modellerinin çoğunda prostat karsinomunun açık histolojik görünümü genellikle tipik insan prostat kanserininkinden farklıdır (Bkz Şekil 3).



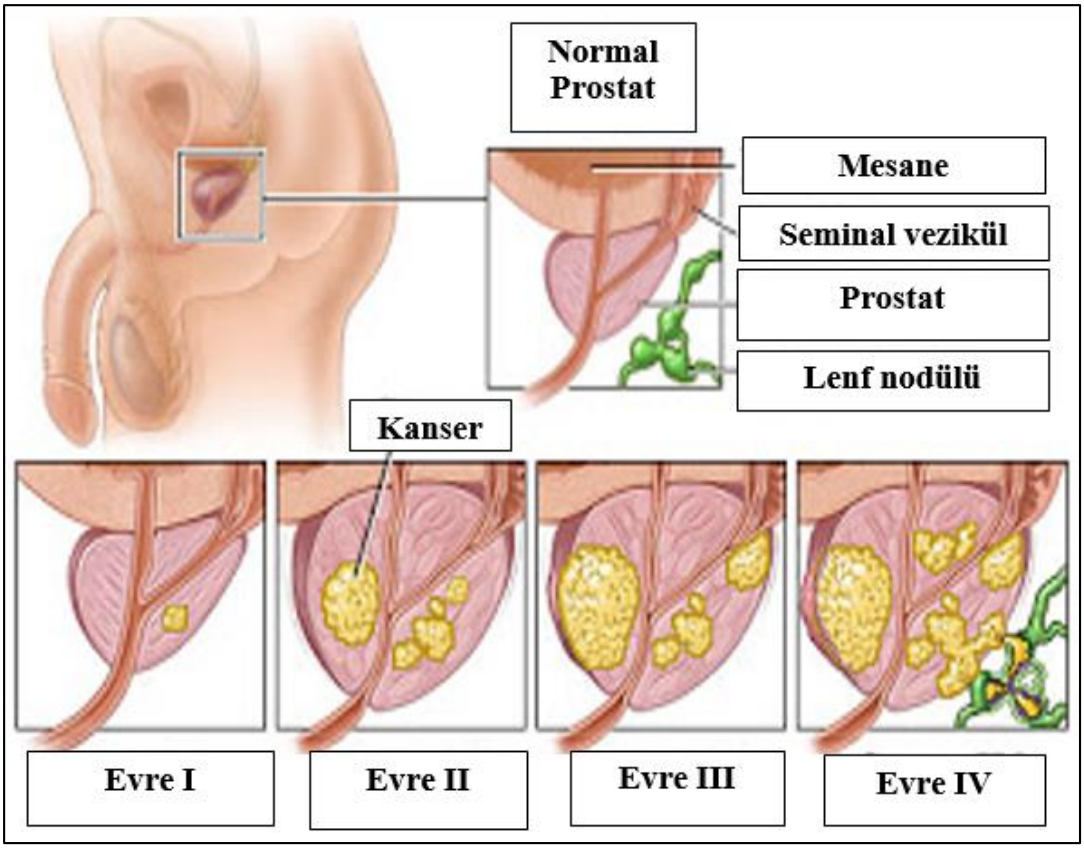
Şekil 1.3 İnsan ve fare prostat kanserinin histopatolojisi

(A – D) İnsan prostatının hematoksilen-eozinle boyanmış bölümleri. (A) Temsili bazal (baz) ve lüminal (lum) hücrelerin gösterildiği iyi huylu normal doku. (B) PIN; oklar hiperplastik epitel bölgelerini gösterir. (C) İyi diferansiye adenokarsinom. (D) Kötü diferansiye adenokarsinom. (E – H) Genetik olarak tasarlanmış fare modellerinden alınan ön prostatın hematoksilen-eozin ile boyanmış bölümleri. (E) Karakteristik papiller tafting (ok başları) ile normal doku. (F) Yüksek dereceli PIN. (G) Prostat karsinomu. (H) İnvazif fenotipli prostat karsinomu. İnsanda prostat örneklerinin görüntülerini sağladıkları için Dr. Robert Cardiff ve Alexander Borowsky'ye (Tıp Fakültesi, California Üniversitesi, Davis) teşekkür ederiz.

1.2 Prostat Kanseri

Günümüzde prostat kanseri (PCa) erkeklerde en yaygın görülen kanserdir ve erkeklerde kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedeni olmasına karşın, tarihsel olarak çok nadir bir hastalık olarak kabul edilmiş ve ilk olarak 1853'te İngiliz doktor J. Adams tarafından tanımlanmıştır. PCa (Prostat kanseri)'nın, çoğunlukla 55 yaş ve üstü erkekleri etkileyen bir yaşlı adam hastalığı olduğu bilinmektedir. Batı dünyasında PCa

insidansındaki hızlı artış bu nedenle muhtemelen büyük ölçüde artan yaşam beklentisi ancak aynı zamanda tanısal belirteçlerin kullanımının artmasıyla da açıklanabilir. PCa için ilk tanısal belirteç 1938'de sunulduğunda, metastaz yapmış PCa hastalarının serumunda yüksek asit fosfataz konsantrasyonları tespit edilebiliyordu (Gutman, AB ve Gutman, EB1938). Birkaç yıl sonra, 1941'de Huggins ve Hodges, orşiektomi veya östrojen enjeksiyonları ile androjen baskılayıcı tedavinin, asit fosfatazın serum seviyelerinin ölçümleriyle doğrulanan PCa gerilemesine yol açtığını kanıtladı (Huggins, C. ve Hodges, C.V., 2002]. Huggins'in raporu, prostat kanseri hastalarını tedavi etmenin en önemli yöntemlerinden biri olan androjen yoksunluğu tedavisinin önünü açtı ve 1966'da Huggins, fizyolojide Nobel Ödülü'ne layık görüldü. Prostatik kökenli yüksek asit fosfataz konsantrasyonları genellikle iyi huylu prostatik durumlarda da görülür ve ilk başlarda test prostatik asit fosfataz için spesifik değildi. Birkaç farklı araştırma grubu 1960'ların sonlarında ve 1970'lerde prostata özgü bir antijeni bağımsız olarak keşfetti. Kandaki antijen miktarı ile prostattaki konsantrasyon arasında bir korelasyon tanımlandığında, yeni bir PCa belirteci doğmuştur (Stamey vd., 1987).



Şekil 1.4 Prostat Kanserinin Evreleri (Amerikan Kanser Derneği)

Evre I: Kanser yalnızca prostattadır. Eğer Gleason skoru ve PSA seviyesi biliniyor ise, Gleason skoru 6 veya daha az ve PSA seviyesi 10'un altındadır.

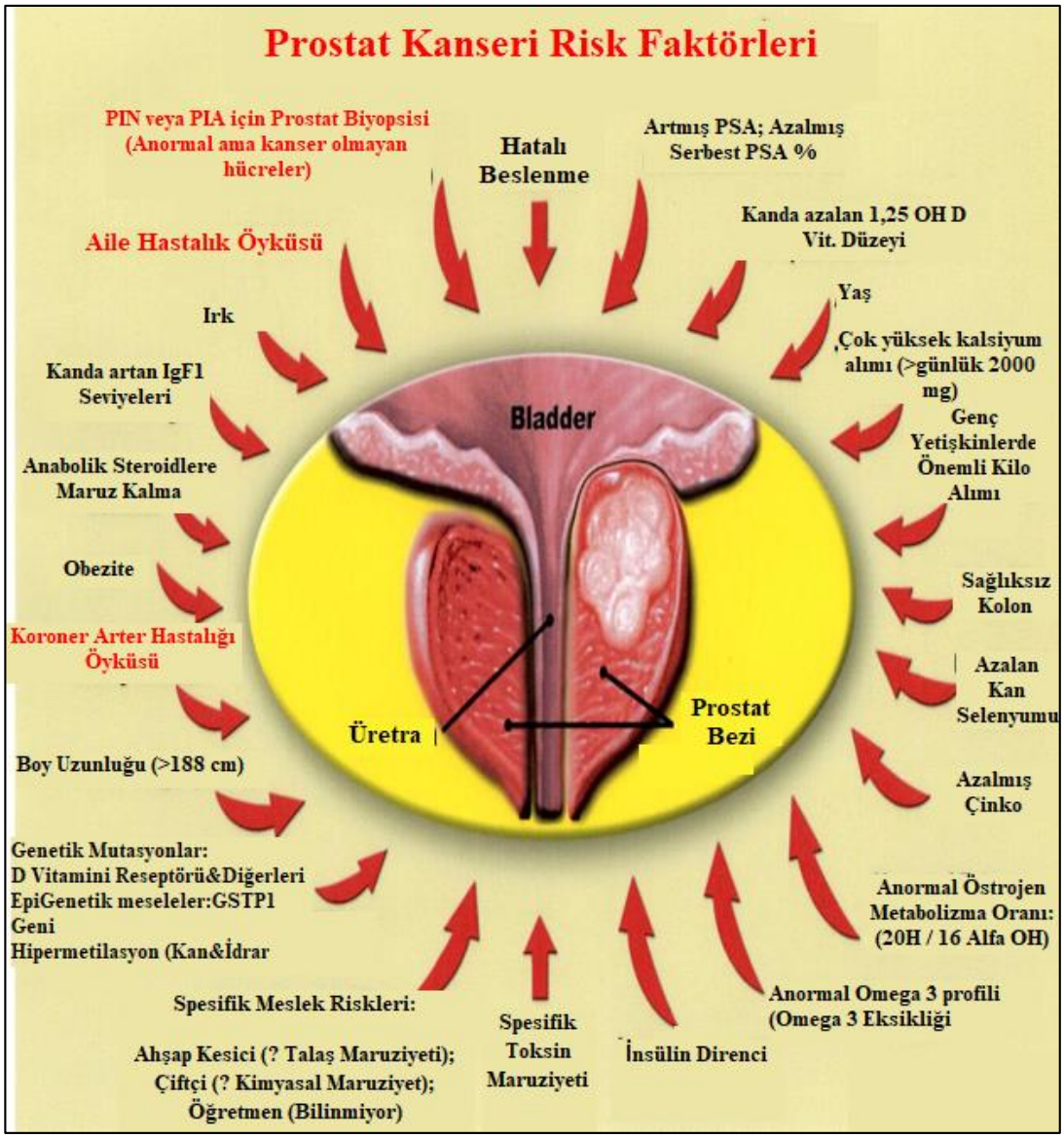
Evre II: Tümör Evre I'den daha ileri veya daha yüksek derecelidir.

Evre III: Tümör prostatın dışındaki dokulara da yayılır. Tümör bir seminal vezikülü tutmuş olabilir, ancak kanser hücreleri lenf düğümlerine yayılmamıştır.

Evre IV: Tümör mesaneyi, rektumu veya yakın yapıları (seminal veziküllerin ötesinde) tutmuş olabilir. Lenf düğümlerine, kemiklere veya vücudun diğer kısımlarına yayılmış olabilir.

1.2.1 Prostat kanseri Risk Faktörleri

Prostat kanseri, erkekler arasında (cilt kanserinden sonra) en yaygın görülen kanser türüdür ancak çoğu zaman başarıyla tedavi edilebilir.



Şekil 1.5 Prostat Kanseri Risk Faktörleri

En önemli korelasyon faktörleri şunlardır:

A. Yaşlanma ile korelasyon

Prostat kanserinin ayırt edici bir özelliği, yaşlanma ile yakın ilişkisidir; ve aslında yaşlanma prostat kanseri için tek ve en önemli risk faktörüdür. Prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) olarak bilinen pre-neoplastik lezyonlar yirmili yaşlarındaki erkeklerde bulunabilmesine ve erkeklerde ellili yaşlarda oldukça yaygın olmasına rağmen, klinik olarak saptanabilir prostat kanseri genellikle 60 veya 70 yaşına kadar ortaya çıkmaz.

İnvaziv progresyon karsinom, yaşlanmanın bir sonucu olarak daha sınırlı bir popülasyonda ortaya çıkan, önemli ölçüde daha az yaygın bir olaydır (Sakr vd., 1993).

B. Çevresel faktörler

Amerika Birleşik Devletleri'ndeki prostat kanseri insidansı, diğer birçok ülkeden, özellikle Asya ülkelerinden önemli ölçüde daha yüksektir. Bu nedenle, diyet ve çevresel faktörlerin, diğer yaygın epitel kanserlerindeki rollerine benzer şekilde prostat karsinojenezinde anahtar bir rol oynadığı varsayılmaktadır. Bununla birlikte, son kanıtlar, Asyalı erkeklere karşı Amerikalı erkeklerde preneoplastik lezyonların göreceli insidansında gerçekten farklılıklar olup olmadığını sorgulamaktadır (Carter vd., 1990a).

C. AİLESEL Kalıtım

Kalıtsal faktörler, prostat kanserlerinin nispeten küçük bir yüzdesini (~%10) oluşturur ve genellikle erken başlangıçlı hastalıkla ilişkilidir.

D. Steroid hormonlarının rolü

Steroid hormon reseptör sinyali, prostat karsinojenezinin tüm aşamalarında çok önemli bir rol oynar. Özellikle, erkeklerde androjenlerin östrojenlere oranında yaşa bağlı karakteristik bir azalma vardır ve bu, prostat kanserinin başlamasına katkıda bulunan bir faktör olabilir. Ayrıca, ilerlemiş prostat kanserinin ayırt edici özelliği olan androjen bağımsızlığına geçiş sayısız araştırmanın odak noktası olmuştur (Mawhinney ve Neubauer, 1979; Dai vd., 1981; Prehn, 1999).

E. Heterojenlik ve çok odaklılık

Prostat kanseri lezyonlarının heterojen ve çok odaklı doğası, araştırmacılar için önemli zorluklar oluşturmaktadır. Heterojenlikle ilgili olarak, prostat kanseri dokusunun histolojik incelemesi tipik olarak iyi huylu bezlerin, preneoplastik (PIN) odakların ve değişen şiddette neoplastik odakların yan yana olduğunu ortaya çıkarır (Şekil 1). Bu heterojenliği hesaba katabilmek açısından mükemmel bir prognostik gösterge olduğu

için günümüzde Gleason ölçeği, patologlar tarafından kullanılan baskın bir derecelendirme sistemi olarak önerilmektedir. Bu sistemde, neoplastik odakların en yaygın iki derecesinin toplamına göre bir puan verilir (örneğin, 3 + 3; 3 + 4); daha yüksek bir Gleason derecesi, daha ileri seviyede bir karsinomu gösterir (Gleason, 1992).

Prostat kanseri (PCa), tüm dünyada erkeklerde en sık görülen malignite olarak bildirilmiştir. Dünyada PCa insidansı ve yaygınlığı farklıdır. Prostat kanserinden ölümler akciğer kanserinden ölümlerden sonra en yüksek ikinci sıradadır. Prostat kanserinin görülme sıklığı ve dağılımı dünyanın farklı yerlerinde değişiklik göstermektedir. İlginç bir şekilde, prostat kanseri sosyoekonomik düzeyi düşük ülkelerde daha az görülmektedir (Rigau vd., 2013).

1.2.2 Prostat Spesifik Antijen

Kallikrein-3 (KLK3) olarak da bilinen prostata özgü antijen (PSA), esas olarak prostat bezinin epitel hücreleri tarafından salgılanan bir enzimdir. Ancak diğer dokularda da düşük konsantrasyonlarda enzim tespit edilmiştir. KLK3 gen promoterinde en az üç AR tespit edilmiştir. Başlangıçta, androjen konsantrasyonu düştükçe PSA konsantrasyonu da düşer. Bununla birlikte, prostat kanseri CRPC'ye girerse, AR aktivitesi artık liganda bağımlı olmadığından, PSA konsantrasyonu sıklıkla tekrar yükselmeye başlar (Mizokami, vd., 2017). PSA, hem prostat epitel hücreleri hem de PCa tarafından üretilen androjen tarafından düzenlenen bir serin proteazdır ve kanser için en yaygın kullanılan serum belirtecidir. Bazı üyeleri prostata özgü doku kallikrein ailesinin bir üyesidir. PSA, seminal koagulumdaki semenojelinleri parçalamak olan semende önemli bir proteindir. PSA, yedi N-terminal amino asidin bölünmesiyle aktive olan inaktif bir amino asit proenzim (proPSA) olarak prostatik kanallara salgılanır. Dolaşıma bozulmadan giren PSA, proteaz inhibitörleri, esas olarak alfa1-antikimotripsin tarafından hızla bağlanır, ancak bir fraksiyon lümende proteoliz yoluyla etkisiz hale getirilir ve serbest PSA olarak dolaşır. Bu proteolitik inaktivasyonun yanı sıra proPSA'nın PSA'ya ayrılması PCa'da daha az etkilidir. Serum toplam PSA seviyeleri prostat kanserinde artmıştır ve PSA taraması, prostat kanseri sunumunu ve yönetimini önemli ölçüde değiştirmiştir. Ne yazık ki, yüksek PSA

seviyeleri ilerlemiş PCa için öngörücü olsa da, organa sınırlı kanserlerin büyük bir kısmı, prostat kanseri olmayan erkeklerde bulunan seviyelerle örtüşen çok daha düşük toplam PSA değerleri ile kendini gösterir. Serbest ve toplam PSA'nın ölçümü, prostat kanseri için özgüllüğü artırabilir ve proPSA formlarını ölçmek için geliştirilmekte olan testler, erken evre prostat kanserini tespit etme yeteneğini daha da artırabilir. PSA ayrıca tedaviye verilen yanıtları izlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır ve terapötik bir hedef olarak araştırılmaktadır. Son olarak, yakın zamanlı veriler, PSA'nın prostat kanseri patogenezinde ek rolü olabileceğini göstermektedir (Balk vd., 2003). PSA kendi başına tümöre özgü bir enzim değildir. Prostatta inaktif bir formda bulunur, ancak ejekülasyon üzerine aynı ailenin başka bir üyesi olan KLK2 tarafından aktif formuna dönüştürülür. Aktive PSA, seminogelin proteinlerini tutan matrisi daha küçük peptidlere bölerek jelatinimsi semen matrisini sıvılaştırır, spermatozoayı yavaşça serbest bırakır (Malm, J. ve Lilja, H.1995). Prostatın epitel hücreleri inflamasyon veya prostat kanseri nedeniyle bozulduğunda, PSA kan dolaşımına sızar ve bu durum serum PSA konsantrasyonlarını prostat hastalığının teşhisinde değerli bir araç haline getirir (Grossklaus, vd., 2001). PSA'nın daha önce kullanılan PAP- teste göre prostat kanseri için daha iyi bir prognostik araç olduğu bulunmuş olmasına rağmen (Seamonds vd., 1986), PSA prostat kanserine özgü bir belirteç değildir ve büyük tarama programları eleştirilmiştir, çünkü PCa'lı tüm erkeklerde serum PSA'larında farklılık bulunmazken, pek çok önemsiz tümör keşfedilmiştir (Pron, G.2015). PSA testi prostat kanserinin tanı ve tedavisini büyük oranda etkileyerek, doktorların prostat tümörlerini henüz küçük, düşük dereceli ve lokalize iken tespit etmesini sağlamıştır. Ancak bu yetenek, şu anda önemsiz kanserleri teşhis ve tedavi edip etmediğimiz konusunda tartışmalara neden olmuştur. PSA testi ayrıca tedavinin sonucunun takibinde ve hastalığının nüksünün de belirlenmesinde çığır açmıştır (Lilja vd., 2007). Genellikle, 4 ng / mL'nin üzerindeki PSA seviyelerinin şüpheli olduğu varsayılır. 10.0 ng / mL'nin üzerindeki seviyelerde kanser ihtimali önemli ölçüde yükselir. 10 ng / ml'lik PSA seviyesi, kemik taramasının gerekliliği için bir baraj değeri (cut-off) olarak kabul edilir (Kinoshita vd., 2013). Perinöral invazyon, prostatın içindeki bir sinir lifini çevreleyen kanser hücrelerinin görüldüğü anlamına gelir. Prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN)'nin, prostat kanserinin bir öncüsü olduğu varsayılmaktadır. Bunlar biyopside mevcut olduğunda, kanserin prostatın dışına yayılma şansı daha yüksektir (Sharma vd., 2017). PSA'nın PCa'nın teşhisi için oldukça duyarlı bir belirteç olarak kullanılmasına rağmen,

PSA seviyesi benign prostat hiperplazisi (BPH) ve prostatitte yüksek olabileceğinden, kanser tanısı için yanlış spesifiklik gösterebilir. Bu nedenle PSA, gereksiz biyopsi ve uygunsuz tedaviye yol açan yüksek bir yanlış pozitiflik oranına sahiptir. Önceden yapılmış çalışmalara bakıldığında, biyopsilerin üçte ikisinin aslında gerekli olmadığı sonucuna varılmıştır (Rigau M ve ark., 2013). PCa, erken tanı ve etkili tedaviyi etkileyebilecek, heterojen biyolojik yönleri olan oldukça karmaşık bir hastalıktır. Prostat kanserinin evrelemesine yönelik mevcut teknikler, semptom vermeyen (tedaviye ihtiyaç duymayan) ile yüksek düzeyde invazif, ölümcül evre arasında ayrım yapamaz. Bu nedenle, prostat kanseri hastası için bireysel rasyonel tedavi stratejisini belirlemek zordur. Yüksek dereceli kanserli hastalar için güçlü bir tedavi mevcut olmadığı için, PCa'nın malignite derecesini doğru bir şekilde belirlemek gereklidir (Chew vd., 2015).

1.2.3 Gleason Derecelendirme Sistemi

Gleason Derecelendirme Sistemi en çok kanserli dokunun mikroskop altındaki görüntüsüne göre yapılmaktadır. Gleason sistemi 40 yıldan daha uzun bir zaman önce tanıtıldığında prostat kanserine olan bakışı, prostat spesifik antijen testi, transrektal ultrason destekli prostat iğne biopsisi, bazal hücrelerin imünohistokimyası gibi prostat kanseri klasifikasyonunu ve yeni prostat kanseri varyasyonlarını da değiştirmiştir. Gleason skoru, Donald Gleason tarafından prostatın adenokarsinomunu glandüler farklılaşma paternini değerlendirerek sınıflandırmak için geliştirilen histomorfometrik bir yöntemdir. Tümör derecesi dominant ve sekonder paternlerin toplamıdır, 1'den 5'e kadar derecelendirilen Gleason paterni aşağıdaki özelliklerle ilişkilidir (Şekil 5):

Patern 1 - Kanserli prostat bezleri, küçük, iyi biçimlendirilmiş ve sıkıca paketlenmiştir.

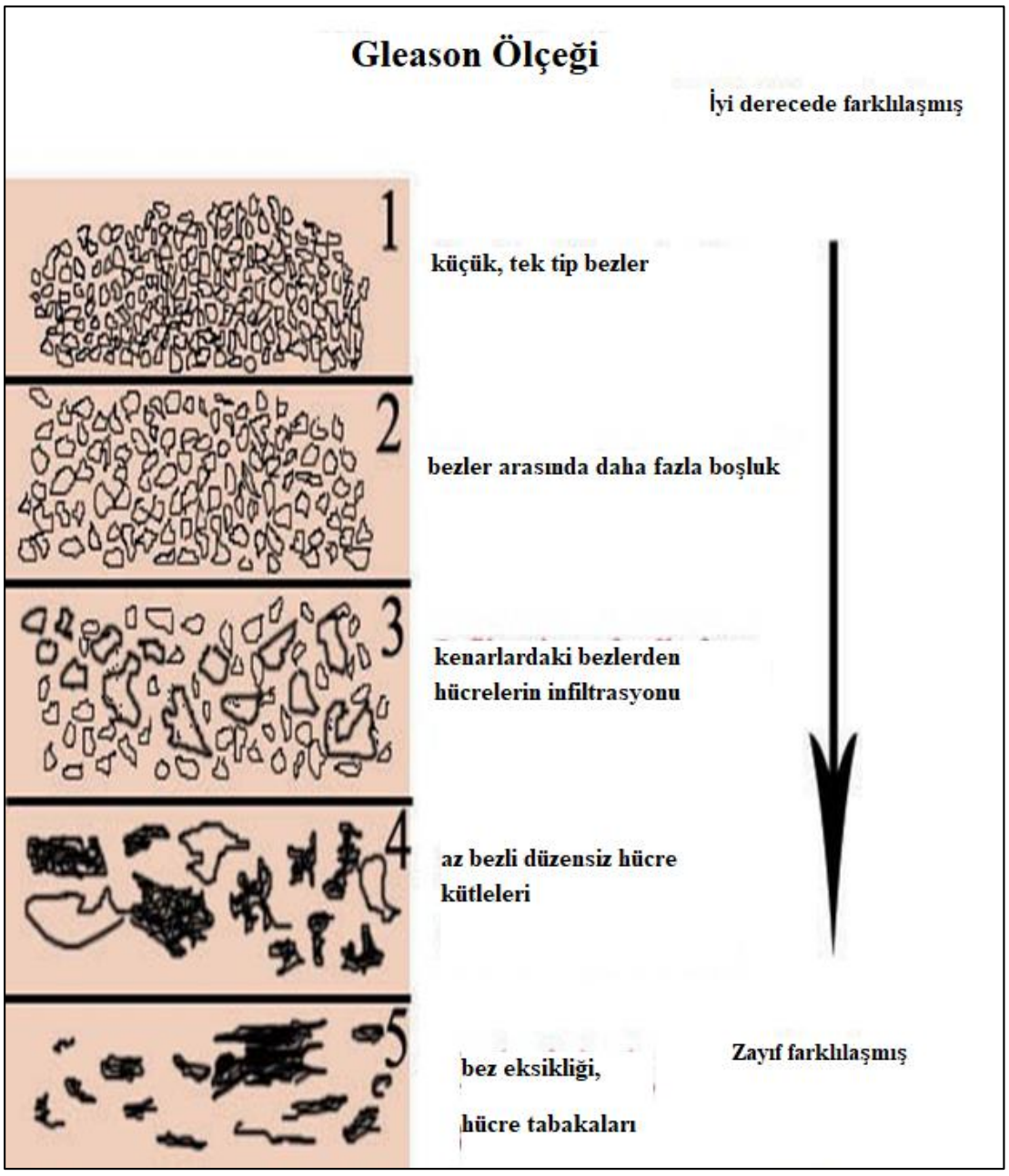
Patern 2 - Bezler hala düzgün biçimlidir, daha büyüktür ve aralarında daha fazla boşluk bulunur.

