

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ
ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Ufuk USTA

**NORMAL PROSTAT VE PROSTAT
ADENOKARSİNOMLARINDA CHEK-2 ÜZERİNDEN
AKTİVE OLAN HÜCRE DÖNGÜSÜ DÜZENLEYİCİ
PROTEİNLERDEN CELL DIVISION CYCLE 25 HOMOLOG
A, CELL DIVISION CYCLE 25 HOMOLOG C VE APOPTOSIS
ANTAGONIZING TRANSCRIPTION FACTOR
PROTEİNLERİNİN PROSTAT KARSİNOGENEZİ ÜZERİNE
ETKİLERİ**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Serap İŞLER

EDİRNE-2015

TEŞEKKÜR

Mesleki görgü, bilgi ve becerilerimi kazanmamda büyük paya sahip olan sayın hocam Doç. Dr. Ufuk USTA'ya, eğitimim sırasında desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Filiz ÖZYILMAZ, Prof. Dr. Ali Kemal KUTLU, Doç. Dr. Ömer YALÇIN, Doç. Dr. Fulya ÖZ PUYAN, Doç. Dr. Tülin YALTA, Yrd. Doç. Dr. Ebru TAŐTEKİN, Yrd. Doç. Dr. Nuray CAN'a, istatistiksel değerlendirme aşamasında yardımcı olan Doç. Dr. Necdet SÜT'e, tezin immunohistokimyasal çalışmalarını yürüten Laboratuvar Teknisyeni Erdiñ ÖZER ve tüm çalışma arkadaşlarıma ve her aşamada yanımda olan iş ve hayat arkadaşım Erhan İŞLER'e ve bana verdikleri sonsuz emeklerden dolayı sevgili annem ve babama teşekkür ederim. TÜBAP 2014-67 no'lu proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
EMBRİYOLOJİ	3
ANATOMİ	3
GLANDÜLER PROSTAT DOKUSU	4
NON-GLANDÜLER PROSTAT DOKUSU	4
HİSTOLOJİ	5
PROSTAT KANSERİ	6
EPİDEMİYOLOJİ	8
ETİYOLOJİ	9
KLİNİK ÖZELLİKLER	9
PATOLOJİK ÖZELLİKLER	10
İMMÜNOHİSTOKİMYA	10
PATOGENEZ	11
“CHECK POINT KINASE 2 GENE”	14
“CELL DIVİSİON CYCLE 25 FAMILİY”	15
GEREÇ VE YÖNTEMLER	23
BULGULAR	30
TARTIŞMA	53
SONUÇLAR	60
ÖZET	62
SUMMARY	64
KAYNAKLAR	66
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

AATF	: Apoptosis antagonizing transcription factor
AEC	: 3-Amino-9-EthylCarbazole
AKT	: Protein Kinase B
AMACR	: Alpha-methylacyl-CoA Racemase
APC	: Adenomatous Polyposis Coli
APC/C	: Anaphase promoting complex/ cyclosome
AR	: Androjen reseptörü
ATM	: Ataxia Telangiectasia Mutated
ATR	: Ataxia–Telangiectasia- and Rad3-Related
BAD	: Bcl-2-associated death promoter
Bcl-2	: B cell Lymphoma 2
BRCA1	: Breast Cancer Susceptibility Gene 1
BRCA2	: Breast Cancer Susceptibility Gene 2
BTRC	: Beta-transducin repeat containing
c-Myc	: C-myelocytomatosis gene
CDCK	: Cyclin-dependent kinase
CDKN1b	: Cyclin-dependent kinase inhibitor 1b
CDC25A	: Cell division cycle 25 homolog A
CDC25C	: Cell division cycle 25 homolog C
CHK1/CHEK1	: Check point kinase 2 gene
CHK1/CHEK1	: Check point kinase gene
CC1	: Cell Conditioning 1

CpG	: Sitozin-Guanin
DLK	: DAP like kinases
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
dsDNA	: Double-stranded Deoxyribonucleic Acid
DDR	: DNA hasarına yanıt
DSPaz	: Dual Fosfatazlar
E1A	: Adenovirus early region 1A
E2F1-RB	: Retinoblastom E2F1 transkripsiyon faktör 1
ERG	: Erythroblast Transformation-spesific-related Gene
ETV	: ETS translocation variant 1
EZ Prep	: Ventana medikal sistemleri için EZ Prep konsantre solüsyonu
FOXM1	: Forkhead box M1
GSTP1	: Glutathione S-transferase P1
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HDACs	: Histone deacetylases
H&E	: Hematoxylin and Eosin
HMWK	: High-molecular-weight Keratin
HRAS	: Harvey rat sarcoma
HRPO	: Horseradish Peroxidase
LCS	: Liquid Coverslip
LXXLL	: 3 L = leucine and X = any 5 amino acids
MDR1	: Multidrug Resistance Protein 1
mRNA	: Messenger RNA
Myt1	: Myelin transcription factor 1
MAPK	: p38 mitogen-activated protein kinase
NKX3.1	: NK homeobox 1
PAP	: Prostatic Acid Phosphatase
PIN	: Prostatic Intraepithelial Neoplasia
PSA	: Prostate Spesific Antigen
PSCA	: Prostate Stem Cell Antigen
PTEN	: Phosphatase and Tensin Homolog
PTPaz	: Protein fosfatazlar
P13K/AKT	: Psfotidilinozitol 3'-kinaz / protein kinaz B
PTGS2	: Prostaglandin-endoperoxide Synthase 2