Patern 3 - Dokudaki bezler hala ayırt edilebilmektedir, ancak hücreler daha koyudur. Yüksek büyütmede, bazı hücreler bezleri terk etmiş ve çevresindeki dokuyu istila etmeye başlamıştır.

Patern 4 - Dokuda birkaç ayırt edilebilir bez bulunur. Az sayıda bezi olan düzensiz hücre kitleleri bulunmaktadır.

Patern 5 - Dokunun ayırt edilebilir bezleri yoktur. Çevreleyen dokuda genellikle sadece hücre tabakaları bulunur.

Gleason derecesi aynı zamanda Gleason paterni olarak da bilinir ve Gleason skoru da Gleason toplamı olarak bilinir.



Şekil 1.6 Gleason Ölçeği

1.3 PCa sırasında Genler ve Yolaklar

Prostat kanserinde en sık aktive edilen sinyal yolakları, androjen reseptörü (AR) ve PI3K tarafından yönlendirilir. PI3K yolağının inhibitörleri erken klinik denemelerdedir ve AR inhibitörleri çoğu hastada klinik yanıtlar verir.

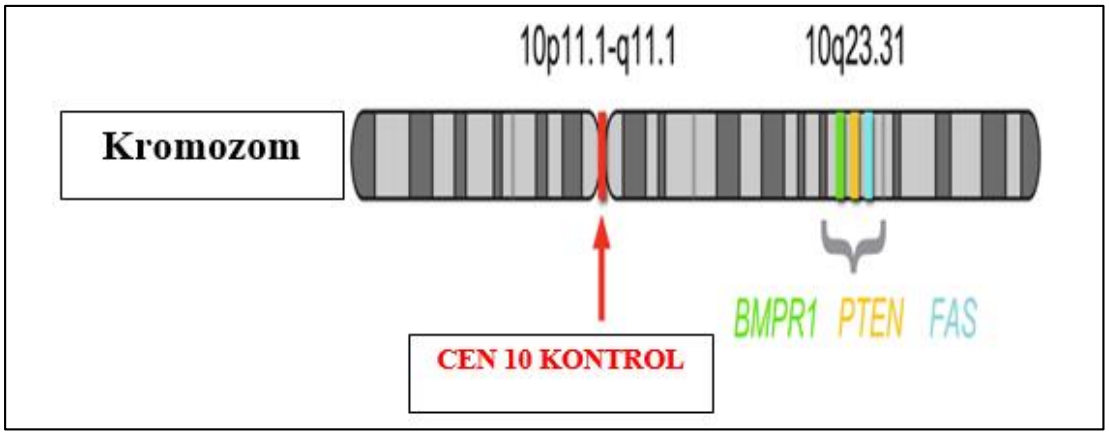
Tablo 1.1 PCa progresyonu sırasında regülasyonu bozulan aday genler ve yolaklar

Gen veya Yolak	Fonksiyon	Kanıt	Referanslar
Fosfataz ve tensin homologu PTEN	PI3K sinyalizayonu	PTEN, PI3K / Akt sinyal yolunu antagonize eder ve sıklıkla PCa'da silinir. Fare modellerinde PTEN ekspresyonunun kaybı prostat kanseri ile sonuçlanır.	(Wang vd., 2003; Phin vd., 2013).
Nötr endopeptidaz (NEP)	PI3K sinyalizayonu	NEP, PTEN'yi stabilize eder ve sıklıkla PCa gelişiminde kaybolur.	(Osman vd., 2004; Osman vd., 2006).
Androjen reseptörü (AR)	Steroid reseptörü	AR sinyalindeki değişiklikler, kastrasyon direnci hastalığına geçişe aracılık etmekten çok erken patogenezde önemli bir rol oynar.	(Shen ve Abate-Shen 2010; Karantanos vd. 2013).

1.3.1 PTEN Geni

1.3.1.1 PTEN Protein Yapısı ve Post-Translasyonel Modifikasyon Sahaları

PTEN, 10q23.3 kromozomunda güçlü bir aday tümör baskılayıcı gen olup, fonksiyon kaybı, çoklu insan kanserlerinin onkogeneziyle ilişkili görünmektedir (Steck vd., 1997). PTEN, 403 amino asitten oluşur ve aşağıda olduğu gibi beş fonksiyonel alan ile karakterize edilir (Şekil 7).



Şekil 1.7 PTEN Fonksiyonel alanı (Cotter, 2013)

Kromozom 10q23.3 üzerindeki fosfataz ve tensin homolog geni (PTEN), PIK3 / Akt sağ kalım yolağının negatif bir düzenleyicisidir ve prostat kanserinde en sık silinen tümör baskılayıcı genidir. PTEN'nin monoalelik kaybı, lokalize prostat kanserlerinin %60'lık bölümünde görülebilir ve prostat kanserinde tam PTEN kaybı, metastaz ve androjen bağımsız progresyon ile bağlantılıdır.

Genel olarak, PTEN'in prostat kanseri için güçlü bir biyobelirteç olduğu açıktır. Yeni ortaya çıkan terapötik ilaçlar için yardımcı tanı olarak kullanılır (Lee vd., 1999). Lee JO vd. 2002'de C2 alanının fonksiyonları ve tümör büyümesi ile ilgisini araştırılmıştır. Modifikasyonun doğal tip PTEN büyüme inhibisyonunu arttırdığını, ancak lipid bağlanmasında kusurlu bir C2 mutantını kurtarmadığını, bunun da bu PTEN C2 alanında, aktif bölgeyi membrana bağlı fosfoinositid substrata göre verimli bir şekilde konumlandırdığını bulmuşlardır. C2 -iplikçiklerini birbirine bağlayan döngülerdeki tümör kaynaklı mutasyonlar analiz edildiğinde, C2 döngü mutantlarından birinin büyük olasılıkla hem membran bağlanmasını hem de protein stabilitesini etkileyerek PTEN tümör baskılayıcı fonksiyonunun toplam kaybına neden olduğu bulunmuştur. Bu veri, PTEN C2 alanının protein stabilitesinde ve katalitik bölgenin üretken oryantasyonunda çift rolünü destekler (Georgescu vd., 2000). PTEN (kromozom 10'da silinmiş fosfataz ve tensin homologu), aynı zamanda MMAC1 (çoklu ilerlemiş kanserde mutasyona uğramış) olarak da bilinir ve TEP1 (TGFβ ile düzenlenen ve epitelyal hücre ile zenginleştirilmiş fosfataz), 10q23 kromozomu üzerinde bulunan bir tümör baskılayıcı gendir (Maehama T., Dixon JE1998). PTEN majör bir lipit 3 fosfatazdır ve PI3 kinaz / AKT pro- apoptotik yolağı

aşağı yönlü sinyalize eder. Protein-fosfataz aktivitesinin, mitojen aktive kinaz (MAPK) yolağı gibi çeşitli hücre sağkalım kalma yollarını düzenlediği de gösterilmiştir. PTEN'nin lipid-fosfataz aktivitesinin, PI3K / AKT yolağı aracılığı ile büyümeyi bastırmaya aracılık ettiği belirlenmiş olmasına rağmen, bir dizi çalışma, C-terminal dizisinin PTEN protein stabilitesini korumak için kritik olduğunu göstermiştir (Waite KA, Eng C.Protean. 2002).

1.3.1.2 Tümör Baskılayıcı Bir Gen Olarak PTEN

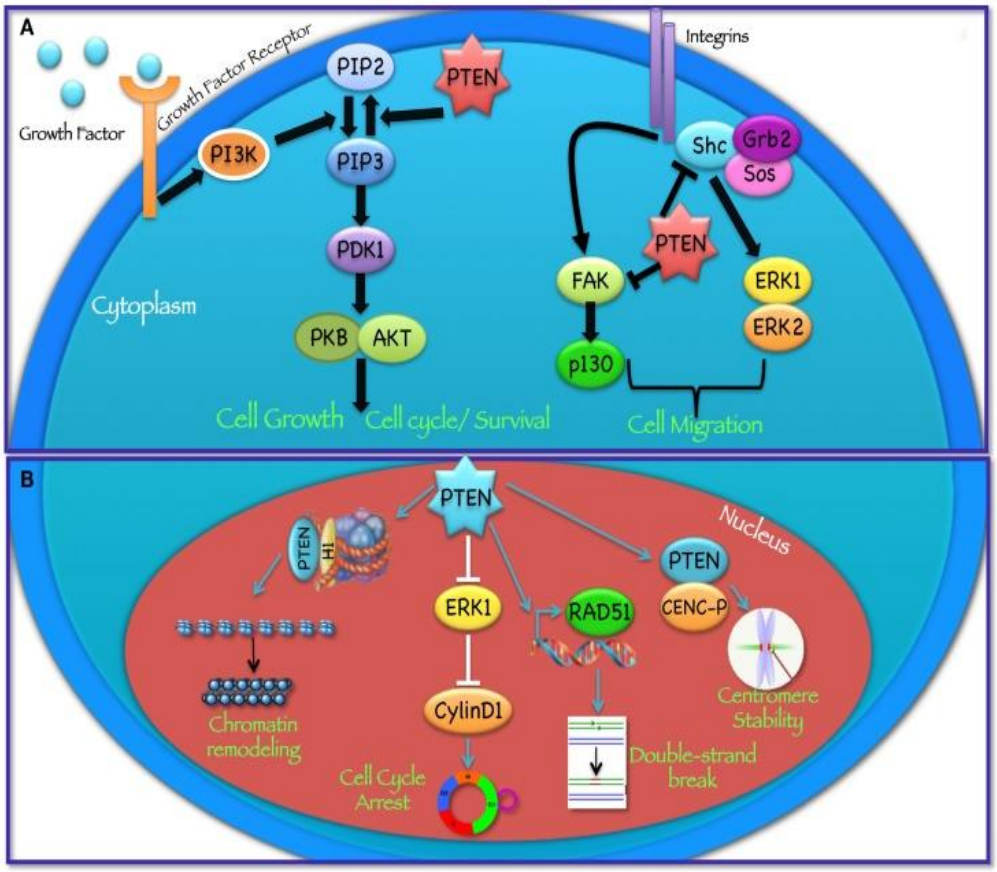
PTEN, sitoskeletal protein tensin ve sekretuar vezikül protein oksilin ve ayrıca çift özgüllük fosfatazlar ile homolojiyi paylaşır. Gerçekte, rekombinant PTEN, hem fosfotirozin hem de fosfotreonin içeren protein substratlarına karşı aktivite sergiler (Myers vd., 1997). Fokal adezyon kinazın PTEN aracılı defosforilasyonundan kaynaklanan aktivite, mitojen aktive olan protein kinaz sinyallemesini de değiştirebilir (Tamura vd., 1998). PTEN'in keşfedildiği andan itibaren önemi bu geni insan kanserinde en yaygın mutasyona uğramış ve silinmiş tümör baskılayıcılarından biri olarak nitelendirmiştir. PTEN seviyeleri, genetik kayıp veya mutasyon yokluğunda bile kanserde sıklıkla aşağı yönde düzenlenmiş olarak bulunur.

PTEN, transkripsiyon faktörleri, mikroRNA'lar, rekabetçi endojen RNA'lar (PTEN psödogeni gibi) ve metilasyon tarafından büyük ölçüde düzenlenirken, PTEN proteininin tümör baskılayıcı aktivitesi, anormal fosforilasyon, ubikitinasyon ve asetilasyon yoluyla çoklu seviyelerde değiştirilebilir. Bu düzenleyici ipuçlarının, PTEN'nin uygun seviyelerinin, lokalizasyonunun ve aktivitesinin değiştirilmesi yoluyla tümörijenezde anahtar bir rol oynadığı varsayılmaktadır. Tüm bu PTEN regülasyon seviyelerinin tanımlanması, sırasıyla, organizma seviyesinde kansere yatkınlık kazandırmak için PTEN seviyesinin / seviyelerinin veya aktivitenin ne kadar düşmesi gerektiği konusunda önemli bir doğal soru ortaya çıkarır (Carracedo vd., 2011). PTEN tümör baskılayıcı geni, insan kanserlerinde sıklıkla kaybedilen bir genomik bölge olan 10q23 kromozomunda bulunur. Bu genin somatik silinmeleri veya mutasyonları, sıklıkla prostat kanserinde olmak üzere tümörlerin büyük bir bölümünde tanımlanmıştır ve böylece PTEN'i insan kanserinde en yaygın mutasyona uğramış tümör baskılayıcı genler arasına yerleştirmiştir (Di Cristofano ve Pandolfi, 2000).

1.3.1.3 PTEN Fonksiyonları

A. Sitoplazmik ve nükleer PTEN fonksiyonları

PTEN, en azından kısmen subselüler lokalizasyon tarafından belirlenen geniş bir biyolojik fonksiyon yelpazesini düzenlemede rol oynar.

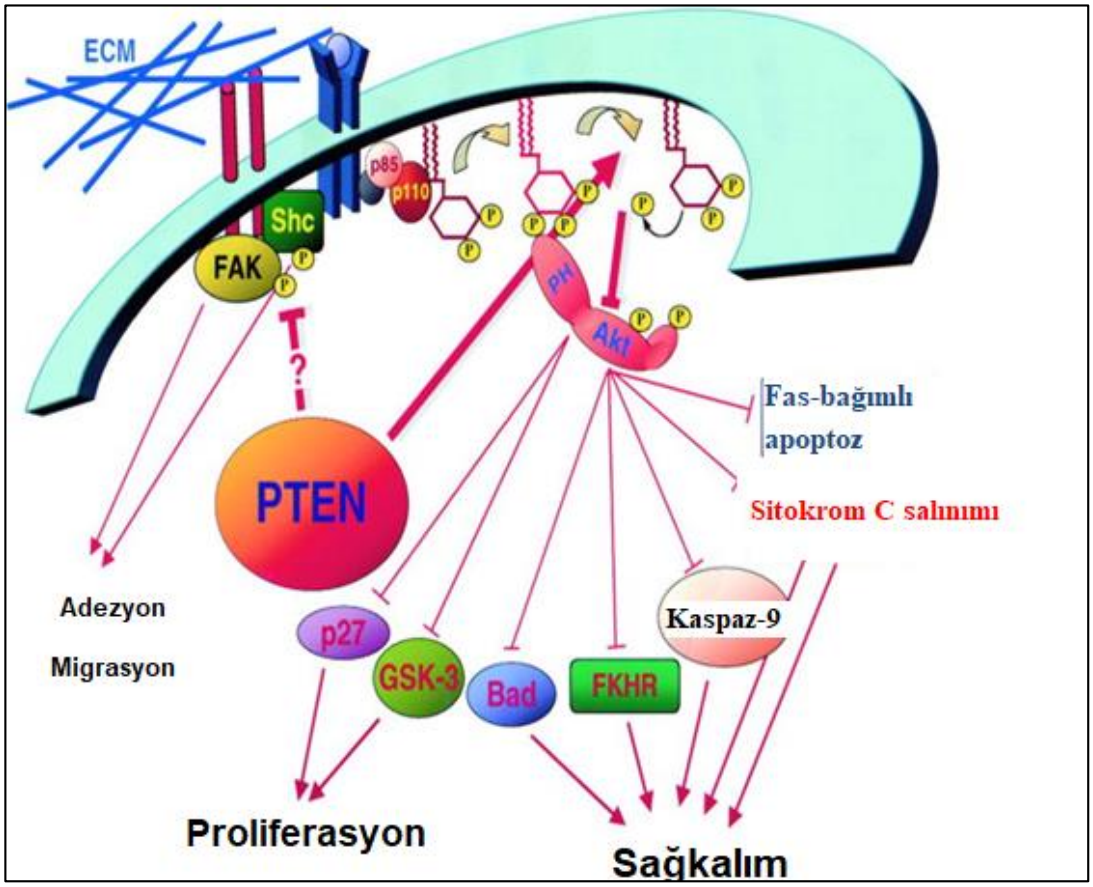


Şekil 1.8 Sitoplazmik ve nükleer PTEN fonksiyonları (Choi, 2018)

(A) Sitoplazmada PTEN, PIP3'ü PIP2'ye defosforile eder, böylece PI3K'nın etkisini tersine çevirir ve döngü ilerlemesi, hücre ölümünün indüksiyonu, transkripsiyon, translasyon, anjiyogenezin uyarılması ve kök hücrenin kendini yenilemesi gibi AKT / mTOR ekseni tarafından kontrol edilen tüm aşağı akış fonksiyonlarını engeller (Şekil 1.8).

B. Hücre Ölümü ve Proliferasyonunun Kontrolünde PTEN'in rolü

PTEN, FAK ve SHC'ye yönelik protein fosfataz aktivitesi yoluyla, hücre göçünü etkileyen karmaşık yolakları modüle eder. PTEN, çekirdekte genomik bütünlüğün korunmasında, DNA çift sarmalı kırılmalarının onarılmasında, homolog rekombinasyonun kontrol edilmesinde ve PLK1 ve AURK gibi onkoproteinlerin ubikitine bağlı bozunmasının teşvik edilmesinde işbirliği yapar. PTEN, ERK fosforilasyonunu ve siklin D1 seviyelerini modüle ederek hücre döngüsü ilerlemesini kontrol eder ve histon H1'e bağlanarak kromatinin yeniden şekillenmesini düzenler (Şekil 9).



Şekil 1.9 Hücre Ölümü ve Proliferasyonunun Kontrolünde PTEN'in Rolü (Di Cristofano vd., 1999)

1.3.1.4 PTEN Kaybı

PTEN, 3-fosfatı PIP3'ten çıkarıp tekrar PIP2'ye dönüştürerek yolağı negatif olarak düzenler. PTEN kaybı, AKT'nin aşırı aktivasyonuna yol açar, bu da kontrolsüz hücre

proliferasyonu, azalmış apoptoz ve artmış tümör anjiyogeneziyle ilişkilidir. PTEN fonksiyonu tümorijenezde önemli bir role sahiptir ve altta yatan mekanizmalar belirsizliğini korur. α-mannosidaz 2C1 (MAN2C1) prostat kanseri (PC) hücrelerinde PTEN fonksiyonunu inhibe eder ve primer PC'de PTEN fonksiyonunda bir azalma ile ilişkilidir.

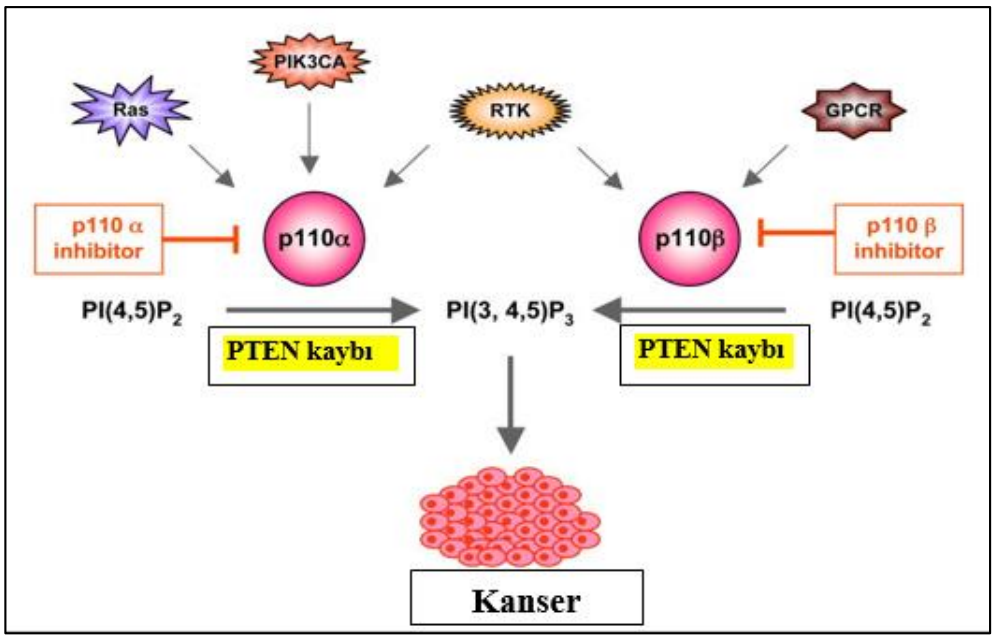
MAN2C1, AKT'yi aktive eder ve endojen PTEN fonksiyonunu bozarak PTEN-pozitif DU145 hücre kaynaklı ksenogreft tümörlerinin oluşumunu destekler. MAN2C1'deki artışlar sadece PTEN pozitif prostatik intraepitelyal neoplazi ve karsinomlarda saptanmıştır ve sadece PTEN-pozitif PC'leri olan hastalarda PC nüksü ile anlamlı bir ilişki göstermiştir. MAN2C1, mekanik olarak PTEN'i bağlayarak PIP (3) fosfataz aktivitesini inhibe eder.

Bu bulgular, MAN2C1'in PC hücrelerinde bir PTEN-negatif düzenleyici olarak işlev gördüğünü (He vd., 2011) ve PTEN'in PIP3'ü defosforile ederek PI3K etkisini antagonize ettiğini göstermektedir. G βγ, guanin nükleotit bağlayıcı protein (G proteini), βy; FKHR, forkhead transkripsiyon faktörü; NFκB, aktive edilmiş B hücrelerinin nükleer faktör kappa-hafif zincir-güçlendiricisi; BAD, Bcl-2 ile bağlantılı ölüm destekleyici protein; SGK, Serum ve glukokortikoid ile indüklenebilir kinaz; PKC, protein kinaz C; GSK3β, glikojen sentaz kinaz 3 beta; mTOR, rapamisinin memeli hedefi; Rac1, Ras ile ilişkili C3 botulinum toksin substratı 1; S6K, ribozomal protein S6 kinaz; LPA, lizofosfatidik asit.

PTEN kaybı, Akt'nin aşırı aktivasyonuna yol açar, bu da kontrolsüz hücre proliferasyonu, azalmış apoptoz ve artmış tümör anjiyogenezi, PI3-kinazın büyüme faktörü veya hücre dışı matris (ECM) bağımlı sinyalleşme ile aktivasyonu ile ilişkilidir. Akt'nin PIP-3'e bağlanması, fosforilasyonuna ve aktivasyonuna izin verir. PTEN'in inaktivasyonu, Nkx 3.1 geninin işlev kaybı, c-Myc protoonkogen veya TMPRSS2-ERG füzyonunun yukarı regülasyonu ile işbirliği yapar (Kim vd., 2002; Carver vd., 2009; Kim vd., 2009; King vd., 2009). Ayrıca, fare prostat tümörlerinde PTEN'in tamamen inaktivasyonunun hücresel yaşlanmaya yol açtığı gözlenmiştir (Chen vd., 2005). Yeni terapötik yaklaşımlar, PTEN fonksiyonunun devre dışı bırakılması yoluyla prostat tümörü hücrelerinin seçici hedeflenmesi için yaşlanmayı

teşvik edebileceği fikrine neden olmuştur (Alimonti vd., 2010). Özellikle prostat kanserlerinde, PTEN azalması veya kaybı, kastrasyona dirençli prostat kanserinin ortaya çıkmasına zemin hazırlar (Mulholland vd., 2006; Shen ve Abate-Shen, 2010). Özellikle, insan prostat kanseri hücre dizilerinde PTEN ekspresyonunun bozulması veya fare prostat kanserlerinde PTEN'in hedeflenen silinmesi, kastrasyon direncinin gelişmesi için yeterlidir (Bertram vd., 2006; Gao vd., 2006; Wu vd., 2006). PI3K yolağının aktivasyonunun, fare ve insan prostat kanserlerinde bastırılmış androjen sinyalleşmesi ile ilişkili olduğu ve daha da önemlisi, üretilen kastrata dirençli fenotipin geri döndürülebilir olduğu gözlenmiştir, çünkü PI3K yolağının inhibisyonu, AR protein seviyelerini ve PTEN eksik hücrelerdeki sinyali geri yükler (Carver vd., 2011).

PTEN, PI3K / AKT sağ kalım yolunun primer negatif düzenleyicisidir ve PCa'da en sık silinen tümör baskılayıcı gendir. Lokalize prostat tümörlerinin %60'ına kadar monoallelik PTEN kaybı mevcutken, PCa'da tam PTEN kaybı metastaz ve androjenden bağımsız progresyon ile bağlantılıdır. Bu bulgular, PTEN-negatif PCa'da PI3K yolağının inhibisyonunun AR'yi yukarı yönlü düzenleyebileceğini ve AR hedef gen ekspresyonunu etkinleştirebildiğini göstermektedir (Carver, Chapinski ve ark., 2011).



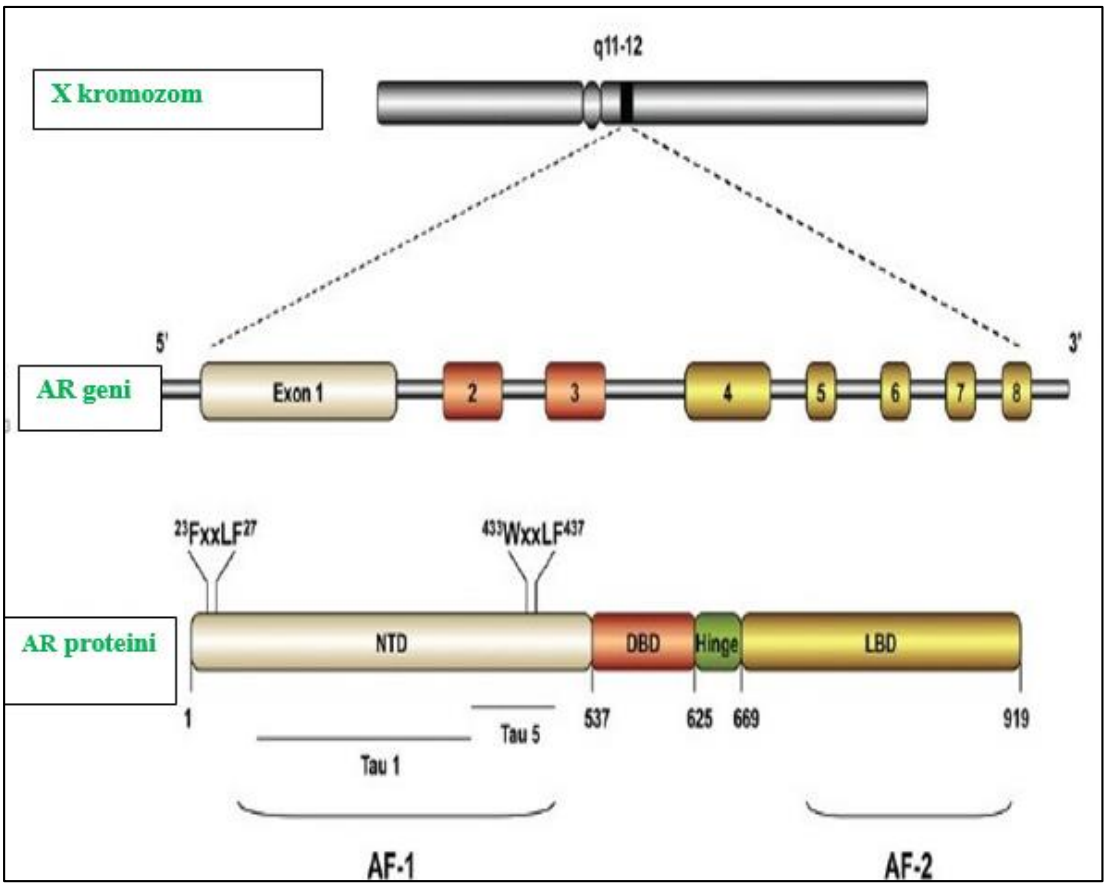
Şekil 1.10 PTEN kaybı (Ramon Parsons, Laura Simpson, Tumor Suppressor Genes. 2003)

Fosfataz ve tensin homologu, insanlarda görülen birçok ileri seviye kanser türünde sıklıkla mutasyona uğrar. Ek olarak, germ hücre dizilerindeki PTEN mutasyonları, Cowden hastalığı olarak bilinen ve meme, tiroid ve endometriyal kanserler de dahil olmak üzere farklı kanserler için daha yüksek riskle ilişkili nadir kalıtsal sendromla sonuçlanır (Simpson ve Parson., 2001).

1.3.2 Androjen Reseptörü (AR)

1.3.2.1 AR Yapısı

İnsan AR geni, bir nükleer transkripsiyon faktörüdür ve genlerin steroid hormon reseptörü süper ailesinin bir üyesidir. X kromozomu (q11-12) üzerinde bulunur ve 8 eksondan oluşur. 110 kDa kütleli 919 amino asitlik bir proteini kodlar (Şekil 11).



Şekil 1.11 Androjen reseptör geninin şematik temsili (Androgen Physiology, 2013)

AR, yapısal ve işlevsel olarak farklı 4 bölgeden oluşur: kötü korunmuş bir N-terminal alanı (NTD), yüksek oranda korunmuş deoksiribonükleik asit (DNA), bağlanma alanı (DBD) ve orta düzeyde korunmuş bir ligand bağlama alanı (LBD). 'Menteşe bölgesi' olarak adlandırılan kısa bir amino asit dizisi, LBD'yi DBD'den ayırır ve ayrıca AR nükleer taşınması için iki taraflı liganda bağımlı nükleer yerelleştirme sinyalinin (NLS) bir parçasını içerir.

AR alanı yapısı ve işlevi, pek çok çalışmada kapsamlı bir şekilde gözden geçirilmiştir. Prostat kanseri, androjen reseptörüne (AR) bağımlılığı ve PI3K sinyallemesinin sık aktivasyonu ile karakterize edilir. Androjen reseptörü (AR) ve PTEN'in her ikisinin de prostat karsinojenezinde önemli rollere sahip olduğu belgelenmiştir. Prostat kanseri (PCa) büyüme ve hayatta kalma için androjenik sinyale bağlıdır ve AR, tedavi edilemez androjen ablasyona dirençli prostat kanserine ilerlemede anahtar rol oynar (Guo vd., 2009). Androjenler, transkripsiyon faktörlerinin steroid hormon reseptör ailesinin bir üyesi olan androjen reseptörüne (AR) bağlanarak hücresel ve fizyolojik etkilerini gösterir.

İnsan AR geni, kromozom Xq11–12 üzerinde bulunur ve bilinen sekiz eksonla yaklaşık 180 kb DNA'yı kapsar (Hu vd., 2009). Androjen reseptörü (AR) primer olarak androjenlerin fizyolojik etkilerine androjene duyarlı elemanlar (ARE'ler) olarak bilinen spesifik DNA dizileri bağlanarak aracılık etmekten sorumludur (Guo vd., 2009). Androjen reseptörü, nükleer reseptör süper ailesine aittir ve liganda bağlı bir transkripsiyon faktörü olarak işlev görür. Androjene yanıt veren öğeye bağlanır ve gen transkripsiyonunu modüle etmek için birlikte düzenleyici faktörleri kullanır.

Ek olarak, androjen reseptörü, forkhead box A1 ve deoksiribonükleik asidi bağlayan ve transkripsiyonu düzenleyen diğer onkojenik sinyal yolak molekülleri gibi diğer transkripsiyon faktörleriyle etkileşime girer. Prostat kanserinin ilerlemesi androjen sinyaline bağlı olduğundan, androjen tükenme tedavisi (ADT), ilerlemiş prostat kanseri için birincil tedavidir. Son on yılda prostat kanseri araştırmalarında çok ilerleme kaydedilmiştir. Androjen yoksunluğu tedavisi (kastrasyona dirençli prostat kanseri) uygulanan metastatik prostat kanseri olan hastaların hayatta kalma oranı büyük ölçüde iyileşmiştir.

On yıldan fazla bir süredir kullanılan dosetaksele ek olarak, son 4 yılda beş yeni ilaç, metastatik kastrasyona dirençli prostat kanserinin tedavisi için ruhsat almasını sağlayan genel sağ kalımda iyileşmelerle etkinlik göstermiştir. Terapötik ortamdaki bu hızlı değişiklik nedeniyle, kastrasyona dirençli prostat kanseri için özel bir tedavi veya en iyi uygulama sırası için hastaların seçimi hakkında bilgi verecek sağlam veriler mevcut değildir. Dahası, yeni ilaçların yüksek maliyeti, birçok ülkede yaygın kullanımlarını sınırlamaktadır. Devam eden klinik ve çeviri araştırmalarından elde edilen verilere, yönetimi iyileştirmek ve en önemlisi kişiselleştirmek için acilen ihtiyaç duyulmaktadır (Attard vd., 2016). ADT başlangıçta tümör gerilemesi için etkili olmasına rağmen, kanserlerin çoğu, iyileştirici tedavinin olmadığı ölümcül kastrasyona dirençli prostat kanserine (CRPC) ilerler. Radikal prostatektomi, lokalize prostat kanseri olan erkeklerde ölüm oranını azaltır (Bill-Axelson vd., 2014).

1.3.2.2 Androjen Reseptörünün Fonksiyonları

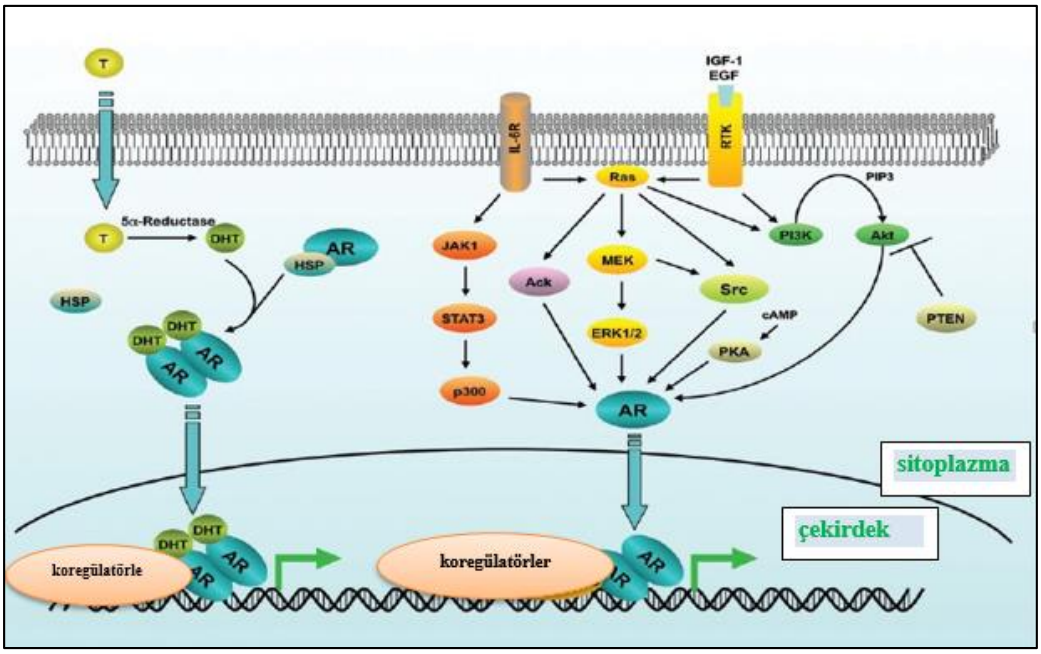
Proliferasyon ve apoptozun androjen regülasyonu dahil olmak üzere prostat kanserinde androjen etkisinin rolü, yakın zamanda Dehm ve Tindall (2006) tarafından gözden geçirilmiştir. AR, PCa progresyonunda kritik bir role sahiptir. Ayrıntılı zayıflama mekanizması ve AR ve ERG transkripsiyonel çapraz konuşma ile ilişkili fonksiyonel sonuçlar şu anda hala belirsizdir. ERG'nin ChIP-Seq analizi, hem hücre çizgilerinde hem de bu transkripsiyon faktörünü aşırı eksprese eden tümör örneklerinde, androjen reseptörü ile çarpıcı bir ortak işgal seviyesi (%44) belirledi (Yu vd., 2010; Chng vd., 2012). AR'nin normal prostat gelişimine katılımı, AR'ye bağlı bölgelerde ETS bağlanma sekanslarının prevalansı ile birleştiğinde, ETS aracılı prostat onkogenezinde rol oynayabilecek bir işbirliği etkileşimi anlamına gelir. Birlikte yapılan immünopresipitasyon deneyleri bir endojen ortaya çıkardı (Yu vd., 2010). PTEN kaybının kastrasyon direncini artırabileceğine dair kanıtlara rağmen, mekanizma hakkında çok az bilgi vardır. Bazı raporlar, PTEN kaybının, AR protein düzeylerinin PI3K aracılı stabilizasyonu veya Akt aracılı fosforilasyon ve AR'nin transkripsiyonel aktivasyonu yoluyla AR'yi aktive ettiğini öne sürmüştür. Aksine, diğer çalışmalar, PI3K aktivasyonunun AR'nin bozulmasını teşvik ettiğini ve AR transkripsiyonel aktiviteyi inhibe ettiğini göstermiştir (Lin vd., 2003; Mulholland vd., 2011). Yine de, PCa'daki iki kritik sağ kalım yolağı arasındaki bu çift yönlü çapraz

etkileşim, hem AR hem de PI3K sinyal yollarını aynı anda hedeflemek için moleküler mantığı sağlar. Dahası, bu iki yolak arasındaki karmaşa ve bağlantı belirsizliğini korumaktadır. İmmünohistokimya yoluyla, azalmış PTEN ekspresyonu ile kombine şekilde hem yüksek AR hem de yüksek PTEN seviyeleri ile prostat kanserlerinde artmış AR ekspresyonu tespit edilmiştir (Wang, 2011; Romigh, 2011; He vd., 2011). AR, çoklu hücresel olayları, proliferasyonu, apoptozu, göçü, istilayı ve farklılaşmayı düzenler.

Prostat kanseri hücrelerinde AR ekspresyonu steroid ve peptid hormonları tarafından düzenlenir. Meyve ve sebzelerde bulunan çeşitli bileşikler tarafından AR aşağı regülasyonu prostat için kemopreventif bir strateji olarak kabul edilir. Prostat kanserinde AR ve mikro-RNA (miRNA) arasında çift yönlü bir etkileşim vardır. Androjenler seçilen miRNA'yı yukarı veya aşağı regüle edebilirken AR'nin kendisi miRNA'nın hedefidir. AR mutasyonları prostat kanserinde keşfedilmiştir ve bunların görülme sıklığı tümör ilerlemesi ile artabilir. AR mutasyonları ve seçilmiş koaktivatörlerin artan ekspresyonu, anti-androjenlerin agonistik özelliklerinin edinilmesine katkıda bulunur. Bazı ortak aktive edicilerin ekspresyonu, androjen ablasyonu sırasında artar. AR aktivitesi, reseptörün maksimal uyarılması için gerekli androjen konsantrasyonunu azaltan sitokinler veya büyüme faktörleri gibi peptitler tarafından düzenlenir. İleri PCa'lı hastaların tedavisi için androjen yoksunluğu tedavisinin (ADT) başlangıçtaki etkinliğine rağmen, çoğu ADT'ye direnç geliştirecek ve metastatik kastrasyona dirençli prostat kanserine (mCRPC) ilerleyecektir. Yapısal olarak transkripsiyonel olarak aktifleştirilmiş AR ekleme varyantları (AR-V'ler), mCRPC'nin gelişimi ve ilerlemesinde kritik oyuncular olarak ortaya çıkmıştır. Bugüne kadar tanımlanan AR-V'ler arasında, AR-V7 (aka AR3) hem PCa hücre dizilerinde hem de insan prostat dokularında en bol bulunanlardan biridir ve sıklıkla bulunur (Xu J., Qiu Y., 2016).

1.3.2.3 Androjen Reseptör Geni Sinyalizasyonu

Androjen reseptörü (AR) sinyal yolağı (Şekil 12), PCa ilerlemesinde önemli bir rol oynar.



Şekil 1.12 Prostat kanserinde ana androjen reseptörü sinyal yolaklarının özeti (Androgen Physiology, 2013)

Dihidrotestosterona bağlandıktan sonra androjen reseptörü çekirdeğe yer değiştirir, hedef genlerine bağlanır ve bunların ekspresyonunu düzenler. Ayrıca dihidrotestosteron yokluğunda veya çok düşük seviyelerde olduğunda androjen reseptörü transaktive edilebilir. Aktive edici sinyaller, insülin benzeri büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü ve Interleukin-6 AR sinyal yolu gibi hücre dışı peptitler dahil olmak üzere, birbirini dışlayan birkaç mekanizmadan kaynaklanır. Ligand bağımlı ve bağımsız mekanizmalar şunlardır: T: testosteron; DHT: 5-dihidrotestosteron; HSP: ısı şok proteini; GF: büyüme faktörleri; RTK: reseptör tirozin kinaz.

AR sinyali prostat kanserinin gelişiminde önemli bir rol oynar. Kanser hücreleri androjene bağımlı bir şekilde çoğalır ve androjen reseptör blokajı prostat kanseri tedavisinde etkilidir. Bununla birlikte, hastalar sıklıkla artmış AR ekspresyonu ve androjene aşırı duyarlılık ile kastrasyona dirençli prostat kanserine evrilirler. Ayrıca fonksiyonel ve klinik çalışmalar, androjen reseptörü ile düzenlenen bazı genlerin prognostik belirteçler ve prostat tedavisi için potansiyel terapötik hedefler olabileceğini göstermiştir. Kanser, özellikle kastrasyona dirençli prostat kanseri, bu nedenle, androjen reseptörü sinyal olaylarının belirlenmesi ve androjen reseptör aktivitesinin düzenlenmesinin araştırılması, karsinojenez mekanizmasının ve

kastrasyona dirençli prostat kanserine ilerlemenin anlaşılması için kritiktir (Takayama K., Inoue S., 2013). Kastrasyondan sonra prostat kanserinin progresyonu, artmış androjen reseptörü (AR) ekspresyonu ve AR blokajına rağmen sinyal verme ile ilişkilidir. Yakın zamanda yapılan araştırmalar, bu aktivitelerin konstitütif olarak aktif AR ekleme varyantlarının oluşumundan kaynaklandığını, ancak bu ekleme varyantlarının mekanizmalarının Normal prostatta androjen reseptörünün (AR) metabolik fonksiyonlarının prostat kanserinde (PCa) tümör büyümesini sağlamak için atlatıldığını göstermektedir ve AR ayrıca, genetik ve epigenetik mekanizmalar yoluyla PCa gelişimi ve progresyonu sırasında yeni büyümeyi teşvik edici işlevler edinebilir.

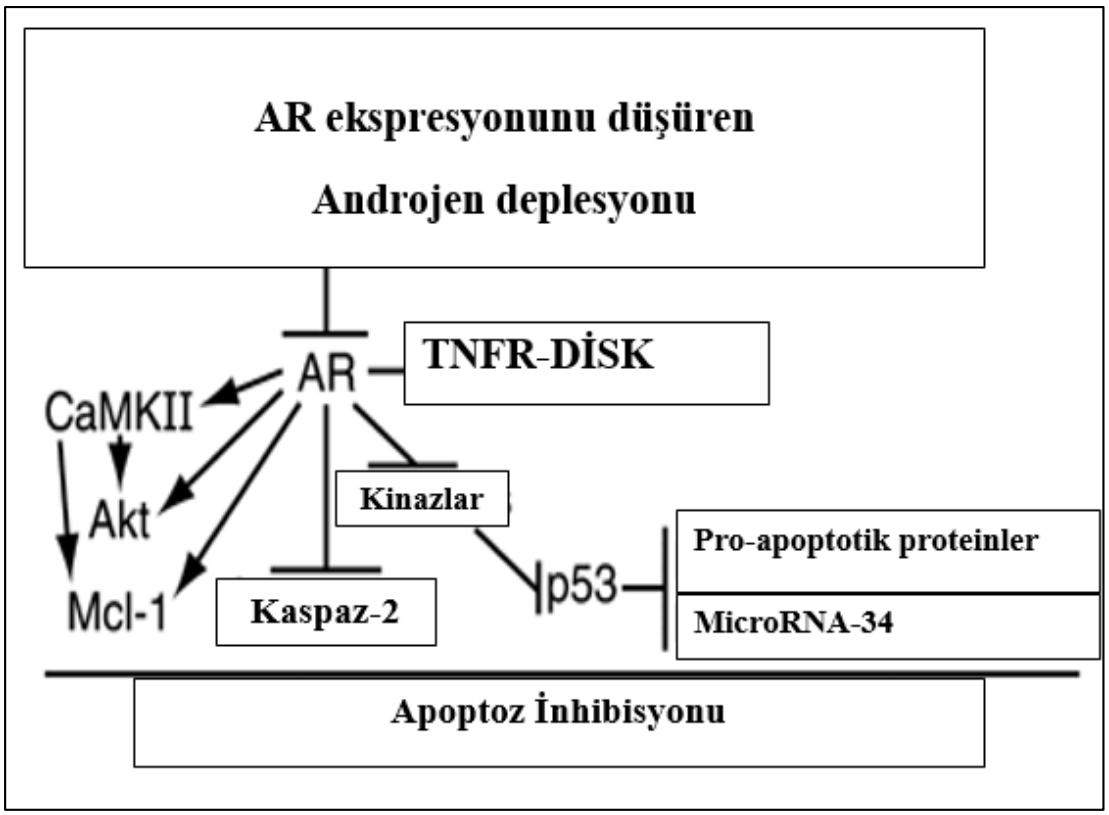
Androjen yoksunluğu tedavisi (ADT, cerrahi veya tıbbi kastrasyon), metastatik PCa için standart tedavidir. Ancak hastalık, kastrasyon androjen seviyelerine (kastrasyona dirençli PCa, CRPC) rağmen, sürekli olarak nüks eder. Bu durum AR sinyalinin aktivasyonu, AR aşırı ekspresyonu, tümör içi androjen sentezi, AR ko-regülatörlerinin indüklenen ekspresyonu ve sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından alternatif AR aktivasyonu gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla CRPC gelişimine katkıda bulunur (Yuan vd., 2014).

1.3.2.4 Androjen Regülasyonu, Apoptoz ve Prostat Kanseri

Apoptoz fizyolojik olarak normaldir ve çok hücreli organizmalar, apoptoz veya programlanmış hücre ölümü için önemli bir süreç ve bunun yanı sıra çok hücreli organizmaların dokulardaki hücre sayısını düzenlemesini ve bir organizma geliştikçe ihtiyaç duyulmayan veya yaşlanan hücreleri ortadan kaldırmasını sağlayan bir hücre intihar mekanizmasıdır (Ellis vd., 1991). Apoptoz, kanser dahil birçok insan hastalığında rol oynar. Prostat kanserinin dönüşümü ve malign progresyonu, prostat epitel hücrelerinin artmış hücre proliferasyonundan ziyade apoptoza girememesiyle düzenlenir.

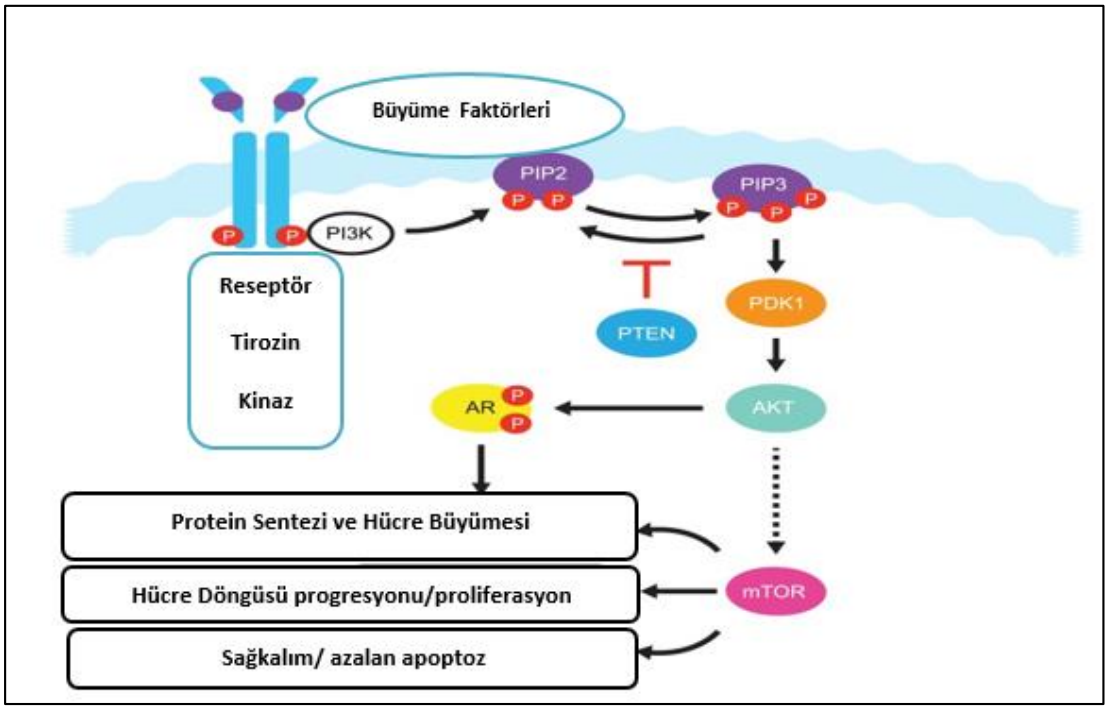
Çoğu prostat kanseri hücresinin temel apoptotik mekanizması bütündür ve apoptoz geçirememe, apoptotik yolların başlatılmasında veya yürütülmesinde başarısızlıkla sonuçlanan moleküler değişikliklerden kaynaklanmaktadır.

Bcl-2 / BclXL, NF-κB, IGF, caveolin ve Akt gibi anti-apoptotik proteinler ve PTEN, p53, Bin1, TGF-β ve Par-4 gibi pro-apoptotik moleküller prostat kanseri progresyonunu düzenlemede rol oynarlar. Bu moleküllerin göze çarpan özellikleri ve apoptozdaki ilişkilerine ek olarak, prostat kanserindeki terapötik potansiyelleri üzerine değerlendirmeler yapılmıştır. Tek başına veya kombine halde, bu proteinlerin ve / veya bunların doğuştan gelen pro- veya anti-apoptotik yolaklarının moleküler hedeflenmesi incelenmiştir (Di Cristofano A, Pandolfi PP 2000, Evan ve Vousden, 2001).



Şekil 1.13 Androgen Regülasyonu, Apoptoz ve Prostat Kanseri

1.3.3 PI3K / PTEN / Akt Yolağı



Şekil 1.14 PI3K/PTEN/Akt yolağı (Sopheap Phin vd., 2013)

PI3K / PTEN / Akt yolağı Büyüme faktörlerinin reseptör tirozin kinaza bağlanması, reseptör kompleksini aktive eder ve bu da PI3K'yı yerine koyar ve aktive eder. Aktive edilmiş PI3K, PIP2'yi PIP3'e dönüştürür, bu daha sonra Akt'nin PDK1 yoluyla fosforilasyonuna aracılık eder. Fosforile Akt, çok çeşitli substratlar üzerinde aktiftir, ancak en önemli hedeflerinden biri, hücre büyümesi, proliferasyonu ve hayatta kalmasında rol oynayan mTOR'dur. Aktive edilmiş Akt ayrıca androjenden bağımsız bir şekilde androjen reseptörü (AR) ile etkileşime girerek, kastrasyona dirençli prostat kanserinde AR sinyal yolunun aşırı aktivasyonuna yol açar. PTEN, 3-fosfatı PIP3'ten çıkarıp tekrar PIP2'ye dönüştürerek yolağı negatif olarak düzenler. PTEN kaybı, Akt'nin aşırı aktivasyonuna yol açar ve bu da, kontrolsüz hücre proliferasyonu, azalmış apoptoz ve gelişmiş tümör anjiyojeneziyle ilişkilidir.

❖ **PI3K Yapısı ve Fonksiyonları**

Mevcut değerlendirmeler, bu sinyal yolağının prostat tümörlerinin %30-50'sinde yukarı regüle edildiğini göstermektedir (De Velasco ve Uemura, 2012; Phin, Moore

vd., 2013). Fosfatidil-inositol-3-kinazlar (PI3Ks), inositol fosfolipidlerde inositol halka 3′-OH grubunu fosforile etme özelliği ile karakterize edilen bir lipid kinaz ailesini oluşturur (Fruman vd., 1998). PI3K sinyallemesi trombositten türetilmiş büyüme faktörü reseptörü (PDGFR), insülin benzeri büyüme faktörü reseptörü (IGFR) ve epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) dahil olmak üzere bir dizi tirosin kinaz reseptörünün aktivasyonu ile başlatılır. Aktive edildikten sonra, bu reseptörler hücre zarında PI3K'yı fosforile eder. Fosforile PI3K ise fosfatidilinositol-4,5-difosfatı (PIP2) fosforile ederek fosfatidilinositol-3,4,5 trifosfat (PIP3) birikmesine yol açar. PIP3, AKT'yi fosforile eden, fosfoinositide bağımlı protein kinaz 1'i (PDK1) AKT ve fosforile AKT (pAKT) aktivitesini, MDM2, c-Myc dahil olmak üzere hücre hayatta kalması ve çoğalmasında yer alan çoklu moleküller gibi geniş bir substrat yelpazesine yayar ve en önemlisi GSK3β tümör oluşumunda önemli bir rol oynayan rapamisinin (mTOR) memeli hedefini aktive eder (Feldman ve Feldman, 2001).

Büyüme faktörü reseptör protein tirozin kinazlarının aktivasyonu, tirozin kalıntıları, fosfatidilinositol-4,4-bifosfat (PI-4,5-P2) üzerinde otofosforilasyon ile sonuçlanır. PI3,4,5-P3 daha sonra, protein serin / treonin kinaz-3′-fosfoinositide bağımlı kinaz 1 (PDK1) ve Akt / protein kinaz B dahil olmak üzere, pleckstrin homolojisi (PH) alanlarına sahip bir sinyal proteinleri alt kümesini (PKB) toplar (Fresno-Vara vd., 2004). Özellikle, NFkB aktivasyonunun geri döndürülemez inhibitörüne maruz kalan lenfoma hücrelerinde anti-apoptotik etkilerin modülasyonunda NFκB ve PI3K / Akt yolakları arasında güçlü bir biyolojik bağlantı IκBα BAY11-7085'in fosforilasyonunda gösterilmiştir (Hussain vd., 2012). Hücre döngüsü ilerlemesi ve hücre büyümesine gelince, aynı mTOR dahil olmak üzere protein sentezi, glikojen metabolizması ve glikojen sentaz kinaz-3 (GSK3), insülin reseptör substratı-1 (IRS-1), sikline bağımlı kinaz inhibitörleri p21CIP1 / WAF1 ve p27KIP1 ve muhtemelen ayrıca MAPK yolunun bir üyesi olan Raf-1'i de içeren hücre döngüsü düzenlemesinde birçok Akt hedefi yer almaktadır.

GSK3 ile ilgili olarak, Akt / PKB, GSK3-of'nin inaktivasyonu yoluyla G1 / S hücre döngüsü ilerlemesini pozitif olarak düzenleyen bir ağı tetikler, bu da siklin D1'in artmasına ve Forkhead ailesi transkripsiyon faktörlerinin ve tümör baskılayıcı tuberin

(TSC2) inhibisyonuna yol açar. Bu durum p27Kip1 azalması ile sonuçlanır (Liang J, Slingerland JM, 2003).

❖ Akt'nin Yapısı ve Fonksiyonları

Akt kinazlar, AMP / GMP kinazlar ve protein kinaz C ile ilgili AGC kinaz ailesine aittirler. Üç korunmuş alandan oluşurlar; bir terminal PH alanı, merkezi kinaz CAT alanı ve düzenleyici bir hidrofobik motif (HM) içerden C- terminal uzantısı (EXT). Akt izoformları arasında PH alanları ~%80 ve pleckstrin ve diğer proteinlerdeki PH alanları ~%30 özdeştir. PH alanını CAT alanına bağlayan bağlayıcı (LINK) bölgesi, Akt izoformları (%17-46 özdeştir) arasında zayıf bir şekilde korunur ve herhangi bir diğer insan proteini ile önemli bir homolojisi yoktur. Konsensüs CAT alanı, Akt izoformları arasında ~%90 özdeştir ve AGC kinaz ailesinin PKC, PKA, SGK ve S6 alt aileleri ile yakından ilişkilidir. C-terminal EXT, Akt izoformları arasında ~%70 özdeştir ve PKC ailesine en yakın olanıdır (Kumar CC, Madison V.2005).

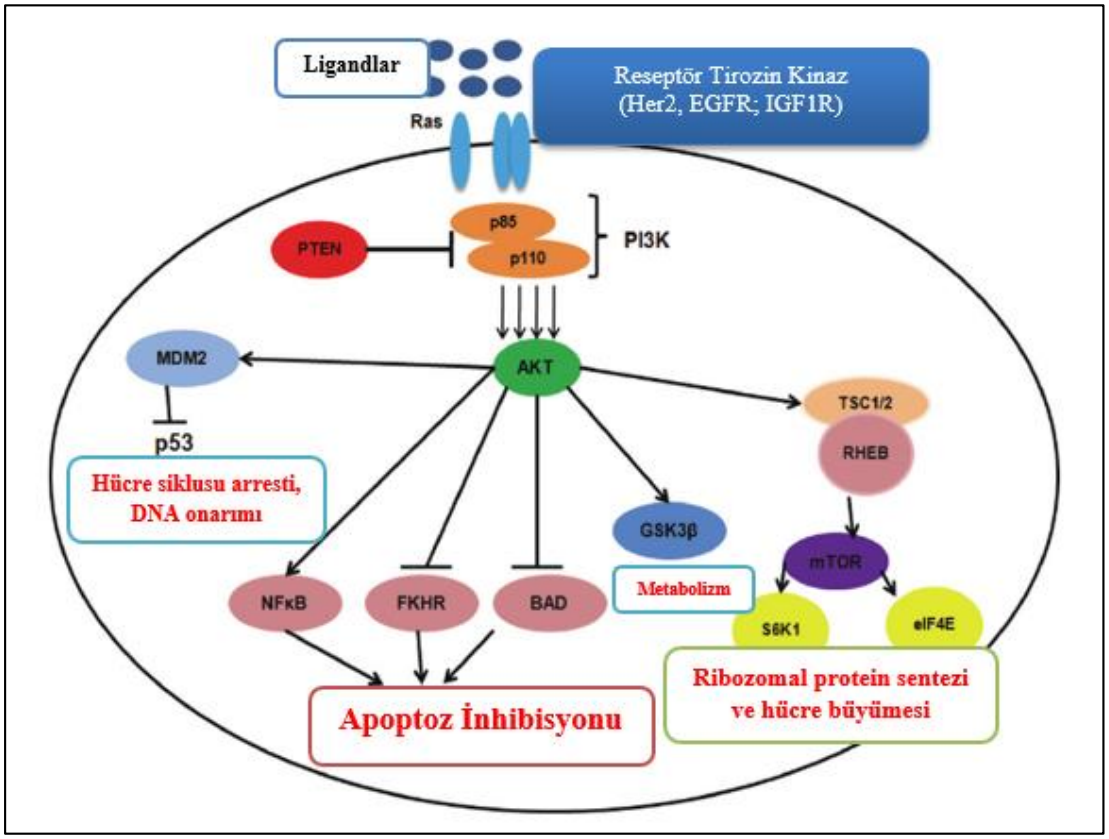
❖ mTOR'un Yapısı ve Fonksiyonları

Aktive edilmiş PI3K'nın en önemli hedeflerinden biri, normal hücrelerde hücre büyümesi, proliferasyonu ve hayatta kalmasında rol oynayan mTOR'dur. mTOR aktivitesi, pozitif ve negatif düzenleyiciler tarafından kontrol edilir (Hay N, Sonenberg N. 2004). Pozitif düzenleyiciler, büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve reseptörü büyümeyi içerir. İnsülin benzeri IFGR-1 gibi faktörler ve reseptörleri, insan epidermal büyüme faktörü reseptörü (HER) ailesinin üyeleri ve ilişkili ligandlar ve vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörleri (VEGFR'ler) ve bunların ligandları, sinyalleri PI3K-Akt aracılığıyla mTOR'a iletir.

mTOR aktivitesinin negatif düzenleyicileri arasında, PI3K-Akt yolağı aracılığıyla sinyalleşmeyi inhibe eden fosfataz ve tensin homologu (PTEN) ve yumrulu skleroz kompleksi (TSC) 1 (hamartin) ve TSC2 (tuberin) bulunur. Akt tarafından TSC2'nin fosforilasyonu, mTOR üzerindeki inhibitör etkisini serbest bırakır ve mTOR aktivitesini yukarı düzenler. Başka bir negatif düzenleyici olan LKB1, TSC'nin yukarısındaki bir enerji algılama yolundadır (Shaw vd., 2004).

Memelilerde rapamisin aktivitesi iki farklı kompleks: mTORC1 ve mTORC2 tarafından taşınır. Rapamisine son derece duyarlıdır ve bu nedenle birinci nesil mTOR inhibitörlerinin hedefini temsil eder. Aynı zamanda S6K'yi aktive eder ve 4EBP1'i inaktive ederek protein translasyonu ve hücre büyümesine öncülük eder (Hay N, Sonenberg N.2004). mTOR aktivasyonunun kanonik yolu PI3K / Akt yolağıyla mitojen güdümlü sinyalleşmeye bağlıdır. Ancak alternatif Akt dışı bağımlı aktivasyon yoluyla Ras / MEK / ERK yolağı artık tanınmaktadır (Memmott RM, Dennis PA.2009).

mTOR aktivasyonu birden fazla proteinin sentezinin artmasına yol açar. Bunlar, çoklu tümörlerin patogenezinde yer alan birkaçını, örneğin hücre döngüsü boyunca hücrelerin ilerlemesine izin veren siklin D1 ve VEGF gibi pro-anjiyojenik büyüme faktörlerinin ekspresyonunu yönlendiren HIF'i içerir (Abraham RT.2004).



Şekil 1.15 PI3K/Akt/mTOR yolağının şematik temsili

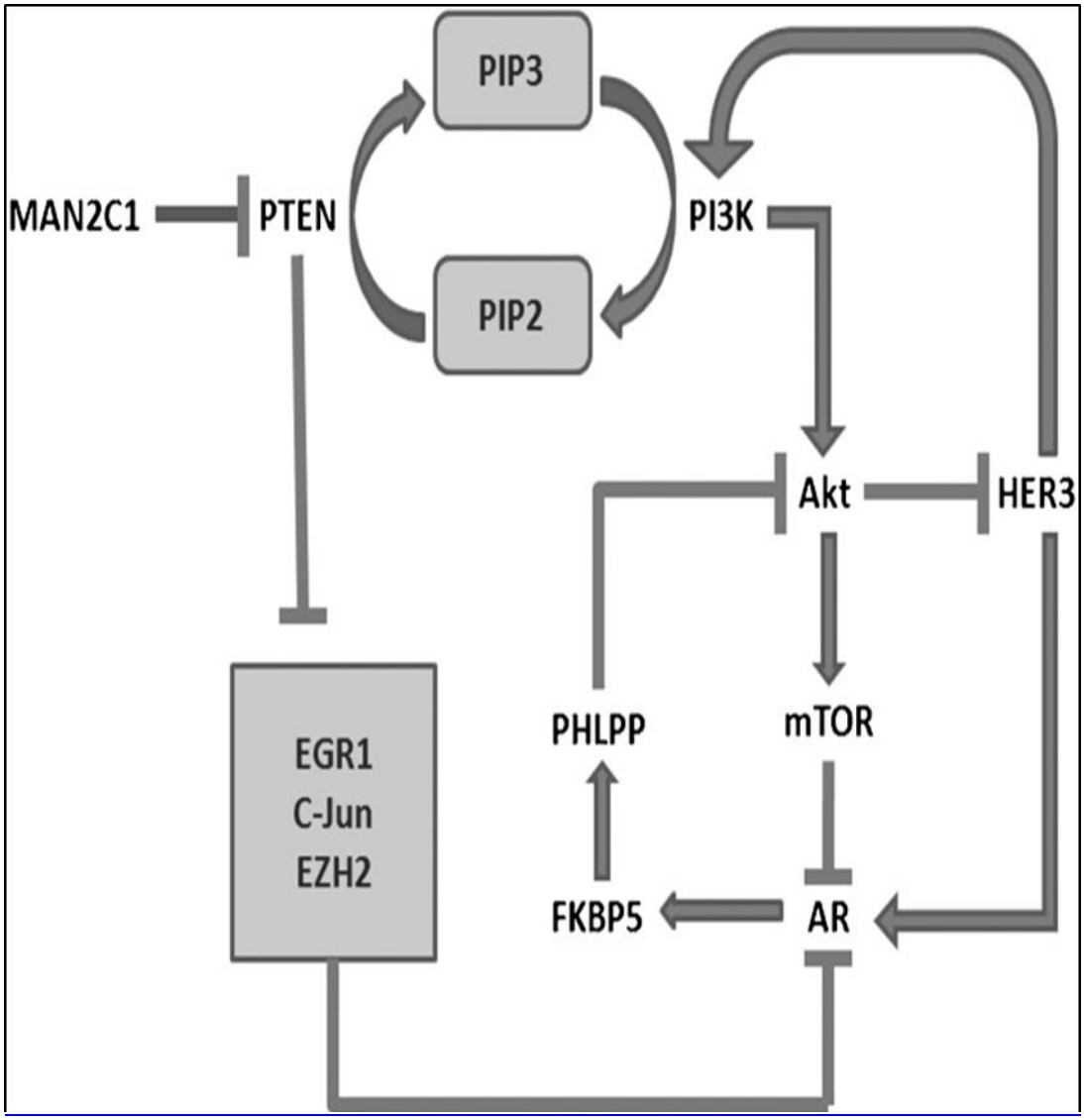
PI3K / Akt yolağı, hücresel stres sırasında hayatta kalmayı sağlayan önemli bir düzenleyicidir. Tümörler, doğası gereği stresli bir ortamda oluştuğundan, bu yolun

kanserdeki rolü çok önemli görünmektedir. PI3K / Akt / mTOR yolu, sonuçta rekabetçi bir büyüme avantajı olan metastatik, hücre büyümesinin ve sağkalımın kontrolünde derin bir bozulmaya neden olur. Yetkinlik, anjiyogenez ve tedavi direnci, bu karmaşık antikanser ajanların geliştirilmesi için en çekici hedeflerden biri olarak dikkate alınmıştır (Chen vd., 2005).

❖ PTEN, AR ve PI3K / Akt / mTOR yolağı ilişkisi

PTEN, PI3K / Akt yolağının aşağı akış yönünde anahtar bir moleküldür. Aktive edilmiş Akt ayrıca androjenden bağımsız bir şekilde androjen reseptörü (AR) ile etkileşime girerek, kastrasyona dirençli prostat kanserinde AR sinyal yolunun aşırı aktivasyonuna yol açar.

PTEN, 3-fosfatı PIP3'ten çıkarıp tekrar PIP2'ye dönüştürerek yolağı negatif olarak düzenler. PTEN'nin fizyolojik fonksiyonunun önemi, kanserdeki sık sık bozulma, fosfoinositid 3-kinaz (PI3K) -AKT - rapamisin (mTOR) yolundaki memeli hedefini lipid fosfataz aktivitesi yoluyla baskılayarak gösterilmektedir. PTEN sağkalım, proliferasyon, enerji metabolizması ve hücresel yapı dahil, çok sayıda hücresel prosesi yönetir. PTEN'in lipit substratı PI3,4,5-P3'tür ve aslında PTEN, PI3K / Akt sinyallemesinin negatif bir düzenleyicisi olarak işlev görür. Bu nedenle, PTEN aktivitesinin kaybı kalıcı PI3K / Akt yolağı aktivasyonuna yol açar.



Şekil 1.16 PTEN, AR ve PI3K/Akt/mTOR yolağı

mTOR, rapamisinin memeli hedefi; PI3K, fosfatidilinositol 3-kinaz; PIP3, fosfatidil inositol 3,4,5-trisfosfat; PIP2, fosfatidilinositol 4,5-bifosfat.

PTEN sinyali, hücre bölünmesini düzenler ve yeterli büyüme gerçekleştiğinde, retinoblastoma proteini aracılığıyla G1 fazlı hücre siklusu arrestini indükleyerek hücreleri doğal bir hücre ölüm yoluna girmeye yönlendirebilir (Paramio vd., 1999; Radu vd., 2003).

PTEN, PI3K sinyallemesinin bir düzenleyicisi olduğundan, bunun bir kaybı, kontrolsüz hücre proliferasyonu, azalmış apoptoz ve artmış tümör anjiyogeneziyle ilişkili olan AKT'nin aşırı aktivasyonuna yol açar. Sonuç olarak, transkripsiyonel

regülasyon, kodlayıcı olmayan RNA'lar ile transkripsiyon sonrası regülasyon, translasyon sonrası modifikasyonlar ve protein-protein etkileşimleri dahil olmak üzere PTEN ekspresyonunu ve fonksiyonunu düzenleyen mekanizmaların tümü kanserde değiştirilir. PTEN fonksiyonlarının repertuvarı, son zamanlarda fosfatazdan bağımsız aktiviteleri ve çekirdek içindeki önemli fonksiyonları içerecek şekilde genişletilmiştir.

Fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K) / Akt ve rapamisin (mTOR) sinyal yolaklarının memeli hedefi, fizyolojik ve patolojik durumlarda (örneğin kanser) hücre büyümesinin ve hayatta kalmasının birçok yönü için çok önemli iki yolaktır. Aslında, birbirleriyle o kadar bağlantılıdırlar ki, bir anlamda tek, benzersiz bir yolak olarak kabul edilebilirler (Carnero vd., 2008).

PI3K / Akt / mTOR yolağı, biyolojik sistemlerde, özellikle kanser hücrelerinde artıklık (redundancy) kavramının iyi bir örneğini temsil eder. Aslında, kanser, sinyalleme devrelerini uyarlayarak, işlevlerini sürdürmek için yolak artıklığı ve geri bildirim ve çapraz konuşma yollarından yararlanarak ve böylece ilaca bağlı büyüme inhibisyonundan ve ölümden kaçarak, tek bir yolu hedefleyen ilaçlarla kronik tedaviye yanıt verir. Ancak, sadece, son derece entegre sinyal yollarının ve bunların engellenmesine karşı direnç mekanizmalarının karmaşık ağını ele alan translasyonel tıp çalışmaları, bizim bir adım daha ileriye gitmemize yardımcı olabilir. (Camillo vd., 2014).

Fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K) / Akt ve rapamisin (mTOR) sinyal yolaklarının memeli hedefi, fizyolojik ve patolojik durumlarda (örneğin kanser) hücre büyümesinin ve hayatta kalmasının birçok yönü için çok önemli iki yolaktır. Aslında, birbirleriyle o kadar bağlantılıdırlar ki, bir anlamda tek, benzersiz bir yolak olarak kabul edilebilirler ve bu da, hipoksiyle indüklenebilir faktörler (HIF'ler) de dahil olmak üzere diğer birçok yolla yoğun bir şekilde etkileşime girer.

PTEN delesyonu ile insan ve murin tümörlerinde AR transkripsiyon çıktısının azaldığı ve PI3K yolağı inhibisyonunun HER kinazların geri besleme inhibisyonunu hafifleterek AR sinyalini aktive ettiği bulunmuştur. Benzer şekilde, AR inhibisyonu, AKT fosfataz PHLPP seviyelerini düşürerek AKT sinyalini etkinleştirir.

Bununla birlikte, PI3K ve AR sinyallemesinin kombine farmakolojik inhibisyonu, PTEN eksikliği olan bir murin prostat kanseri modelinde ve insan prostat kanseri ksenograftlarında neredeyse tam prostat kanseri gerilemelerine neden olmuştur ve bu, her iki yolun da koordine olarak sağkalmayı desteklediğini göstermektedir (Carver vd., 2011).

PTEN / PI3K yolağının değiştirilmesi, geç evre ve kastrata dirençli prostat kanseri (CRPC) ile ilişkilidir. PTEN kaybı, androjen reseptör (AR) transkripsiyon faktörü aktivitesini modüle ederek androjene duyarlı gen ekspresyonlarını baskılar (Mulholland vd., 2011). AR, prostat kanseri hücrelerini androjene bağımlı bir durumdan androjenden bağımsız veya ADI durumuna yönlendirmek için gereken moleküler değişikliklerin temel belirleyicisidir (Chen vd., 2004; Isaacs ve Isaacs, 2004; Roy Burman vd., 2005).

AR ile diğer sinyal iletim yolları arasındaki çapraz konuşma, steroid ko-aktivatörleri ve yardımcı baskılayıcıların ekspresyonunda değişiklikler ve androjenden bağımsız dahil olmak üzere ADI durumunu geliştirmek için başka mekanizmalar da vardır (Isaacs, 2004). Aşırı AR ekspresyonu ile birlikte AR amplifikasyonu, prostat kanseri hücrelerinin duyarlılığını, sonunda androjenden bağımsız prostat kanserinin gelişmesiyle sonuçlanan düşük androjen seviyelerini artırabilir (Linja vd., 2001). AR ekspresyonunun aşağı regülasyonu gerekir. ADI prostat kanserinin tedavisi için temel strateji olarak kabul edilmelidir.

Son zamanlarda, AR'nin kendine özgü androjenden bağımsız bir transkripsiyonel aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Huang vd., 2002) ve bu liganddan bağımsız aktivite, AR yüksek oranda ekspresse olduğunda gözlenmiştir. Prostat kanseri tedavisi direncine aracılık eden yapısal olarak aktif bir AR üretmeye yönelik yeni bir mekanizma, yakın zamanda Dehm vd. (2008) tarafından keşfedildi. İleri prostat kanseri olan hastalar, androjen yoksunluk terapisi (ADT) ile tedavi edilir, ardından hastalık kastrasyona dirençli prostat kanserine (CRPC) ilerlediğinde ikinci nesil AR hedefli tedaviler abirateron ve enzalutamid ile tedavi sürdürülür. CRPC ilerlemesi boyunca kalıcı AR sinyali direncin temelini oluşturur. Kalıcı AR sinyallemesinin bir mekanizması, ligand bağlanma alanından yoksun yapısal olarak aktif AR

varyantlarının (AR-V'ler) sentezidir (Van Etten vd., 2017). Androjen üretiminin ve fonksiyonunun baskılanması, PCa'lı erkeklerde palyasyon sağlar, ancak tedavi sağlamaz. Terapötik başarısızlık ve hormona dirençli PCa'ya (HRPC) ilerlemeye sıklıkla androjen reseptörünü (AR) içeren moleküler değişiklikler eşlik eder (Hu vd., 2009).

1.4 Çalışmanın Amacı

prostat kanseri, dünyadaki erkekler arasında yaygın bir kanserdir. Libya'da genetik çalışmaların olmaması nedeniyle, hipotez prostat kanserinde bazı aktif genlerdeki değişikliklerin hastalık evreleri ve hastalık prognozu sonuçlarına göre olup olmadığının araştırılmasına dayanmaktadır, bu çalışmada prostat kanseri ile ilişkili ana genleri belirlemeyi ve Gerçek zamanlı PCR ile formalin kombine doku örneklerinde (FFPET) PTEN ekspresyonunun ve AR ekspresyonunun değerlendirilmesi

2. LİTERATÜR İNCELEMESİ

Formalinle sabitlenmiş parafine gömülü (FFPE) doku blokları, klinik olarak etkili moleküler değişiklikleri tanımlamak veya geriye dönük moleküler çalışmalar yapmak için yaygın olarak kullanılır. Schweiger vd. (2009), FFPE-DNA için 72 saatlik kontrollü bir fiksasyon kullanılarak, üç yöntemin eşdeğerliğini belirledi ancak hiçbir veri gösterilmedi. QIAamp yedi FFPE örneği için kullanıldı ve kopya sayısı ve mutasyon analizlerinin mümkün olduğunu ortaya çıkardı (Schweiger vd., 2009).

Guyard vd. (2017), DNA'nın daha önce ekstrakte edildiği akciğer, kolon ve ürotelyal kanalın cerrahi olarak rezeke edilen karsinomlarının 46 FFPE örneğini seçti ve ortalama 5.5 yıl saklama süresinden sonra aynı koşullar altında aynı bloklar üzerinde ikinci bir DNA ekstraksiyonu gerçekleştirdi. Florimetri ile DNA miktar tayini, depolamadan sonra DNA miktarında %53 azalma gösterdi. 4 ila 6 yıllık depolamadan sonra, FFPE'nin depolanması için daha iyi koruma stratejilerinin düşünülmesi gerektiği ortaya konuldu (Guyard vd., 2017). Çalışmalar için erişilebilen klinik materyalin çoğu arşiv FFPE bloklarıdır. Klinik materyalin korunmasında yer alan sabitleme ve gömme prosedürlerinin sert doğası nedeniyle, bu numuneler büyük ölçüde parçalanır ve formalin ile kimyasal olarak çapraz bağlanır.

Howe, Karen; 2017'de, gen ekspresyonunu düzenleyen ve osteoporoz, kardiyovasküler hastalık ve çok sayıda kanser endikasyonuna kadar çok sayıda hastalıkta yer alan küçük kodlamayan miRNA'ları inceledi. miRNA'ların, küçük boyutları ve arttırılmış stabiliteleri nedeniyle, bu değerli dokularda elde edilmesi ve üzerinde çalışılması daha kolaydır. FFPE doku bloklarından miRNA ekstraksiyonu için en iyi yöntemi tarif edilmiş ve Qiagen miRNeasy FFPE kitinin bu görev için en iyi kit olduğunu belirlenmiştir (Howe, Karen; 2017).

Gleason derecelendirme sistemi prostat kanserinde en güçlü prognostik göstergelerden biri olmaya devam etmektedir, ancak tümörün yetersiz örneklenmesi biyopsi örneklerine uygulanan Gleason sisteminin önemli bir sınırlaması olmaya devam etmektedir. Gleason derecelendirme sistemi, ağrısız Gleason skoru 3 + 3 = 6 kanserler ve ölümcül potansiyele sahip kanserler arasında ayrım yapmak için mevcut en güçlü

değişkendir, neredeyse tamamının Gleason skoru 3 + 4 = 7 veya daha yüksektir (Pierorazio vd., 2013).

Bir tümör baskılayıcı olan PTEN, genellikle yüksek Gleason derecesi ve yüksek evreli prostat tümörlerinde, sıklıkla PTEN gen delesyonu ile kaybedilir. PTEN durumu ile prostat kanseri arasındaki ilişki daha önce incelenmiştir. Prostat karsinomlu erkeklerin %44-68'inde homozigot veya hemizigot PTEN delesyonları bildirilmiştir (Yoshimoto vd., 2006).

İmmünohistokimya veya floresan in situ hibridizasyon ile tespit edilen PTEN ekspresyonundaki azalma veya kayıp, tutarlı bir şekilde daha yüksek Gleason derecesi, daha büyük tümörler, gelişmiş patolojik evre, ekstraprostatik uzama ve seminal vezikül istilası ile ilişkilendirilmiştir (McMenamin vd., 1999).

Han vd. metastazı olan hastaların %54'ünde PTEN delesyonlarını tespit etti. Bu oran lokalize prostat kanseri olan hastalarda bulunan %17'den önemli ölçüde daha yüksektir (Han vd., 2009).

Yoshimoto vd. PTEN delesyonlarının, hemizigot delesyonlardan daha kötü prognoz taşıyan homozigot delesyonlar ile daha erken bir biyokimyasal rekürens başlangıcı ile ilişkili olduğunu bulmuştur (Yoshimoto vd., 2007).

Halvorsen vd. azalmış PTEN ekspresyonunu artmış biyokimyasal tekrar riski ile ilişkilendirmiştir (Halvorsen vd., 2003).

PTEN güçlü bir tümör baskılayıcıdır ve işlev kaybı sıklıkla hem kalıtsal hem de sporadik kanserlerde görülür. Bu nedenle, PTEN regülasyonu tümör biyolojisinde yoğun bir araştırma konusu olarak ortaya çıkmıştır. Farklı PTEN izoformlarının varlığı ve PTEN'in dimerler oluşturma yeteneği de dahil olmak üzere son keşifler, PTEN işlevi ve düzenlemesinin yeni modlarını açığa çıkarmıştır. Bu dönüm noktası bulguları, PTEN tümör baskılayıcı aktivitesinin restorasyonu yoluyla kanserin önlenmesi ve tedavisi için yeni terapötik yollar açmıştır (Lee, YR; Chen, M .; Pandol fi, PP, 2018).

Prostat kanseri (PCa), davranış değişikliği gösterebilen bir kanser türüdür. Patogeneze dahil olan genlerin ekspresyonunu belirlemek, prognozunu tahmin etmede yardımcı olabilir. Lokalize PCa'lı hastaların biyopsilerinde PTEN'in değerlendirilmesi, yüksek riskli biyokimyasal rekürrens hastalarını tahmin edebilir (Fathi vd., 2018).

Ortalama olarak, erkekler 11,7 yıl takip edildi ve bu süre zarfında 81 ölümcül olay yaşandı. Vakaların yüzde 16'sında tüm doku mikrodizilerinde (TMA) tam PTEN kaybı ve %9'unda çekirdekler arasında heterojen PTEN kaybı vardı. Klinik-patolojik değişkenler için düzeltme yapıldıktan sonra, tam PTEN kaybı, ölümcül ilerleme ile ilişkilendirildi (Ahearn vd., 2016).

Prostat kanserinde fosfataz ve tensin homologunun (PTEN) silinmesi, bir prostat kohortunda PTEN kaybının durumunu değerlendirmek için yapılan çalışmada erken biyokimyasal nüks, artmış metastatik potansiyel ve androjen bağımsızlığı ile ilişkilendirilmiştir. Ürdün'den prostat kanseri hastalarından oluşan bir kohortta PTEN kaybının durumunun değerlendirilmesine yönelik bir çalışmada, 71 prostat kanseri hastası ve benign prostat hiperplazisi (BPH) olan 52 kontrol hastası incelenmiştir. PTEN durumu immünohistokimya ile değerlendirilmiştir. Ekson 1, 2, 5 ve 8'deki PTEN mutasyonları da polimeraz zincir reaksiyonu tek sarmallı konformasyon polimorfizmi (PCR-SSCP) ile değerlendirilmiştir. İmmünohistokimya ile değerlendirilen 71 prostat kanseri vakasının 42'sinde (%59,2) PTEN kaybı saptanmıştır. Aksine, 52 BPH vakasının 51'inde (%98.1) sağlam PTEN varlığı belirlenmiştir. PCR-SSCP ile değerlendirilen 24 prostat kanseri vakasının bir alt kümesinde, 15 (%62,5) vakada PTEN mutasyonları bulmuş, ancak BPH kontrollerinin 22'sinde (%91,7) PTEN mutasyonları bulunmamıştır. Ürdün'deki prostat kanseri hastalarında PTEN kaybı sıklığının, Doğu Asya'daki benzer kohortlardan daha yüksek bulunduğu ve Kuzey Amerika ve Batı Avrupa'daki ilgili kohortlarda bildirilen PTEN kaybı sıklığı aralığının en yüksek ucunda yer aldığı belgelenmiştir. Daha yüksek GS / GG'li kanserlerde daha sık PTEN kaybı olmasına rağmen, bu istatistiksel olarak anlamlı değildi (Al Bashir; vd., 2019).

Androjenler ve androjen reseptörü (AR) sinyali, prostat kanseri onkogenezinin ve hastalığın ilerlemesinin ayırt edici özellikleridir. Schweizer vd, AR sinyalleşme alanının prostatik ve diğer malignitelerde tanıtımını yapmışlardır. Medikal literatür, prostat kanserinde androjenlerin / AR'nin rolünü inceleyen çalışmalarla doyurulurken, diğer insan malignitelerinde AR yolunun potansiyel önemine daha az dikkat edilmiştir. AR'nin prostat kanserindeki biyolojik ve terapötik rollerini açıkladıktan sonra araştırmacılar, meme kanseri, mesane kanseri, böbrek kanseri, pankreas kanseri, hepatosellüler kanser, yumurtalık ve endometriyal kanserler, manto hücresi lenfoma ve tükrük bezi kanserleri dahil olmak üzere diğer tümör türlerinde AR'ye yönelik tedavileri destekleyen kanıtları gözden geçirmişlerdir (Schweizer, MT; Yu, EY2017). Bunu Crumbaker ve diğerleri tarafından yapılan, prostat kanserinde AR ve PI3 kinaz sinyallemesi arasındaki etkileşimi özetleyen, prostat kanserinde PI3K yolağının rolünü özetleyen ve prostat kanserinde terapötik bir strateji olarak AR ve PI3K'nın ikili hedeflemesinin potansiyel klinik faydasını gözden geçiren bir araştırma takip etmektedir (Crumbaker vd., 2017).

Obinata ve diğerleri tarafından yapılan bir sonraki inceleme, AR ile diğer işbirlikçi transkripsiyon faktörleri (FOXA1, GATA2 ve OCT1 gibi) arasındaki etkileşimi daha derinlemesine incelemiş ve AR'yi özellikle de aday bileşik olarak pirol-imidazol poliamide odaklanarak bu transkripsiyonel işbirlikçilerden bazılarıyla birlikte hedeflemek için yeni stratejiler önermiştir (Obinata vd., 2017).

Bunu Eisermann ve diğerleri tarafından yayımlanan bir inceleme makalesi takip etmektedir. Bu çalışma, prostat kanserinde AR, anjiyogenez ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) arasındaki etkileşimleri, VEGF regülasyonunun hormon aracılı mekanizmalarını ve anjiyogenezin potansiyel düzenleyicileri olarak hem AR hem de hipoksiyi hesaba katan potansiyel terapötik stratejileri tartışmaktadır (Eisermann, K .; Fraizer, G. 2017).

Leach vd. (2017) tarafından yazılan bir sonraki makale, prostat kanseri bağlamında stromal kompartmanda (esas olarak fibroblastlarda ve miyofibroblastlarda) önemli ancak yeterince çalışılmamış AR sinyali konusunu gözden geçirerek, stromal AR

aktivitesinin bu hastalığın prognozunu ve ilerlemesini güçlü bir şekilde etkilediğini düşündürmektedir (Leach, DA; Buchanan, G. 2017).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Formalinle fikse edilmiş parafine gömülü doku (FFPET) örnekleri çalışması

Tüm klinik örnekler, Tripoli Üniversitesi TMC'deki Patoloji Laboratuvarı Bölümü Etik Komitesi tarafından onaylanmıştır. Doku örneği toplama sürecinde, bilgilendirilmiş onam alındıktan sonra, tüm hastalar dahil edilme kriterlerine göre seçilmiştir: Histopatolojik sonuçlar iğne biyopsi örneklerinin %'si PC veya BPH destekli ve normal.

❖ **Formalinle fikse edilmiş parafine gömülü doku (FFPET) örnekleri:**

Formalinle fikse edilmiş parafine gömülü dokular (FFPET) genomik çalışmalar için mevcut en büyük arşiv biyolojik materyal kaynağını oluşturur.

Bu çalışmada, çeşitli moleküler çalışmalarda uygulanabilen FFPET'ten yüksek kaliteli DNA ekstraksiyonu için gelişmiş bir protokol sunulmuştur. PCa hastalarına karşılık gelen formalinle fikse ve parafine gömülü (FFPE) bloklar, Tripoli Üniversitesi Tripoli Tıp Merkezi Patoloji Laboratuvarı Bölüm arşivlerinden elde edilmiştir. 2009 ve 2017 arasındaki dönemde elde edilen PCa örnekleri üç grupta sınıflandırılmıştır: normal örnek (kontrol), iyi huylu ve tümör örnekleri. Hastalar ve doku verileri özetlenmiştir. Çalışma, Patoloji Laboratuvar Bölümü Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. etik izin referans numarası (TMC.PD.10.2018)

3.2 Araştırma Popülasyonu

Bu çalışmaya, 2009-2017 yılları arasında hastalar tarafından tamamlanan iki takip anketi ve tıbbi kayıtların gözden geçirilmesi yoluyla elde edilen verilerle belirlenen 70 erkek dahil edildi. Gerektiğinde hekim takip raporları ile toplanan verilerden yararlanıldı.

Hastalar, ameliyat sonrası bir operasyon bildirirlerse, prostat kanseri rekürrensi olarak sınıflandırıldı.

3.3 Malzemeler

%100 Ksilen

%100 Etanol

%100 Kloroform

Sodyum sitrat

%100 Izopropil alkol

TRI Reaktifi

ZAP

Steril cerrahi bıçak

2 ml mikrosantrifüj tüpü

1 ml pipet uçları TRI reaktifi ile RNA İzolasyonu

3.4 İşlem Basamakları

3.4.1 Doku örnekleri hazırlamak ve ekstraksiyonu

A. Doku örnekleri hazırlamak

İşleme başlamadan önce inkübatörün 50°C'ye ayarlanması,

Tezgâhın temizlenmesi ve ZAP püskürtülmesi,

Bir mikrotom kullanarak parafin bloğunun içinden 20 μm'lik kesitlerin kesilmesi (saklama sırasında atmosfere maruz kalma sonucunda nükleik asidin zarar görme riskini en aza indirmek için),

Örnekleri tüplere koymadan önce fazla parafinin temizlenmesi ve örneklerin küçük parçalara ayrılması,



Şekil 3.1 Doku örnekleri hazırlamak

ksilen ile deparafinleştirme, Tüplere 1 ml%100 ksilen eklenmesi ve tüplerin 50 ° C'de 3 dakika inkübe edilmesi,

1 dakika boyunca 12.000 g'de ve 4°C'de santrifüjlenmesi,

3. ve 4. adımın tekrarlanması



Şekil 3.2 dakika boyunca 12.000 g'de ve 4°C'de santrifüjlenmesi

Pelletin 1 ml%100 etanol ile yıkanması ve havayla kurutulması,

5. adımın tekrarlanması,

B. RNA ekstraksiyonu

Proteinaz K ile sindirim Her numuneye 500 µg / ml proteaz K içeren 150 µl 1x Proteinaz K sindirim tamponunun eklenmesi ve 55 ° C'de 3 saat inkübe edilmesi,

Homojenizasyon Her numuneye 1 ml TRI reaktif eklenmesi, sonrasında 15 saniye kuvvetlice vortekslenmesi ve oda sıcaklığında en az 5 dakika inkübe edilmesi,

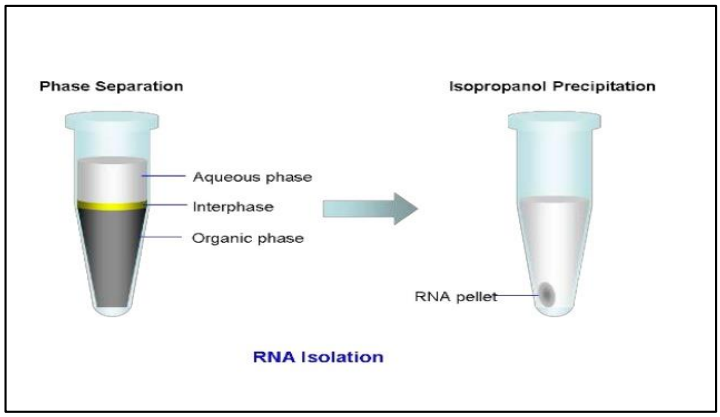


Şekil 3.3 15 saniye kuvvetlice vortekslenmesi

Her örneğe 200 µl Kloroform eklenmesi, 15 saniye kuvvetlice vortekslenmesi ve oda sıcaklığında en az 2-3 dakika inkübe edilmesi,

1 dakika boyunca 12.000 g'de ve 4°C'de santrifüjlenmesi,

Sulu Fazdan RNA'nın Çökeltilmesi



Şekil 3.4 Sulu Fazdan RNA'nın Çökeltilmesi

500 µl sodyum sitrat ve 600 µl izopropil alkol eklenmesi ve -20°C'de 1 saat beklenmesi,

1 dakika boyunca 12.000 g'de ve 4°C'de santrifüjenmesi,

Süpernatantın atılması,

RNA'nın %75 Etanol ile yıkanması, kısa süre havayla kurutulması ve RNaz içermeyen suda çözünmesi.

GAPDH, PTEN ve AR Genleri için Primerler ve problar

SCRIPT cDNA Sentez Kiti, basit kullanım ve yüksek esnekliği birleştiren tek bir kutuda ilk sarmal cDNA sentezi için gerekli tüm reaktifleri içerir. Üstün kaliteli Reverse Transcriptase, ultra saf dNTP'ler ve optimize edilmiş bir reaksiyon tamponu, en yüksek tekrarlanabilirlik ile üstün sonuçlar sağlar. Kit, çok çeşitli primer-şablon kombinasyonlarında yüksek verimlilik için optimize edilmiştir.

TaqMan PCR, bir tür gerçek zamanlı PCR'dir. Kullanılan TaqMan PCR: -

hs 03929097_ g 1 (GAPDH)

hs 2621230 _ s1 (PTEN)

hs 00171172_ m 1 (AR)

Problar, floresan etiketli DNA oligonükleotidleridir. PCR reaksiyonu sırasında primerlerden birinin aşağı akışına bağlanmak ve reaksiyon sırasında bir flüoresan sinyali vermek için tasarlanmıştır. Probun 5 'ucu, bir floresan haberci molekül ile etiketlenmiştir

GAPDH, PTEN ve AR Genleri için Primerler ve problar

GAPDH	İleri Sıra	GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG
	Ters Sıra	ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA
PTEN	İleri Sıra	TGAGTTCCCTCAGCCGTTACCT
	Ters Sıra	GAGGTTTCCTCTGGTCCTGGTA
AR	İleri Sırası	ATGGTGAGCAGAGTGCCCTATC
	Ters Sıra	ATGGTCCCTGGCAGTCTCCAAA

3.4.1.2 cDNA sentezi ve cDNA reaksiyonu

cDNA sentezi, Jena Bioscience'ın (Alman menşeli Kat no: PCR511) Script cDNA sentez kiti kullanılarak gerçekleştirildi ve tüm işlemler buz içerisinde yapıldı. RT-qPCR, başlangıç materyali RNA olduğunda kullanılır, RNA, ters transkriptaz ile toplam RNA veya mRNA'dan cDNA'ya kopyalanır, cDNA daha sonra qPCR reaksiyonu için bir şablon olarak kullanılır. RT-qPCR, gen ekspresyon analizi dahil olmak üzere çeşitli uygulamalarda kullanılır tüm RNA konsantrasyonları, cDNA sentezinden önce eşitlendi. Reaksiyon, toplam hacim 20 uL olacak şekilde numune başına aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi:

Tablo 3.1 Reaktifler cDNA sentezi

Reaktifler	Hacim (µL)
RNAz içermeyen su	10,5
Script RT buffer	4
dNTP karışımı	1
Primer	0,5
DTT	1
RNAz İnhibitörü	0,5
RT enzimi	0,5
RNA ürün	2

Hazırlık, pipetleme ve dağıtım:-

Hazırlanan reaksiyon karışımı pipetlemeden sonra kuyucuklara bölüştürüldü ve ardından RNA ürünleri dağıtıldı

Daha sonra, Biorad CFX Connect cihazı üzerinde 96 bölmeli plakalara yerleştirilen standart ve numune karışımları yerleştirilerek reaksiyon aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi:

3.4.1.3 Gerçek zamanlı PCR protokolü

Gerçek Zamanlı PCR, Jena Bioscience'dan (Almanya Kat no: PCR 372) qPCR Sybr Master Mix kiti kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm işlemler buzda yapıldı. Reaksiyon hacmi 20 ul olacak şekilde gerçekleştirildi. Bunun için 0.6 ul ileri primer, 0.6 ul ters primer, 6.8 ul PCR dereceli su, 10 ul qPCR SybrMasterMix ve 2 ul cDNA içeren bir reaksiyon karışımı hazırlandı. Daha sonra, Biorad CFX Connect cihazı üzerinde 96 bölmeli plakalara yerleştirilen standart ve numune karışımları yerleştirilerek reaksiyon aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi:

* Cihaz protokolünde okuma, soğutma ve uzatma adımlarının sonuna eklendi. Ayrıca, reaksiyonun sonuna erime eğrisi protokolü eklendi.



Şekil 3.5 Biorad CFX Connect cihazı

Tablo 3.2 PCR sürecinin 3 temel adımı

Adım	Sıcaklık ºC	Süre	Döngüler
İlk denatürasyon ve polimeraz aktivasyonu	95ºC	2 dakika	1 döngü
Denatürasyon	95ºC	15 saniye	40 döngü
Yeniden birleşme ve uzama	60-65ºC (Primerin erime sıcaklığına göre değişir.)	1 dakika	

- Ters transkripsiyon ve kantitatif gerçek zamanlı PCR

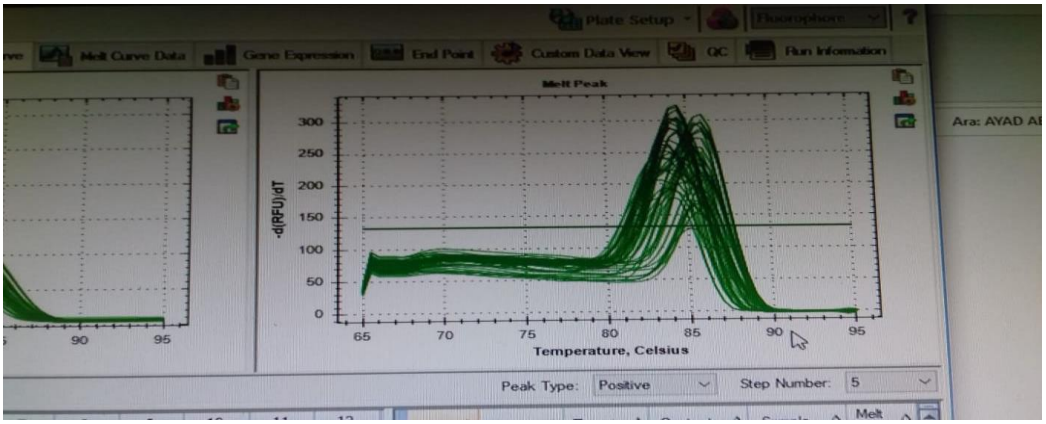
- RT-PCR prosedürü:

Primerler, incelemeyi yaptığımız genler için tasarlandı ve genler PTEN ve Androjen reseptör genidir.

- RT-PCR adımları

Axam ekspresyonu Biorad CFX 100 Thermal Cycler cihazında yapılmıştır.

Amplifikasyon verimliliği: Reaksiyonun, bir örnekte belirli miktarda giriş RNA'sını amplifiye etme yeteneğidir



Şekil 3.6 Real time PCR sonucunda melting curve analizi

C T CT: Döngü Eşiği, floresan sinyalin eşiği geçmesi için gereken döngü sayısıdır

ΔC T ΔCT: İki CT CT değeri arasındaki fark (örneğin CT, c − myc −CT, GAPDH CT, c − myc − CT, GAPDH)

ΔΔC T ΔΔCT: İki ΔC T ΔCT değeri arasındaki fark (örneğin ΔC T, Tedavi −ΔC T, Tedavi ΔCT, Tedavi − ΔCT, Tedavi)

Referans gen: İlgili gruplar arasındaki ekspresyonunu değiştirmediği bilinen bir gen, dolayısıyla sinyalindeki herhangi bir değişiklik PCR'nin amplifikasyonundan kaynaklanmalıdır. Normalleştirme için kullanılır (örneğin GAPDH veya β β -aktin).

Referans grubu: Karşılaştırmalı olarak mRNA seviyesini ifade etmek için kullanılan deneysel bir grup. Kalibrasyon için kullanılır (ör. kontrol veya 0 zaman noktası).

Standart: Bilinen konsantrasyonda bir numune

3.4.1.4 Analiz Yöntemleri

Bir örnekteki mRNA miktarının mutlak nicelleştirilmesinin tersine, göreceli niceleme, bu referanslara göre ilgili mRNA'nın miktarını belirlemek için bir dahili kontrol

(referans gen) ve / veya bir kontrol grubu (referans grubu) kullanır. Bu göreceli miktar tayini, qPCR içeren biyo-tıbbi uygulamaların çoğunda sonuç çıkarmak için yeterlidir. Bu göreceli miktar tayini yapmak için birkaç yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemler, farklı varsayımlara ve modellere ihtiyaç duyar. Bu yöntemlerden en yaygın kullanılan iki tanesi burada açıklanmaktadır.

3.4.1.5 Karşılaştırmalı C T CT Yöntemleri

Kantitatif gen ekspresyonunu sunmanın iki farklı yöntemi mevcuttur:

A) Mutlak niceleme, genellikle PCR sinyalini standart bir eğri ile ilişkilendirerek genin kopya sayısını hesaplar.

B) Bağıl gen ifadesi, bazı kalibratör veya dahili kontrol genine göre ilgilenilen genin verilerini sunar. Nispi gen ekspresyonunu sunmak için yaygın olarak kullanılan bir yöntem, 2-ΔΔCT yöntemi olarak da adlandırılan karşılaştırmalı CT yöntemidir.

Karşılaştırmalı C T CT yöntemleri, ilgili genin / genlerin cDNA şablonlarının yanı sıra kontrol / referans geninin de benzer amplifikasyon verimliliğine sahip olduğunu ve bu amplifikasyon verimliliğinin mükemmele yakın olduğunu varsayar. Diğer bir deyişle, PCR reaksiyonunun doğrusal bölümü sırasında belirli bir eşikte, ilgili genin ve kontrol geninin miktarı, her döngüde iki katına çıkar. Diğer bir varsayım, iki gen veya iki örnek arasındaki ifade farkının, birinden (ilgili gen veya ilgili örnek) diğerinden (referans) çıkarılmasıyla elde edilebileceğidir. Bu son varsayım aynı zamanda bu referansların söz konusu tedavi veya seyir ile değişmeyecek olmalarını gerektirir.

Çift delta C T CT modelinin formal türevleri burada açıklanmaktadır (Livak ve Schmittgen 2001). Özetle,

ΔΔC T ΔΔCT şu şekilde verilir:

$$\Delta\Delta C\,T = \Delta C\,T,q - \Delta C\,T,cb \quad \Delta\Delta CT = \Delta CT,q - \Delta CT,cb$$

Rölatif gen ekspresyon düzeyi ise şu şekilde verilir:

2 −ΔΔC T 2−ΔΔCT

Burada:

- ΔC T,q ΔCT,q ilgili bir genin ve bir ilgilenilen gruptaki bir referans genin (veya genlerin) C T CT'sindeki farkıdır.
- ΔC T,cb ΔCT,cb ilgili bir genin ve bir referans grubundaki bir referans genin (veya genlerin) C T CT'sindeki farkıdır.

3.4.1.6 Standart Eğri Yöntemleri

Bu model mükemmel amplifikasyonu vermeyebilir. Bunun yerine rölatif ekspresyonu hesaplarken amplifikasyonu aktif olarak kullanır. Bu nedenle, tüm genlerin amplifikasyon verimliliği %100 olduğunda, her iki yöntem de benzer sonuçlar vermelidir. Standart eğri yöntemi iki adımda uygulanır. İlk olarak, ilgili örneklerden elde edilen mRNA'nın seri haldeki dilusyonları, PCR reaksiyonunun inputu olarak kullanılır. Log input miktarının doğrusal trendi ve her gen için CT CT sonuç değerleri, bir kesişme ve bir eğimi hesaplamak için kullanılır. İkinci olarak, bu kesişimler ve eğimler, ilgili genlerin mRNA miktarlarını ve ilgili numunelerdeki kontrol / referans ve kontrol numunesi / referansı hesaplamak için kullanılır. Bu miktarlar, son basamakta rölatif ekspresyonu ikinci yönteme benzer bir şekilde, çıkarma yerine bölme kullanarak hesaplamak için kullanılır.

Modelin formal derivasyonu burada açıklanmaktadır (Yuan vd. 2006). Özetle,

Bir numunedeki RNA miktarı şu şekilde hesaplanır:

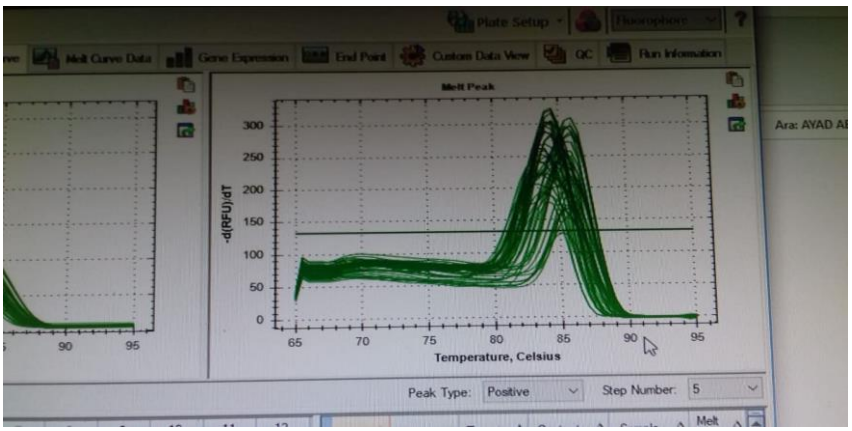
logamount=C T −bm log$f_0$amount=CT−bm

Ve rölatif ekspresyon şu şekilde hesaplanır:

10 logamount 10log$f_0$amount

3.4.1.7 qPCR Kalite Değerlendirmesi

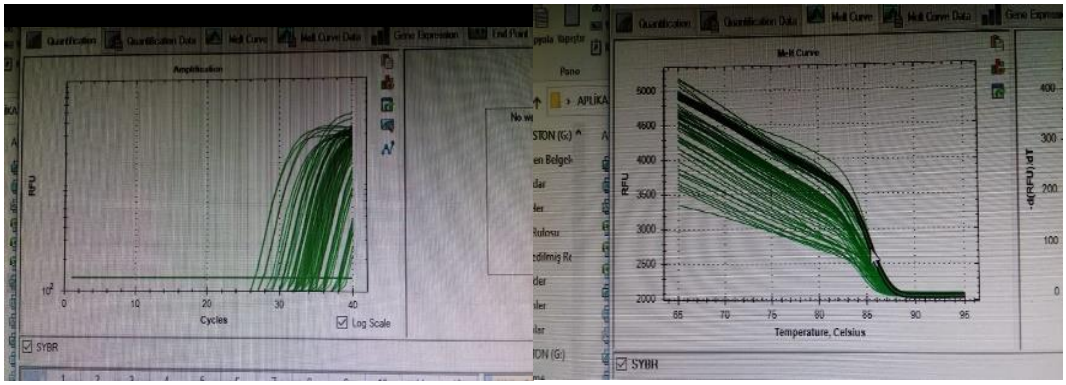
qPCR verilerinin analizinde kullanılan yöntem ne olursa olsun, kalite değerlendirmesi benzer şekilde yapılır. Standart eğrinin hesaplanmasına benzer bir deney gerektirir. İlgili genlerin ve kontrollerin seri dilüsyonları reaksiyon için input olarak kullanılır ve farklı hesaplamalar yapılır.



Şekil 3.7 erime eğrisi analizi

•Amplifikasyon verimliliği, ilgilenilen bir genin C T CT değeri ile bir kontrol / referans (ΔC T ΔCT) ve log input miktarı arasındaki doğrusal eğilim olarak yaklaşık olarak tahmin edilir. Bilginin bu bölümü ΔΔC T ΔΔCT modeli kullanılırken gereklidir. Tipik olarak, eğrinin eğimi çok küçük ve R 2 R2 değeri bire çok yakın olmalıdır. Amplifikasyon verimliliğinin bir değeri 10 −1 / eğim 10−1 / eğim olarak verilir ve 2'ye yakın olmalıdır. Durum böyle olmadığında diğer analiz yöntemleri önerilir.

•Standart eğri yöntemini uygulamak için fark yerine C T CT değerini kullanan her gen için benzer eğriler gereklidir. Bu durumda, rölatif ekspresyonun hesaplanması için ayrı bir eğim ve kesişim gereklidir.

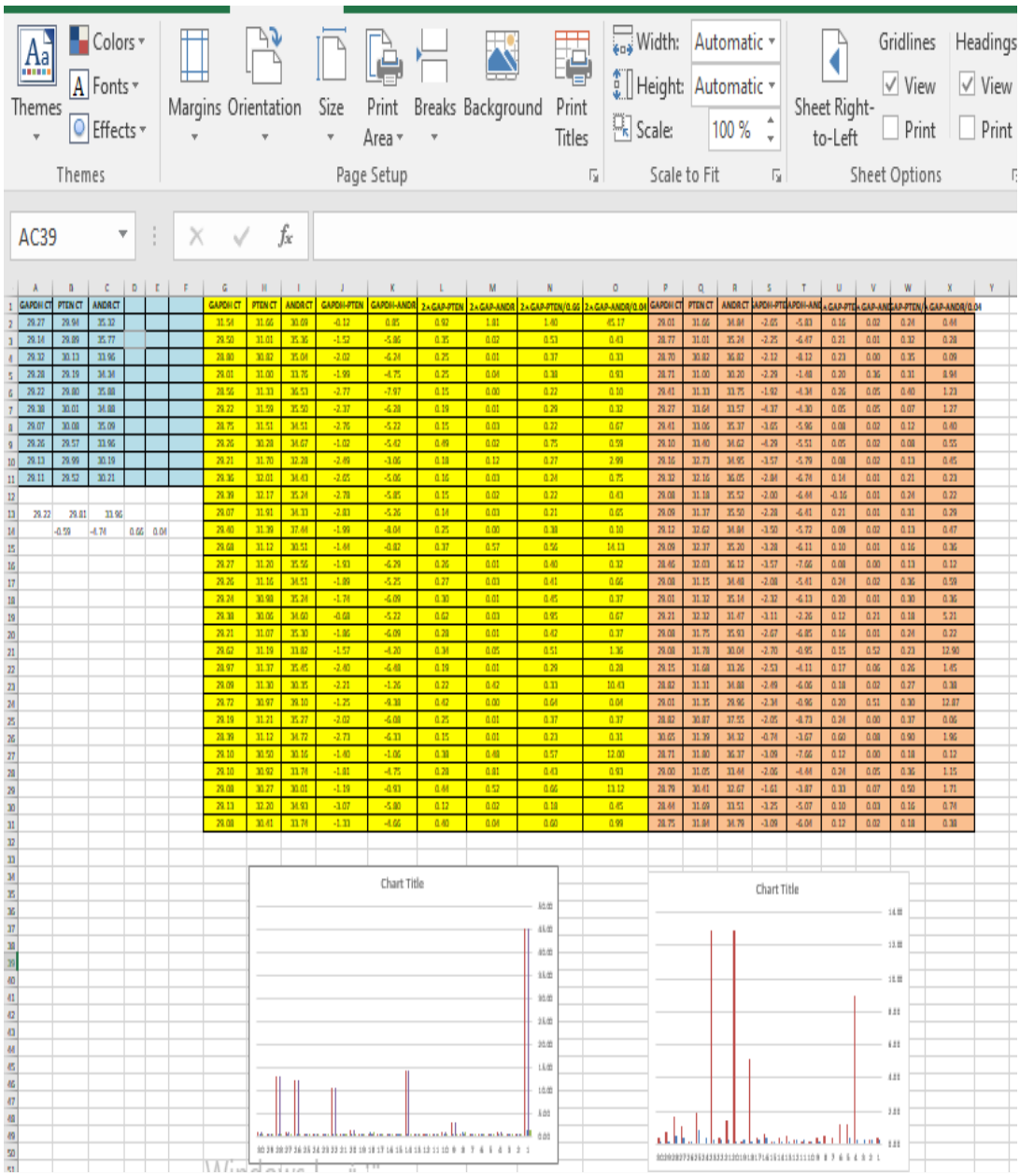


Şekil 3.8 PCR reaksiyonu ilerliyor

Kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR), genellikle kararlı bir referans gene karşı normalize edilen hedef genlerin ekspresyonunu belirlemek için bir araç olarak kullanılır.

4. BULGULAR

Formalin ile fikse edilmiş parafine gömülü (FFPE) bloklar, 30 Prostat kanseri (PCa) numunesine, 30 iyi huylu prostat numunesine ve 10 kontrol numunesine karşılık gelmektedir. Gen ekspresyon analizi, yeni biyolojik süreçlerde yer alan veya hastalık gelişiminde yer alan genlerin tanımlanmasına yol açacak karmaşık düzenleyici ağlar hakkında bilgi sağlar.



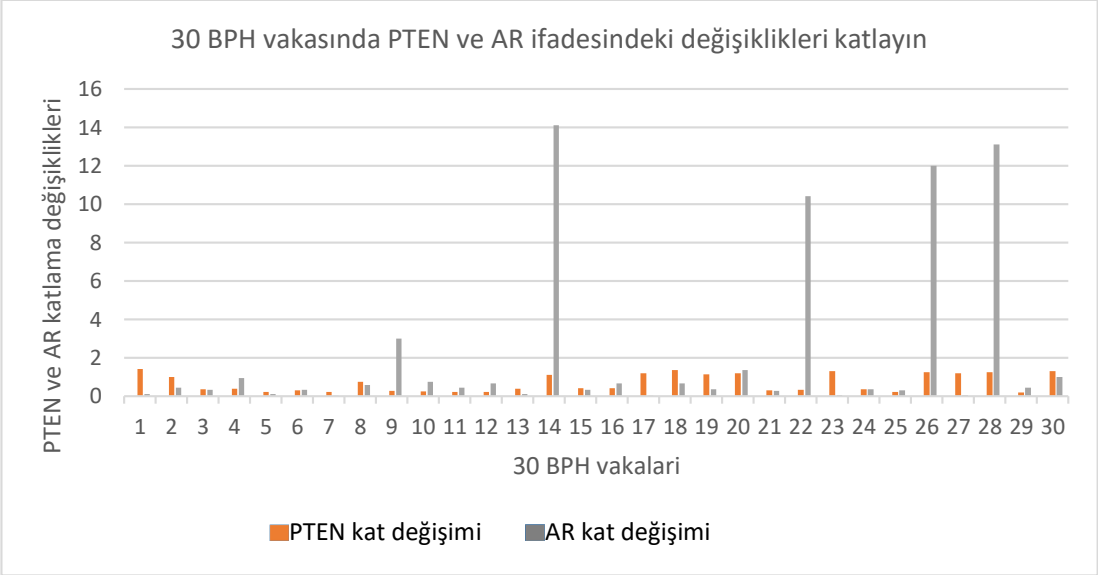
Şekil 4.1 Sonuçları gösteren resim Excel tablosu

Tablo 4.1 PTEN ve AR gen ekspresyonu için iyi huylu vakalar oluşur

GAPDH CT	PTEN CT	AR CT	GAPDH-PTEN	GAPDH-AR	2^GAP-PTEN	2^GAP-AR	2^GAP-PTEN/0.66	2^GAP-AR/0.04
31.54	31.66	30.69	-0.12	0.85	0.92	0.004	1.40	0.10
29.50	31.01	35.36	-1.52	-5.86	0.66	0.02	1.00	0.43
28.80	30.82	35.04	-2.02	-6.24	0.25	0.01	0.37	0.33
. 29.01	31.00	33.76	-1.99	-4.75	0.25	0.04	0.38	0.93
28.56	31.33	36.53	-2.77	-7.97	0.15	0.00	0.22	0.10
29.22	31.59	35.50	-2.37	-6.28	0.19	0.01	0.29	0.32
28.75	31.51	34.51	-2.76	- 5.22	0.15	0.003	0.22	0.01
29.26	30.28	34.67	-1.02	-5.42	0.49	0.02	0.75	0.59
29.21	31.70	32.28	-2.49	-3.06	0.18	0.12	0.27	2.99
29.36	32.01	34.43	-2.65	-5.06	0.16	0.03	0.24	0.75
29.39	32.17	35.24	-2.78	-5.85	0.15	0.02	0.22	0.43
29.07	31.91	34.33	-2.83	-5.26	0.14	0.03	0.21	0.65
29.40	31.39	37.44	-1.99	-8.04	0.25	0.004	0.38	0.10
29.68	31.12	30.51	-1.44	-0.82	0.70	0.57	1.10	14.13
29.27	31.20	35.56	-1.93	-6.29	0.26	0.01	0.40	0.32
29.26	31.16	34.51	-1.89	-5.25	0.27	0.03	0.41	0.66
29.24	30.98	35.24	-1.74	- 6.09	0.80	0.01	1.20	0.01
29.38	30.06	34.60	-0.68	-5.22	0.90	0.03	1.36	0.67
29.21	31.07	35.30	-1.86	-6.09	0.75	0.01	1.14	0.37
29.62	31.19	33.82	-1.57	-4.20	0.79	0.05	1.19	1.36
28.97	31.37	35.45	-2.40	-6.48	0.19	0.01	0.29	0.28
29.09	31.30	30.35	-2.21	-1.26	0.22	0.42	0.33	10.43
29.72	30.97	39.10	-1.25	-9.38	0.85	0.001	1.29	0.04
29.19	31.21	35.27	-2.02	-6.08	0.25	0.01	0.37	0.37
28.39	31.12	34.72	-2.73	-6.33	0.15	0.01	0.23	0.31
29.10	30.50	30.16	-1.40	-1.06	0.82	0.48	1.24	12.00
29.10	30.92	33.74	-1.81	- 4.75	0.80	0.001	1.20	0.04

Tablo 4.1 Devamı

29.08	30.27	30.01	-1.19	-0.93	0.83	0.52	1.26	13.12
29.13	32.20	34.93	-3.07	-5.80	0.12	0.02	0.18	0.45
29.08	30.41	33.74	-1.33	-4.66	0.85	0.04	1.29	0.99



Şekil 4.2 İyi huylu koşullarda PTEN ve AR gen ekspresyonu

şekil. 4.2 de İyi huylu koşullarda PTEN ve AR gen ekspresyonu için ‹kat değişiklik meydana gelir. Bu çalışmada, qPCR analizi kullanarak 30 Benign prostat hiperplazisi (BPH) hastasında AR ekspresyonu ile PTEN kaybı arasındaki ilişkiyi inceledik. Vakaların 9'unda (%30) AR ekspresyonu Yüksek AR bulundu ve örneklerin 17'sinde (%56,7) PTEN kaybı Düşük PTEN saptandı. AR-pozitif vakalar, önemli ölçüde daha düşük PTEN ekspresyonu ile ilişkilendirildi

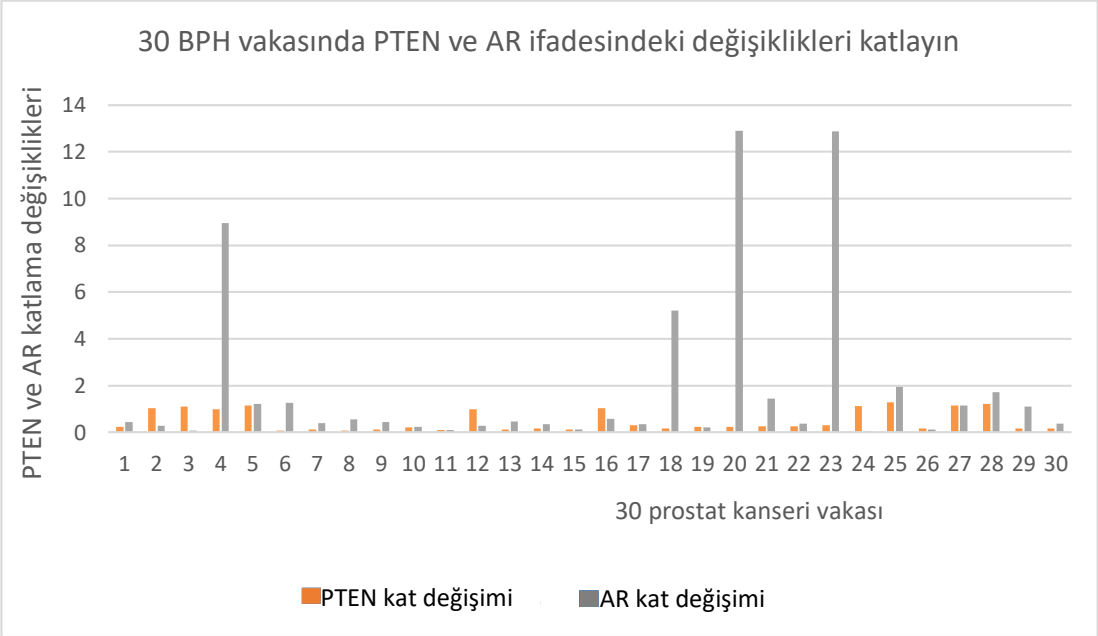
Tablo 4.2 PTEN ve AR gen ekspresyonu için kanser vakaları

GAPDH CT	PTEN CT	ANDR CT	GAPDH-PTEN	GAPDH-AR	2^GAP-PTEN	2^GAP-AR	2^GAP-PTEN/0.66	2^GAP-AR/0.04
29.01	31.66	34.84	-2.65	-5.83	0.16	0.02	0.24	0.44
28.77	31.01	35.24	-2.25	-6.47	0.68	0.01	1.03	0.28
28.70	30.82	36.82	-2.12	-8.12	0.70	0.00	1.10	0.09
28.71	31.00	30.20	-2.29	-1.48	0.66	0.36	1.00	8.94
29.41	31.33	33.75	-1.92	-4.34	0.75	0.05	1.14	1.23

Tablo 4.2 Devamı

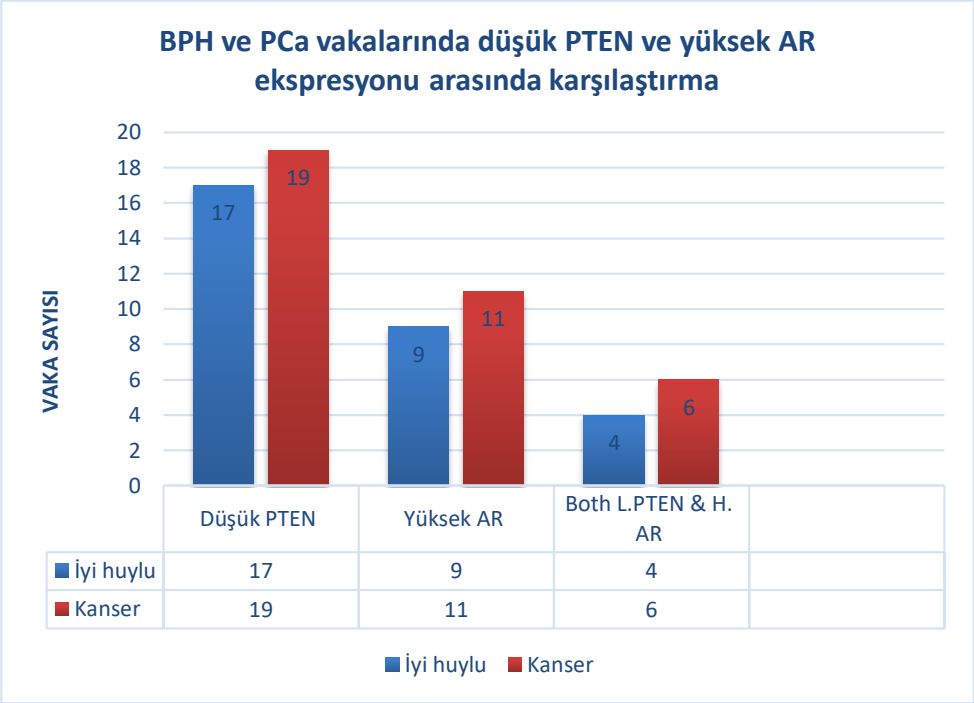
.29.27	33.64	33.57	-4.37	-4.30	0.05	0.05	0.07	1.27
29.41	33.06	35.37	-3.65	-5.96	0.08	0.02	0.12	0.40
29.10	33.40	34.62	-4.29	-5.51	0.05	0.02	0.08	0.55
29.16	32.73	34.95	-3.57	-5.79	0.08	0.02	0.13	0.45
29.32	32.16	36.05	-2.84	-6.74	0.14	0.01	0.21	0.23
29.08	31.18	35.52	-2.00	-6.44	0.06	0.004	0.10	0.10
29.09	31.37	35.50	-2.28	-6.41	0.66	0.01	1.00	0.29
29.12	32.62	34.84	-3.50	-5.72	0.09	0.02	0.13	0.47
29.09	32.37	35.20	-3.28	-6.11	0.10	0.01	0.16	0.36
28.46	32.03	36.12	-3.57	-7.66	0.08	0.00	0.13	0.12
29.08	31.15	34.48	-2.08	-5.41	0.68	0.02	1.03	0.59
29.01	31.32	35.14	-2.32	-6.13	0.20	0.01	0.30	0.36
29.21	32.32	31.47	-3.11	-2.26	0.12	0.21	0.18	5.21
29.08	31.75	35.93	-2.67	-6.85	0.16	0.01	0.24	0.22
29.08	31.78	30.04	-2.70	-0.95	0.15	0.52	0.23	12.90
29.15	31.68	33.26	-2.53	-4.11	0.17	0.06	0.26	1.45
28.82	31.31	34.88	-2.49	-6.06	0.18	0.02	0.27	0.38
29.01	31.35	29.96	-2.34	-0.96	0.70	0.51	1.10	12.87
28.82	30.87	37.55	-2.05	-8.73	0.74	0.00	1.12	0.06
30.65	31.39	34.32	-0.74	-3.67	0.85	0.08	1.29	1.96
28.71	31.80	36.37	-3.09	-7.66	0.12	0.00	0.18	0.12
29.00	31.05	33.44	-2.06	-4.44	0.75	0.05	1.14	1.15
28.79	30.41	32.67	-1.61	-3.87	0.80	0.07	1.21	1.71
28.44	31.69	33.51	-3.25	-5.07	0.10	0.04	0.16	1.10
28.75	31.84	34.79	-3.09	-6.04	0.12	0.02	0.18	0.38

Normal gen Düşük PTEN gen ekspresyonu ve yüksek AR gen



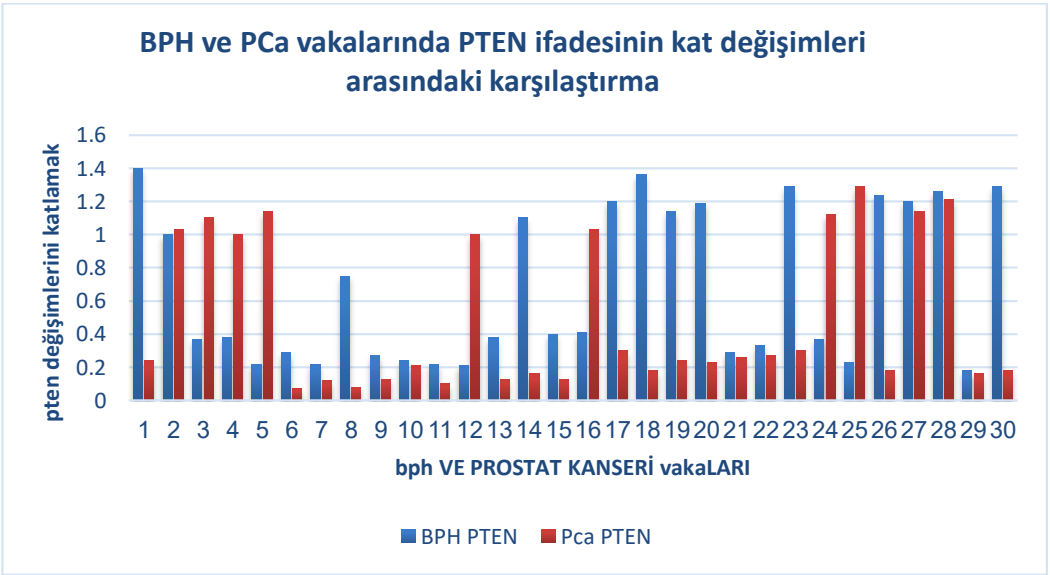
Şekil 4.3 PTEN ve AR gen ekspresyonu için kanser vakaları

şekil 4.3 PTEN ve AR gen ekspresyonu için kanser vakaları oluşur. Bu çalışmada, Libya'da kanser hastaları arasında tedavi edilen 30 prostat kanseri hastasında AR ekspresyonu ile PTEN kaybı arasındaki ilişkiyi qPCR analizi kullanarak geriye dönük olarak inceledik. Vakaların%36,67'sinde (11/30) AR ekspresyonu ve örneklerin%63,3'ünde (19/30) PTEN kaybı tespit edildi. AR pozitif vakalar, önemli ölçüde daha az PTEN ekspresyonu ile ilişkilendirildi. Hastaların%13,3'ünde (4/30) görüldü.

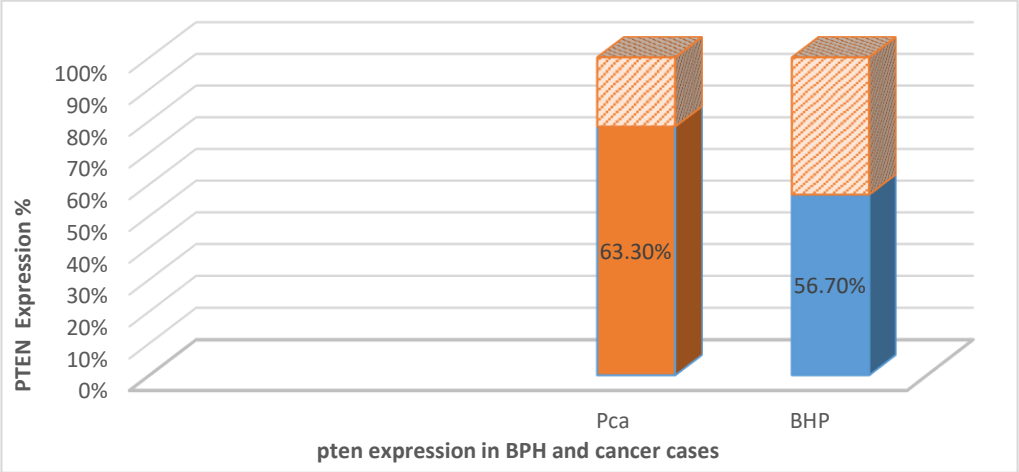


Şekil 4.4 Azaltılmış GEN ifadesi PTEN ve artan AR ekspresyonunun bir karşılaştırması.

En önemlisi, androjen / AR'nin prostat kanseri vakalarında PTEN ekspresyonunu zıt yönlerde düzenlediğini, prostat kanseri progresyonu ile ilişkili%36,6 oranında AR ekspresyonunu artırdığını ve ayrıca PTEN ekspresyon kaybının%63,3 olduğunu gösterdiğini bulduk . ve kanser vakalarının%20'sinde AR ekspresyonunda artış ve PTEN ekspresyonunda kayıp vardır



Şekil 4.5 BPH ve kanser vakalarında PTEN gen ekspresyonunun karşılaştırılması



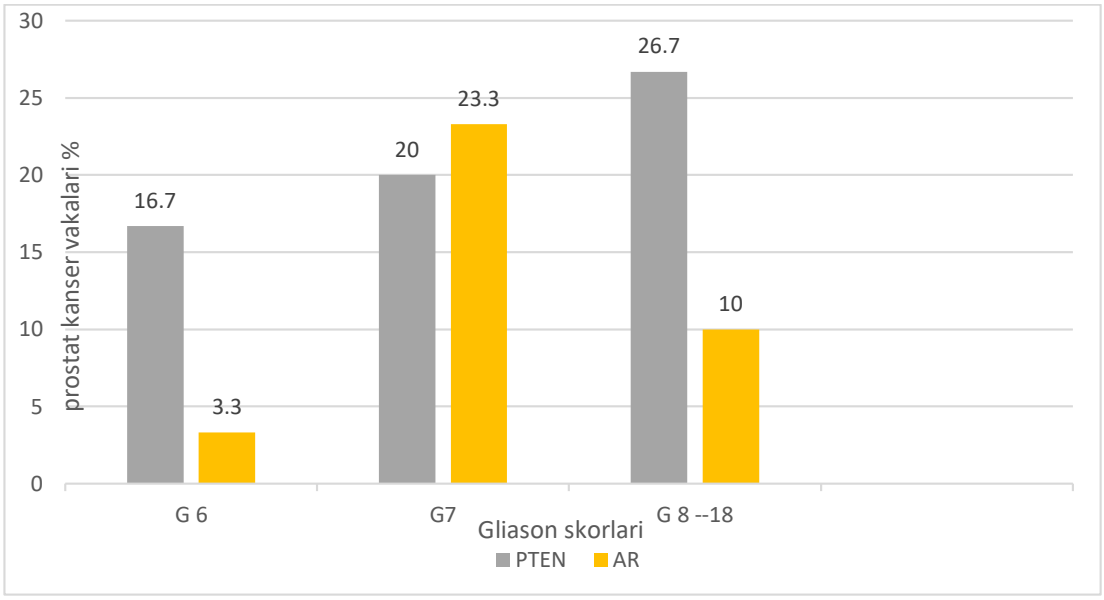
Şekil 4.6 bph ve kanser arasında pten ifadesinin karşılaştırılması

Şekil 4.6 da PCa vakalarında düşük PTEN = 19 vaka %63,3 ve BPH'de düşük PTEN insidansı = 17 vaka %56.7 . BPH VAKALARI'na göre tümörlerde PTEN kaybında%6,6 artış vardır. Biyopsi dokularında PTEN kaybı, artmış LIBYAN prostat kanseri riski ile önemli ölçüde ilişkili kalmıştır.

Tablo 4.3 Gen ifadesi ile Gliason skorları arasındaki ilişki tablosu

Gleason scores (30 Vaka)	Düşük PTEN No=19 (63.3%)	Yüksek AR No=11(36.7%)
GS 6 veya GS 6'dan az (n = 6 (%20)	5 (16.7%)	1 (3.3 %)
GS 7 (n=12) 40%	6 (20%)	7 (23.3 %)
GS 8'den GS 10'a (n = 12)%40	8 (26.7%)	3 (10 %)

Bir dereceli tümörler, bir Gleason skoru dahil etmek için iki kez sayıldı (yani, Gleason dereceleri 3 + 3 = Gleason skoru 6). = 6 vaka (%20) Ve iki birincil tümör modelinin Gleason skorları, iki Gleason derecesinin toplamıydı (yani birincil Gleason derece 4 ve ikincil Gleason derece 3, Gleason skoru 7 olacaktır)



Şekil 4.7 Gen ifadesi ile Gliason skorları arasındaki ilişki tablosu

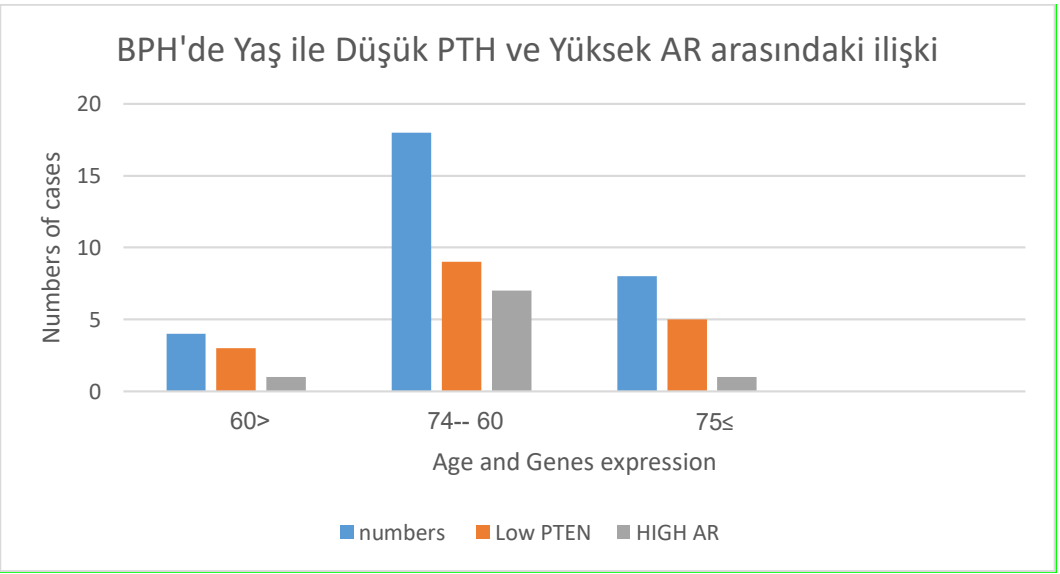
PTEN gen ekspresyonunun kaybı yüksektir ve PTEN kaybı ile Gleason skorundaki artış arasında ilerleyici bir ilişki göstermeyi başardık

Gleason skoru 6 = (%16.7), Gleason skoru 7 =%20 ve Gleason skoru 8-10 =%26.7. Gliason skorları arttıkça PTEN gen ekspresyonu kaybı artar

30 BPH hastasından, (26) 60 yaş ve üzeri hastaların%86,7'si. Ve yaşlılığın%53,8'i ≥ 60 yaş düşük PTEN'li BPH vakaları, ve yaşlılığın%30.7'si ≥ 60 yaş yüksek AR'li BPH vakaları

Tablo 4.4 PTEN ve AR ekspresyonunun BPH insidansı, yaş ve prognoz ile ilişkisi

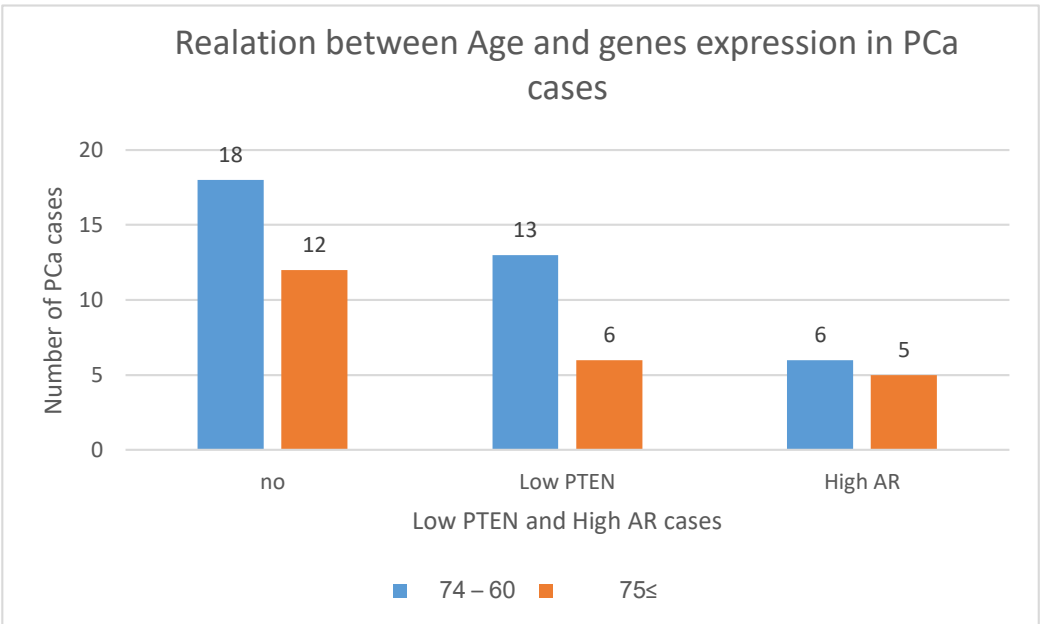
BPH hastalarının yaşı (yıl) no = 30	**Düşük PTEN =17 (56.7%)**	**Yüksek AR =9 (30 %)**
<60 (n=4) 13.3 %	3 (10%)	1 (3.3 %)
60 – 74 (n=18) 60%	**9 (30%)**	**7(23.3)**
≥75 (n=8) 26.7 %	**5 (16.7%)**	**1 (3.3 %)**



Şekil 4.8 60 ila 75 yaş arasındaki BPH vakalarının%86.7'si ve düşük PTEN BPH vakalarının %82.35'i, ilişkili semptomlar ve komplikasyonlar nedeniyle yaşlı erkekler için önemli bir sağlık sorunuydu

Tablo 4.5 PTEN ve AR ekspresyonunun PCa insidansı ve yaşla ilişkisi

PCa hastalarının yaşı (yıl) no = 30	Düşük PTEN No=19(63.3%)	Yüksek AR expression (n=11) (36.67%)
<60 0 %	0	0
60 – 74 (n=18) 60%	13 (43.3%)	6 (20%)
≥75 (n=12) 40%	6 (20%)	5 (16.7%)



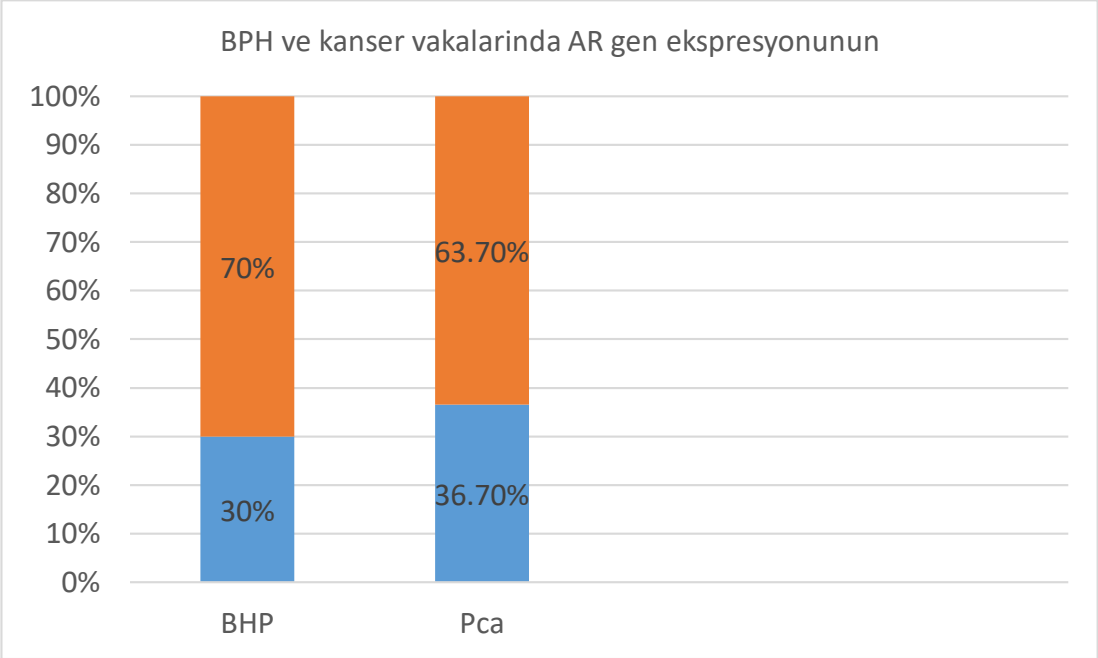
Şekil 4.9 Yaş ile prostat kanseri insidansı arasındaki ilişki ve pten ekspresyonunda azalma

Benign ve Kanser dokularında anlamlı şekilde ilişkili düşük PTEN ekspresyonu ve yüksek AR ekspresyonu belirlendi Çalışmamız, PTEN delesyonu olan hastaların yaş ile ilişkili olduğunu ve 60 yaşın üzerindeki tüm prostat kanseri vakalarını, Düşük PTEN'li 19 vakayı (%63.3) ve Yüksek AR ekspresyonlu 11 vakayı (%36.67) gösterdi.

Tablo 4.6 PTEN ve AR ifadesi ile tanı arasındaki ilişki

Diagnosis No= 30	**Düşük PTEN =17 (56.7%)**	**Normal veya Yüksek PTEN=13 (43.3 %)**	**Normal veya Düşük AR =21 (70%)**	**Yüksek AR=9 (30 %)**
Hematüri 4 (%13.3)	1 (3.3 %)	3 (10 %)	3 (10 %)	1 (3.3 %)
UBveUR 10 (33.3 %)	6 (20%)	4 (13.3%)	8(26.3)	2 (6.7%)
Benign p. Hiperplazi 10 (%33.3)	7 (23.3)	3 (10%)	7 (23.3)	3 (10%)
HPSA 6 (20 %)	3 (10 %)	3 (10 %)	3 (10 %)	3 (10 %)

BPH'nin nedenleri ile ilgili olarak, idrar kesesi ve tutulması (%33.3) ve ayrıca tıbbi öyküsü olmayan BPH (%33.3) yaygın nedenlerdir.



Şekil 4.10 BPH ve kanser vakalarında AR gen ekspresyonunun karşılaştırılması

BPH'DE yüksek AR = 9 vaka (%30)

Pca vakalarında yüksek AR = 19 vaka (%36,7)

Gerçek zamanlı RT-PCR analizinde, Libya prostat tümörü örneklerinde AR gen ifadesi. AR ekspresyonu prostat kanserinde BPH'den%6.7 daha yüksekti. prostat kanseri ve BPH arasındaki ifadede istatistiksel olarak anlamlı bir fark

5. TARTIŞMA

Prostat Kanseri, Batı ülkelerinde en yaygın görülen malign hastalıklardan biridir. Bir dizi araştırma grubu PC'lerin gen ekspresyon profillerini araştırmıştır. PTEN tümör baskılayıcı genindeki kusurlara, meme ve prostat dahil, pek çok kanser türünde rastlanmıştır (Ashida vd., 2004). Ancak, bu konuda Libya'da hiçbir araştırma yapılmamıştır.

Yaşlanan erkeklerde benign prostat hiperplazisi (BPH) prevalansının yüksekliği ile ilgili olarak bizim çalışmamızda da bulduğumuz mesane ve retansiyon (%33,3), iyi huylu prostat hiperplazisi (%33,3), yüksek Prostat Spesifik Antijen (%20) ve hematüri (%13,3) oranları ile hastalığın etiyolojisi hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Östrojenler ve androjenlerin her ikisi de iyi huylu prostat hiperplazisinin (BPH) nedenleri olarak gösterilmektedir. Serum androjen konsantrasyonları ile BPH arasındaki ilişkiye dair epidemiyolojik veriler tutarsızdır (Luo vd., 2002). 50 ile 80 yaşları arasında alt idrar yolu semptomlarının teşhis edilmesi iyi huylu prostat hiperplazisini akla getirebilmektedir (Platz vd., 2012). Çalışmamızda yer verilen 30 benign prostat hastasının ortalama yaşı 67 (40-82 yaş aralığı) olarak belirlenmiştir ve hastaların sadece %13,3'ü 60 yaşın altında olmasına karşın hastaların %60'ı 60-74 yaşları arasında idi, bu da benign prostat hiperplazisi için geç tanı konduğu anlamına gelmektedir. Androjenlerin BPH patogenezinde permisif bir rol oynadığı ve BPH'nin %30'unun düşük PTEN ekspresyonu ile yüksek AR olduğu bu çalışmanın elde ettiği bulgular arasındadır.

Prostat kanserinde fosfataz ve tensin homologunun (PTEN) silinmesi, bir prostat kohortunda PTEN kaybının durumunu değerlendirmek için yapılan çalışmada erken biyokimyasal nüks, artmış metastatik potansiyel ve androjen bağımsızlığı ile ilişkilendirilmiştir. Ürdün'den prostat kanseri hastalarından oluşan bir kohortta PTEN kaybının durumunun değerlendirilmesine yönelik bir çalışmada, 71 prostat kanseri hastası ve benign prostat hiperplazisi (BPH) olan 52 kontrol hastası incelenmiştir. PTEN durumu immünohistokimya ile değerlendirilmiştir. Ekson 1, 2, 5 ve 8'deki PTEN mutasyonları da polimeraz zincir reaksiyonu tek sarmallı konformasyon polimorfizmi (PCR-SSCP) ile değerlendirilmiştir. İmmünohistokimya ile değerlendirilen 71 prostat kanseri vakasının 42'sinde (%59,2) PTEN kaybı

saptanmıştır. Aksine, 52 BPH vakasının 51'inde (%98.1) sağlam PTEN varlığı belirlenmiştir. PCR-SSCP ile değerlendirilen 24 prostat kanseri vakasının bir alt kümesinde, 15 (%62,5) vakada PTEN mutasyonları bulmuş, ancak BPH kontrollerinin 22'sinde (%91,7) PTEN mutasyonları bulunmamıştır. Ürdün'deki prostat kanseri hastalarında PTEN kaybı sıklığının, Doğu Asya'daki benzer kohortlardan daha yüksek bulunduğu ve Kuzey Amerika ve Batı Avrupa'daki ilgili kohortlarda bildirilen PTEN kaybı sıklığı aralığının en yüksek ucunda yer aldığı belgelenmiştir. Daha yüksek GS / GG'li kanserlerde daha sık PTEN kaybı olmasına rağmen, bu istatistiksel olarak anlamlı değildi (Al Bashir vd., 2019).

Erkeklerde prostat kanseri 60 ila 74 yaş arasında artış göstermektedir. Vakaların %60'ında düşük PTEN ekspresyonunun %43.3 olduğu görüldü. Başka bir çalışmada, prostat kanseri (PC) yaygın olarak yaşlı erkeklerin bir hastalığı olarak kabul edilmektedir. PC tanısı konan erkeklerin sadece %4'ü 50 yaşın altındadır ve sadece %10'u 55 yaşın altında teşhis edilir (Salinas vd., 2014). Ancak %40'ı oluşturan 74 yaş üstü grup ile karşılaştırıldığında, çalışma grubunun %60'ının 60 ila 74 yaş arasında olduğunu ve bu grubun hastalığın erken evrelerinde teşhis edildiğini belirledik (Gleason 7 (3 + 4). Ayrıca, 50 yaşın altında teşhis konulan 11 hasta ve 57 ila 69 yaş arasında, ortalama yaşları 65 olan 7 hasta ile ilgili bir çalışma raporu da bulunmaktadır (Merrill RM, Bird JS, 2002).

Androjenler ve androjen reseptörü (AR) sinyali, prostat kanseri onkogenezinin ve hastalığın ilerlemesinin ayırt edici özellikleridir. Schweizer vd. AR sinyalleşme alanının prostatik ve diğer malignitelerde tanıtımını yapmışlardır. Medikal literatür, prostat kanserinde androjenlerin / AR'nin rolünü inceleyen çalışmalarla doyurulurken, diğer insan malignitelerinde AR yolunun potansiyel önemine daha az dikkat edilmiştir. AR'nin prostat kanserindeki biyolojik ve terapötik rollerini açıkladıktan sonra araştırmacılar, meme kanseri, mesane kanseri, böbrek kanseri, pankreas kanseri, hepatosellüler kanser, yumurtalık ve endometriyal kanserler, manto hücresi lenfoma ve tükrük bezi kanserleri dahil olmak üzere diğer tümör türlerinde AR'ye yönelik tedavileri destekleyen kanıtları gözden geçirmişlerdir (Schweizer, MT; Yu, EY2017).

Çalışmamızda GS 7'den GS 10'a kadar olan hastaların %80'inin histopatolojik incelemesinde, düşük PTEN ekspresyonunu gösterenlerin oranı %46,7 idi.

AR'nin PTEN ile doğrudan etkileşime girdiğini göstererek, PTEN ile androjen / AR sinyalizasyonu arasındaki doğrudan bağlantıları dikkat çekilmiştir. PTEN ve AR arasındaki etkileşim, AR nükleer translokasyonunu inhibe eder ve AR transaktivasyonunun bastırılması ve apoptozun indüksiyonu ile sonuçlanan AR protein yıkımını destekler. AR içindeki minimum etkileşim peptidi (amino asitler 483-651), PTEN'in AR ile etkileşimini bozar ve AR transaktivasyonu ve apoptoz üzerindeki PTEN etkisini azaltır.

PTEN-boş fare embriyonik fibroblastlarını (MEF'ler) kullanan genetik yaklaşımlar ayrıca hem AR ekspresyonunun hem de AR aktivitesinin PTEN-boş MEF'lerde vahşi tip MEF'lere göre çok daha yüksek olduğunu ve PTEN'i PTEN-boş MEF'lere yeniden dahil etmenin AR protein seviyelerini ve AR aktivitesini önemli ölçüde azalttığını göstermektedir. PTEN'in aynı prostat kanseri hücre dizisinde farklı geçiş sayılarına sahip AR aktivitesi üzerindeki etkileri, PTEN'in farklı mekanizmalar yoluyla, prostat kanserinin çeşitli aşamalarında AR'yi farklı şekilde düzenlediğini göstermektedir (Moleküler Endokrinoloji 18: 2409–2423, 2004).

Histolojik evre açısından, ortalama yaşı 72 olan (60–85 yaş aralığı) 30 kanser hastası üzerine yapılan histopatolojik incelemenin nihai sonuçlarına göre; GS 6 veya GS 6'dan düşük Gleason skoru prostat kanserli hastaların %20'sinde (n = 6); GS 7 skoru hastaların %40'ında (n = 12) ve GS 8 ila GS 10 skoru hastaların %40'ında (n = 12) tespit edildi.

Prostat kanserlerinde artmış AR ekspresyonu, azalmış PTEN ekspresyonu ile birlikte, kötü bir klinik sonuca işaret etmektedir (Lin vd., 2004).

Bunu Crumbaker ve diğerleri tarafından yapılan, prostat kanserinde AR ve PI3 kinaz sinyallemesi arasındaki etkileşimi özetleyen, prostat kanserinde PI3K yolağının rolünü özetleyen ve prostat kanserinde terapötik bir strateji olarak AR ve PI3K'nın ikili hedeflemesinin potansiyel klinik faydasını gözden geçiren bir araştırma takip etmektedir (Crumbaker vd., 2017).

Bu çalışmada, Libya'daki kanser hastaları arasından, tedavi edilen 30 prostat kanseri hastasında AR ekspresyonu ile PTEN kaybı arasındaki ilişkiyi qPCR analizi ile geriye dönük olarak inceledik. Vakaların %36.67'sinde (11/30) AR ekspresyonu bulundu ve numunelerin %63.3'ünde (19/30) PTEN kaybı tespit edildi. AR-pozitif vakalar önemli

ölçüde düşük PTEN ekspresyonu ile ilişkiliydi. Hastaların %13.3 (4/30) ünde görüldü. AR, G6'nın üzerindeki Gleason skoru ile pozitif korelasyonlu olarak hastaların %33,3 (10/30)'ünde ve PTEN kaybı olmadan pozitif AR gen ekspresyonu olan örneklerin %23,3 (7/30)'ünde Gleason 7 ile ilişkilendirildi (7 hastadan 5 vaka).

PTEN ve AR'nin prostat epitelinde tamamlayıcı rolü, in vivo ve in vitro çalışmalardan elde edilen kanıtlarla desteklenmektedir. Sürekli idamesi için androjen gerektiren iyi huylu, kolumnar prostatik epitel, hem PTEN hem de AR'yi eksprese eder (El Sheikh, vd., 2008).

Kantitatif Gerçek Zamanlı PCR analizi 60 numunede (30 iyi huylu ve 30 tümör numunesi) gerçekleştirilmiştir. Düşük PTEN ve yüksek AR oranı, sırasıyla benign dokularda %56.7 ve%30 idi ve kanser dokularında bu oran sırasıyla %63.3 ve %36.67 olarak bulundu. Düşük PTEN ekspresyonu ile yüksek AR ekspresyonu arasında anlamlı bir korelasyon, benign dokuların %16.7'sinde ve kanser dokularının %13.3'ünde tespit edildi.

FISH ile prostat kanserinde PTEN gen kaybı tahminleri oldukça değişkendir; örneğin, aynı FISH problarını ancak farklı numune setleri kullanan iki çalışma, primer prostat karsinomlarının %68 ve %44'ünde PTEN kaybını saptarken (Yoshimoto vd., 2006, 2007), bu çalışmada prostat kanseri örneklerinin %63,3'ünde PTEN kayıpları tespit edilmiştir. 330 örnek üzerinde yapılan başlangıç çalışmasında, FISH metodu ile neredeyse tamamı radikal prostatektomi geçiren hastaların %40'ında PTEN kaybı saptandı (Yoshimoto vd. 2012). Bu veri, birincil tümörlerin %41'inde heterozigot PTEN kaybının olduğunu ve bunun rekürens süresinin kısalması ve azalmış AR sinyali ile ilişkili olduğunu gösteren Choucair vd. (2012) ile iyi bir uyum içindeydi. Daha ileri hastalık örnekleri üzerinde yapılan çalışmalar, PTEN kaybının daha agresif tümörlerle ilişkili olduğu hipotezini destekleyen daha yüksek PTEN kaybı oranları saptamıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, insan BPH ve PCa'daki bu iki genin ekspresyon seviyesi arasındaki ilişkiyi bulmak için Libya prostat vakaları örneklerinde AR ve PTEN genlerinin ekspresyonu değerlendirildi.

Veriler, prostat tümörlerinde PTEN ekspresyonunda eşzamanlı bir azalma ile ilgili önceki çalışmalardan elde edilen sonuçları doğruladı. Ayrıca, istatistiksel veri analizi, hem BPH hem de PCa örneklerinde iki genin ekspresyon seviyesi arasında önemli bir korelasyon olduğunu, PTEN geninin ekspresyonunu ve Androjen reseptöründeki azalmanın birbirine bağlı olduğunu gösterdi.

Ayrıca, prostat kanseri olan hastaların çoğunda PTEN geninin azalan ekspresyonunun ve yüksek androjen reseptör ekspresyonunun meydana geldiğini doğruladı. Bilindiği kadarıyla, bu çalışma Libya'da klinik PCa örneklerinde PTEN ve AR ekspresyonundaki eşzamanlı değişiklikleri değerlendiren ilk çalışmadır. PTEN kaybı, sadece yüksek AR ekspresyonuna değil aynı zamanda prostat Gleason skoruna da katkıda bulunmaktadır (Tianyi vd., 2016).

Bu çalışma, PTEN delesyonu olan hastaların daha yüksek patolojik evre veya Gleason skoru ile ilişkili olduğunu ve prostat kanserinin ortaya çıkması, ilerlemesi ve prognozu için yüksek risk altında olan bireyleri tanımlamak için potansiyel olarak klinik olarak ilgili yeni bir olayı temsil ettiğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

Fathi, A., Mostafa, N., Hefzi, N., & Mansour, K. (2018). Prognostic implications of ERG, PTEN, ve fatty acid synthase expression in localized prostate cancer. *Egyptian Journal of Pathology*. 38(1):162–168, Temmuz.

Al-Bashir, S., Alzoubi, A., Alfaqih, M., Kheirallah, K., Smairat, A., Haddad, H., Ahmad Al - Dwairy; Baha Fawwaz; Mazhar Alzoubi; Kiril Trpkov; PTEN Loss in a Prostate Cancer Cohort from Jordan. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. Publish Ahead of Print ():, OCAK 04, 2019

Ashida, S., Nakagawa, H., Katagiri T., Furihata, M., Iiizumi, M., & Anazawa, Y. (2004) Molecular features of the transition from prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) to prostate cancer: genome-wide gene - expression profiles of prostate cancers and PINs. Cancer Res. 64:5963–5972.

Attard, G., Swennenhuis, JF., Olmos, D., & Reid, A. Vickers E, A'Hern R. (2009). Characterization of ERG, AR and PTEN gene status in circulating tumor cells from patients with castration-resistant prostate cancer. Cancer Res 69:2912–8.

Attard, G., Parker, C., Eeles, R., Schröder, F., Tomlins, SA., & Tannock, I. . Prostate (2015) cancer. Lancet. S0140 - 6736(14):61947–4.

Bader, AG., Kang, S., Zhao, L., & Vogt, PK. (2005) Oncogenic PI3K deregulates transcription and translation. Nat Rev Cancer. 5:921–9

Beltran, H., Beer, TM., Carducci, MA., de Bono, J., Gleave, M., & Hussain, M. (2011). New therapies for castration - resistant prostate cancer: efficacy and safety. Eur Urol. 60:279–90.

Bostwick, DG. Prostatic intraepithelial neoplasia (PIN). Urology. 1989 Dec; 34(6 Suppl):16 - 22.

Burke, PA., Gregg, JP., Bakhtiar, B., Beckett, LA., & Denardo, GL. (2006). Characterization of MUC1 glycoprotein on prostate cancer for selection of targeting molecules. Int J Oncol. 29:49–55.

Carracedo, A., Alimonti, A., & Pandolfi, P. (2011). PTEN level in tumor suppression: how much is too little? Cancer Res 71:629–633.

Carver, BS., Chapinski C, Wongvipat, J., Hieronymus, H., & Chen, Y. (2011). Reciprocal feedback regulation of PI3K and androgen receptor signaling in PTEN - deficient prostate cancer. Cancer Cell. 19:575–86.

Cheetham, S., Gruhl, F., & Mattick, JS. (2013). Long noncoding RNAs and the genetics of cancer. Br J Cancer 108 2419.

Chen, C., Welsbie, D., Tran, C., Baek, SH., Chen, R., Vessella, R., Rosenfeld, M., & Sawyers, C. (2004). Molecular determinants of resistance to anti-androgen therapy. Nat Med 10: 33– 39.

Cheng, H., Snoek, R., Ghaidi, F., Cox, ME., & Rennie, PS. (2006). Short hairpin RNA knockdown of the androgen receptor attenuates ligand-independent activation and delays tumor progression. Cancer Res 66: 10613– 10620.

Chew, CL., Lunardi, A., & Gulluni, F. (2015). In vivo role of INPP4B in tumor and metastasis suppression through regulation of PI3K/AKT signaling at endosomes. Cancer Discov 5 740 - 751

Choucair, K., Ejdelman, J., Brimo, F., Aprikian, A., Chevalier, S., & Lapointe, J. (2012) PTEN genomic deletion predicts prostate cancer recurrence and is associated with low AR expression and transcriptional activity, BMC Cancer, vol. 12 pg. 543

Colombo, P., Patriarca, C., & Alfano, R. (2001). Molecular disorders in transitional vs peripheral zone prostate adenocarcinoma. Int J Cancer; 94: 383–9

Crumbaker, M.. Khoja, L., & Joshua, A. (2017). AR signaling and the PI3K pathway in prostate cancer. Cancers, 9, 34.

Cunha, GR., Fujii, H., Neubauer, B., Shannon, JM., Sawyer, L., & Reese, B. (1983). Epithelial–mesenchymal interactions in prostatic development. I. Morphological observations of prostatic induction by urogenital sinus mesenchyme in epithelium of the adult rodent urinary bladder. J Cell Biol; 96: 1662–70

Cunha, GR., Hayward, SW., Wang, YZ., & Ricke, WA. (2003). Role of the stromal microenvironment in carcinogenesis of the prostate. Int J Cancer; 107: 1–10

Cunha, GR., Hayward, SW., & Wang, YZ. (2002). Role of stroma in carcinogenesis of the prostate. Differentiation.; 70:473–85.

Davey, R., & Grossmann, M. (2016). Androgen receptor structure, function and biology: From bench to bedside. Clin. Biochem. Rev, 37, 3–15.

De Bono, J., Logothetis, C., Molina, A., Fizazi, K., North, S., &. Chu, L. (2011). COU - AA - 301 Investigators Abiraterone and increased survival in metastatic prostate cancer. N Engl J Med. 364:1995–2005.

Dehm, SM., Schmidt, L., Heemers. H., Vessella, R., & Tindall, D. (2008). Splicing of a novel androgen receptor exon generates a constitutively active andrigen

receptor that mediates prostate cancer therapy resistance. Cancer Res 68: 5469–5477.

Dehm, S., & Tindall, D. (2006). Molecular regulation of androgen action in prostate cancer. J Cell Biochem 99: 333– 344.

De Marzo, A., Coffey, D., & Nelson, W. (1999). New concepts in tissue specificity for prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. Urology 53 (Suppl. 3): 29–42

Di Cristofano, A., & Pandolfi, P. (2000). The multiple roles of PTEN in tumor suppression. Cell 100: 387–390.

Eder, I., Culig, Z., Putz, T., Nessler-Menardi, C., Bartsch, G., & Klocker, H. (2001) Molecular biology of the androgen receptor: From molecular understanding to the clinic. Eur. Urol., 40, 241–251.

Eisermann, K., & Fraizer, G. (2017) The androgen receptor and VEGF: Mechanisms of androgen - regulated angiogenesis in prostate cancer. Cancers, 9, 32.

Ellis, R., Yuan, J., Horvitz, HR. (1991). Mechanisms and functions of cell death. Annu Rev Cell Biol 7: 663– 698.

Engelman, J., Luo, J., & Cantley, LC. (2006) The evolution of phosphatidylinositol 3 - kinases as regulators of growth and metabolism. Nat Rev Genet.; 7:606–19

Epstein, J. (2010). An update of the Gleason grading system. J Urol 183 433 - 440.

Evan, G., Vousden, K. (2001). Proliferation, cell cycle, and apoptosis in cancer. Nature 411: 342– 348.

Grossklaus, D., Shappell, S.B., Gautam, S., Smith, J., & Cookson, M. (2001). Ratio of free - to - total prostate specific antigen correlates with tumor volume in patients with increased prostate specific antigen. The Journal of urology 165, 455 – 458.

Fruman, D., & Meyers, R. (1998) Cantley LC. Phosphoinositide kinases. Annu Rev Biochem. 67:481–507.

Gutman, A., & Gutman, E. (1938). AN " Acid " Phosphatase Occurring In The Serum Of Patients With Metastasizing Carcinoma Of The Prostate Gland. J Clin Invest 17, 473 – 478.

Guyard, A., Boyez, A., Pujals, A., Robe, C., Tran Van Nhieu, J., Allory, Y., Moroch, J., Georges, O., Fournet, J., - Christophe Z., Elie S., Leroy, K. (2017) DNA degrades during storage in formalin - fixed and paraffin - embedded tissue

blocks. Virchows Archiv: an international journal of pathology. Cilt 471; Sayı 4; Sayfa 491 – 500.

. Grossmann, M, Cheung AS, Zajac JD. Androgens and prostate cancer; pathogenesis and deprivation therapy. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2013; 27:603–16.

. Huggins, C, Hodges CV. Studies on prostatic cancer: I The effects of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. Cancer Res. 1941; 1:293–7.

Hopkins, BD, Fine B, Steinbach N, Dendy M, Rapp Z, Shaw J. A secreted PTEN phosphatase that enters cells to alter signaling and survival. Science (2013) 341(6144):399–402.10.1126/science.1234907 membrane association. Cell (1999) 99(3):323–34.10.1016/S0092 - 8674(00)81663 - 3

. Katso, R,. Cellular function of phosphoinositide 3 - kinases: implications for development, homeostasis, and cancer. Annu Rev Cell Dev Biol. 2001; 17:615–75

. Kim, EH, Larson JA, Andriole GL..Management of Benign Prostatic Hyperplasia. Annu Rev Med. 2016; 67:137 - 51. Epub 2015 Sep 2.

. Knudsen, KE, Scher HI. Starving the addiction: new opportunities for durable suppression of AR signaling in prostate cancer. Clin Cancer Res. 2009; 15:4792–8.

McMenamin, ME, Soung P, Perera S,. Loss of PTEN expression in paraffin - embedded primary prostate cancer correlates with high Gleason score and advanced stage. Cancer Res 1999; 59:4291–4296

Miller, G. J. & Torkko, K. C. 2001. Natural history of prostate cancer: Epidemiologic considerations. Epidemiologic Reviews, 23 (1): 14 - 18. 5.Cohen RJ, Shannon BA, Phillips M, Moorin RE, Wheeler TM, Garrett KL. Central zone carcinoma of the prostate gland: a distinct tumor type with poor prognostic features. J Urol. 2008 May;179(5):1762 - 7; discussion 7.

Han B, Mehra R, Lonigro RJ. Fluorescence in situ hybridization study shows association of PTEN deletion with ERG rearrangement during prostate cancer progression. Mod Pathol 2009; 22:1083–1093.

Han D, Wang M, Ma N. Long noncoding RNAs: novel players in colorectal cancer. Cancer Lett 361 (2015): 13 - 21.

He L, Fan C, Kapoor A, Ingram AJ, Rybak AP. Alpha - mannosidase 2C1 attenuates PTEN function in prostate cancer cells. Nat Commun. 2011; 2:307.

Hlobilkova, A, Guldberg P, Thullberg M, Zeuthen J, Lukas J, Bartek J. Cell cycle arrest by the PTEN tumor suppressor is target cell specific and may require protein phosphatase activity. Exp Cell Res (2000) 256(2):571–7.10.1006/excr.2000.4867

Howe, Karen; Extraction of miRNAs from Formalin - Fixed Paraffin - Embedded (FFPE) Tissues. Methods in molecular biology (Clifton, N.J.). Volume 1509; Pages 17 - 24; 2017

Huang, Z-Q, Li J, Wong J. 2002. AR possesses an intrinsic hormone-independent transcriptional activity. Mol Endocrinol 16: 924– 937.

Huggins, C. & Hodges, C.V. Studies on prostatic cancer: I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. 1941. The Journal of urology 168, 912 (2002).

Humphrey, PA. Diagnosis of adenocarcinoma in prostate needle biopsy tissue. J Clin Pathol. 2007 Jan; 60(1):35 - 42.

Isaacs, JT, Isaacs WB. 2004. Androgen receptor outwits prostate cancer drug. Nat Med 10: 26– 27.

Issacs, WB, Carter BS, Ewing CM. 1991. Wild-type p53 suppresses growth of human prostate cancer cells containing mutant p53 alleles. Cancer Res 51: 4716– 4720.

Kavanagh, J.P. Sodium, potassium, calcium, magnesium, zinc, citrate and chloride content of human prostatic and seminal fluid. J Reprod Fertil 75, 35 - 41 (1985).

Kinoshita, H, Shimizu Y, Mizowaki T. Risk factors predicting the outcome of salvage radiotherapy in patients with biochemical recurrence after radical prostatectomy. Int J Urol 20 (2013): 806 - 811.

Kumar, VL, Majumder PK. Prostate gland: structure, functions and regulation. Int Urol Nephrol. 1995;27(3):231–43.

Leach, D.A.; Buchanan, G. Stromal androgen receptor in prostate cancer development and progression. Cancers 2017, 9, 10.

Lee, JO, Yang H, Georgescu MM, Di Cristofano A, Maehama T, Shi Y. Crystal structure of the PTEN tumor suppressor: implications for its phosphoinositide phosphatase activity and membrane association. Cell (1999) 99(3):323–34.10.1016/S0092 - 8674(00)81663 - 3

Lee, C.H., Akin - Olugbade, O. & Kirschenbaum, A. Overview of prostate anatomy, histology, and pathology. Endocrinol Metab Clin North Am 40, 565 - 575, viii - ix (2011).

Lee, Y.R.; Chen, M.; Pandolfi, P.P. The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor: New modes and prospects. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2018,19, 547–562.

Leissner, KH, Tisell LE. The weight of the human prostate. Scand J Urol Nephrol. 1979;13(2):137 - 42.

Leung, J.K.; Sadar, M.D. Non-genomic actions of the androgen receptor in prostate cancer. Front. Endocrinol. 2017, 8, 2.

Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, Puc J, Miliaresis C, Rodgers L, McCombie R, Bigner SH, Giovanella BC, Ittmann M, Tycko B, Hibshoosh H, Wigler MH, Parsons R. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. Science. 1997 Mar 28; 275(5308):1943 - 7.

Liao, X, Tang S, Thrasher JB, Griebling T, Li B. 2005. Small - interfering RNA - induced androgen receptor silencing leads to apoptotic cell death in prostate cancer. Mol Cancer Ther 4: 505– 515.

Lin, HK, Hu YC, Lee DK, Chang C. (2004). Regulation of androgen receptor signaling by PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10) tumor suppressor through distinct mechanisms in prostate cancer cells. Mol Endocrinol 18: 2409–2423.

Linja, MJ, Savinainen KJ, Saramaki OR, Tammela TLJ, Vessella RL, Visakopri T. 2001. Amplification and over-expression of androgen receptot gene in hormone-refractory prostate cancer. Cancer Res 61: 3550– 3555.

Litvinov, IV, De Marzo AM, Isaacs JT. 2003. Genetics of endocrine disease. Is the Achilles' Heel for prostate cancer therapy a gain of function in androgen receptor signaling? J Clin Endocrinol 88: 2972– 2982.

Luo, J, Dunn T, Ewing C, Sauvageot J, Chen Y, Trent J, Isaacs W. Gene expression signature of benign prostatic hyperplasia revealed by cDNA microarray analysis. Prostate. 2002 May 15;51(3):189 - 200.

Luo, J.H., Yu Y.P., Cieply K., Lin F., Deflavia P., Dhir R., Finkelstein S., Michalopoulos G., Becich M. Gene expression analysis of prostate cancers. Mol Carcinog. 2002; 33:25–35.

Maehama, T., Dixon J. E. The tumor suppressor, PTEN/MMAC1, dephosphorylates the lipid second messenger, phosphatidylinositol 3,4,5 - triphosphate. J. Biol. Chem., 273: 13375 - 13378, 1998

Malm, J. & Lilja, H. Biochemistry of prostate specific antigen, PSA. Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation. Supplementum 221, 15 - 22 (1995).

Marcelli, M, Cunningham GR, Haidacher SJ, Padayatty SJ, Sturgis L, Kagan C, Denner L. 1998. Caspase-7 is activated during lovastatin-induced apoptosis of the prostate cancer cell line LNCaP. Cancer Res 58: 76– 83.

McMenamin, ME, Soung P, Perera S, Kaplan I, Loda M. Loss of PTEN expression in paraffin - embedded primary prostate cancer correlates with high Gleason score and advanced stage. Cancer Res. 1999; 59:4291–6.

. McNeal, JE, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA. Zonal distribution of prostatic adenocarcinoma. Correlation with histologic pattern and direction of spread. Am J Surg Pathol 1988; 12: 897–906

Mellinghoff, IK, Vivanco I, Kwon A, Tran C, Wongvipat J. HER2/neu kinase - dependent modulation of androgen receptor function through effects on DNA binding and stability. Cancer Cell. 2004; 6:517–27.

Merrill, RM, Bird JS (2002) Effect of young age on prostate cancer survival: a population - based assessment (United States). Cancer Causes Control 13: 435–443.

Milella, M.; Falcone, I.; Conciatori, F.; Cesta Incani, U.; Del Curatolo, A.; Inzerilli, N.; Nuzzo, C.M.; Vaccaro, V.; Vari, S.; Cognetti, F.; . PTEN: Multiple functions in human malignant tumors. Front. Oncol. 2015, 5, 24.

Mizokami, A.. Understanding prostate - specific antigen dynamics in monitoring metastatic castration - resistant prostate cancer: implications for clinical practice. Asian journal of andrology 19, 143 - 148 (2017).

Mulholland, DJ, Dedhar S, Wu H, Nelson CC. PTEN and GSK3beta: key regulators of progression to androgen - independent prostate cancer. Oncogene. 2006; 25:329–37.

Mulholland, DJ, Tran LM, Li Y, Cai H, Morim A. Cell autonomous role of PTEN in regulating castration - resistant prostate cancer growth. Cancer Cell. 2011; 19:792–804.

Murillo, H, Huang H, Schmidt LJ, Smith DI, Tindall DJ. Role of PI3K signaling in survival and progression of LNCaP prostate cancer cells to the androgen refractory state. Endocrinology. 2001; 142:4795–805.

Myers, M. P., Stolarov J., End C., Li J., Wang S. I., Wigler M. H., PTEN, the tumor supressor from human chromosome 10q23, is a dual - specificity phosphatase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94: 9052 - 9057, 1997

Nelson, PS. Predicting prostate cancer behavior using transcript profiles. J Urol 2004; 172: S28–33

Obinata, D.; Takayama, K.; Takahashi, S.; Inoue, S. Crosstalk of the androgen receptor with transcriptional collaborators: potential therapeutic targets for castration - resistant prostate cancer. Cancers 2017, 9, 22.

Pierorazio, PM, Walsh PC, Partin AW. Prognostic Gleason grade grouping: data based on the modified Gleason scoring system. BJU Int. 2013; 111:753–60.

Platz EA, Joshu CE, Mondul AM, Peskoe SB, Willett WC, Giovannucci E. Incidence and progression of lower urinary tract symptoms in a large prospective cohort of United States men. J Urol. 2012; 2:496–501.

Pron, G. Prostate - Specific Antigen (PSA) - Based Population Screening for Prostate Cancer: An Evidence - Based Analysis. Ontario health technology assessment series 15, 1 - 64 (2015).

Randall, V.A. Role of 5 alpha - reductase in health and disease. Baillieres Clin Endocrinol Metab 8, 405 - 431 (1994).

Rigau, M, Olivan M, Garcia M. The present and future of prostate cancer urine biomarkers. Int J Mol Sci 14 (2013): 12620 - 12649.

Roehrborn, C.G. Benign Prostatic Hyperplasia: An Overview. Reviews in Urology 7, S3 - S14 (2005).

Rokhlin, OW, Glover RA, Cohen MB. 1998. Fas-mediated apoptosis in human prostatic carcinoma cell lines occurs via activation of caspase-8 and caspase-7. Cancer Res 58: 5870– 5875.

Roy-Burman, P, Tindall DJ, Robins DM, Greenberg NM, Hendrix MJC, Mohla S, Getzenberg RH, Isaacs JT, Pienta KJ. 2005. Androgens and prostate cancer: Are the description valid? Cancer Biol Ther 4: 4– 5.

Salinas CA,, Tsodikov A, Ishak - Howard M, Cooney KA (2014) Prostate cancer in young men: an important clinical entity. Nat Rev Urol 11: 317–323. 10.1038/nrurol.2014.91

Sansal I, & Sellers, W. (2004). The biology and clinical relevance of the PTEN tumor suppressor pathway. J Clin Oncol 22(14):2954–63.10.1200/JCO.2004.02.141

Sarbassov, D., Guertin, DA., Ali, SM., & Sabatini, D. (2005). Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor - mTOR complex. Science 307(5712):1098–101.10.1126/science.1106148

Schweiger, M., Kerick, M., Timmermann, B., Albrecht, M., & Borodina, T., (2009). Genome - wide massively parallel sequencing of formaldehyde fixed - paraffin embedded (FFPE) tumor tissues for copy - number - and mutation - analysis. PloS one 4: e5548

Schweizer, M., Yu, E. (2017). AR - signaling in human malignancies: Prostate cancer and beyond. Cancers, 9, 7.

Seamonds, B. (1986). Evaluation of prostate - specific antigen and prostatic acid phosphatase as prostate cancer markers. Urology 28, 472 - 479

Shappell, S., Thomas, G., Roberts, R., Herbert, R., Ittmann, M., Rubin, M., Humphrey, P., Sundberg, J., Rozengurt, N., Barrios, R., & Ward, J. (2004). Cardiff RDP.rostate pathology of genetically engineered mice: definitions and classification. The consensus report from the Bar Harbor meeting of the Mouse Models of Human Cancer Consortium Prostate Pathology Committee. Cancer Res. Mar 15 2004; 64(6):2270 - 305

Shen, M., (2007). Abate - Shen C. Pten inactivation and the emergence of androgen - independent prostate cancer. Cancer Res.;67:6535–8.

Sharma, S., Zapatero – Rodríguez, J., & O'Kennedy, R., (2017). Prostate cancer diagnostics: Clinical challenges and the ongoing need for disruptive and effective diagnostic tools. Biotechnol Adv 35 135 - 149.

El Sheikh, S., Romanska, H., Abel, P., Domin, J., & El-Nasir L. (2008). Predictive Value of PTEN and AR Coexpression of Sustained Responsiveness to Hormonal Therapy in Prostate Cancer—A Pilot Study Neoplasia. 2008 Sep; 10(9): 949–953

Stamey, T. (1987). Prostate - specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. The New England journal of medicine 317, 909 - 916.

Tamguney, T. & Stokoe D. (2007). New insights into PTEN. J Cell Sci 120(Pt 23):4071–9.10.1242/jcs.015230

Tamura, M., Gu, J., Matsumoto, K., Aota, S., Parsons, R., & Yamada, K. (1998). Inhibition of cell migration, spreading, and focal adhesion by tumor suppressor PTEN. Science (Washington DC), 280: 1614 - 1617,.

Taylor, BS., Schultz, N., Hieronymus, H., Gopalan, A., & Xiao, Y. (2010). Integrative genomic profiling of human prostate cancer. Cancer Cell. 18:11–22.

Tianyi, Gao., Yanping, Mei., Huiling, Sun., Zhenlin, Nie., Shukui, & Wang. (2016). The association of Phosphatase and tensin homolog (PTEN) deletion and prostate cancer risk: A meta - analysis. Biomedicine & PharmacotherapyVolume 83October 2016 Pages 114 – 121.

Thomas Ahearn, (2016). A Prospective Investigation of PTEN Loss and ERG Expression in Lethal Prostate Cancer. Journal Of The National Cancer Institute. 108(2):, ŞUBAT 2016.

Wang, Y., Mikhailova, M., Bose, S., Pan, C., & White R., (2008) Regulation of androgen receptor transcriptional activity by rapamycin in prostate cancer cell proliferation and survival. Oncogene. 27:7106–17.

Yang, Q., Fung, K., Day, W., Kropp B., & Lin, H. (2005). Androgen receptor signaling is required for androgen-sensitive human prostate cancer cell proliferation and survival. Cancer Cell Intern 5: 1– 10.

Yoshimoto, M., Cutz, J., & Nuin, PA. (2006). Interphase FISH analysis of PTEN in histologic sections shows genomic deletions in 68%of primary prostate cancer and 23%of high - grade prostatic intra - epithelial neoplasias. Cancer Genet Cytogenet 169:128–137.

Yoshimoto, M., Cunha, I., Coudry, R. & FISH analysis of 107 prostate cancers shows that PTEN genomic deletion is associated with poor clinical outcome. Br J Cancer 2007; 97:678–685.

Yoshimoto, M., & Ludkovski, O., DeGrace, D., Williams, J., Evans, A., Sircar, K., Bismar, T., Nuin, P., Squire, J. (2012). PTEN genomic deletions that characterize aggressive prostate cancer originate close to segmental duplications, Genes Chromosomes Cancer, cilt. 51 (s. 149 - 160).

Ziada, A., & Rosenblum, M. (1999). Crawford ED. Benign prostatic hyperplasia: an overview. Urology; 53 (Suppl. 3): 1–6.

ÖZGEÇMİŞ



Adı Soyadı	: Ayad Issa S. ABUD
Doğum Yeri ve Yılı	: Libya / Trablus – 22.04.1964
Medeni Hali	: Evli
Yabancı Dili	: İngilizce ve Başlangıç seviyede Türkçe

Eğitim Durumu

Lise	: Trablus Lisesi, 1980
Lisans	: Trablus Teknoloji Yüksek Okulu, Tıbbi Laboratuvarlar Bölümü, 1984
Yüksek Lisans	: Misrata Üniversitesi, Tıbbi teknolojiler fakültesi Libya, 2004

Mesleki Deneyim

İş Yeri	: Tıbbi teknolojiler fakültesinde Öğretim Görevlisi,Tripoli Üniversitesi