RASSF1-alfa : Ras association domain family member 1 alfa
RNA : Ribonucleic Acid
SCF : F-box containing complex
SiRNA : Small interfering RNA
SP1 : Specificity protein 1
ssDNA : Single-strand Deoxiribonucleic Acid
Std : Standart
TMPRSS2 : Transmembrane protease, serine 2
TUR : Transüretral rezeksiyon
Wee1 : Mitosis inhibitor protein kinase
XRCC : X-ray Repair Cross Complementing Protein
UV : Ultraviole
ZIP : Zipper interacting protein
ZIPK : Zipper interacting protein kinase

GİRİŞ VE AMAÇ

Prostat kanseri dünyada 6. en sık görülen kanser olup erkeklerde görülen kanserler arasında 3. sıradadır (1). 2012 yılında erişkinlerde görülen 14,1 milyon kanser vakasından %8'ini prostat kanseri oluşturmaktadır. Aynı yıl kansere bağlı 8,2 milyon ölümün %8'i prostat kanseri nedeniyle gerçekleşmiştir (2).

2008 yılı sonunda Türkiye'de kanser insidansı, erkeklerde yüz binde 280, kadınlarda ise yaklaşık 172 olarak hesaplanmaktadır. Ülkemizde her yıl yeni 170 bin kanser teşhisi konmakta olup bu kanserlerin 2/3'ü erkeklerde, 1/3'ü kadınlarda görülür. Dünyada, erkeklerde en sık görülen kanserler; prostat, akciğer ve kolon kanserleri olarak sıralanırken, Türkiye'de bu sıralama; akciğer, prostat ve mesane şeklinde olmaktadır. Prostat kanseri için, dünya ortalaması yüz binde 28, Avrupa ortalaması yüz binde 60 olup ülkemizde bu oran yüz binde 37'dir (3).

Prostat kanseri riski yaş ile birlikte artış gösterir. Risk, diğer epitelyal tümörlere kıyasla 5. dekattan sonra yaşla birlikte 9-10 kat artar (4). Dünyada prostat kanseri vakalarının yaklaşık dörtte üçü 65 ve üzeri yaştadır (1). Bu vakaların %95'ini adenokarsinomlar oluşturur (5).

Prostat karsinogenezinde, etnik kökene göre prostat kanseri gelişme riskindeki farklılıklar, genetik faktörlerin etyolojide rolü olduğunu göstermektedir. Göçler, yaşam tarzı değişiklikleri, diyet gibi çevresel etmenlerin de prostat kanseri gelişiminde rol aldığı düşünülmektedir. Ancak kapsamlı araştırmalara rağmen çevresel etmenlerin rolü tam olarak anlaşılabilmiş değildir (1). Genetik açıdan bakıldığında spontan mutasyonlar ya da diyetle alınan kanserojen maddelerin yol açtığı mutasyonlar sonucunda gelişen onkogen aktivasyonu

ve tümör supresör gen inaktivasyonu ile ortaya çıkan kontrolsüz hücre bölünmesinin karsinogenezde rol aldığı düşünülebilir (5).

Androjenlerin prostat kanseri gelişmesindeki önemi prostat kanseri tedavisinde kullanılan kastrasyon ve anti-androjenik ilaçlar sayesinde daha iyi anlaşılmıştır. Maalesef günümüzde çoğu tümörde anti-androjenik tedavi yöntemlerine direnç gelişmiştir. Bu direnç, düşük androjen seviyelerine karşı aşırı duyarlılık gösterme, (androjen reseptör (AR) gen amplifikasyonu ile) AR’de gelişen mutasyonlar sonucunda AR’lerinin non-androjenik ligantlarla aktivasyonu ya da alternatif sinyal yollarında olan mutasyonlar sonucunda AR’nün “by-pass” edilmesi, gibi çok çeşitli yollarla olabilir. Bu mutasyonlar arasında anti-androjenik tedavi direncine en sık neden olan P1-3 kinaz /AKT sinyal yolağının artmış aktivasyonudur (6).

“Cell division cycle 25 homolog A” (CDC25A), “Cell division cycle 25 homolog C” (CDC25C) ve “Apoptosis antagonizing transcription factor” (AATF) proteinleri “checkpoint kinase 2” (CHEK 2) geni üzerinden aktive olan, hücre döngüsü düzenleyici proteinlerdir. Son yıllarda prostat karsinogenezinde genetik mekanizmaların rolünü araştırmayı amaçlayan çok sayıda çalışma yapılmıştır. Kısaca kontrolsüz hücre bölünmesi olarak tanımlayabileceğimiz kanser gelişiminde şüphesiz ki hücre çoğalmasında rol alan genlerin ve proteinlerin rolü büyüktür. CDC25A ve AATF ile prostat kanseri arasındaki ilişki birtakım çalışmalara konu olmakla birlikte, CDC25A ile benzer mekanizmalara sahip olan ancak prognostik önem açısından farklılıklar gösteren CDC25C ile ilgili daha sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Çalışmamızda yakın ilişkili olan AATF, CDC25A ve CDC25C proteinlerinin prostat kanseri ve benign prostat dokusundaki değişimi, birbirleri ile ilişkileri, prostat kanseri tanı ve prognozundaki etkilerini göstermek amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

EMBRİYOLOJİ

Prostat bezi gelişimi ürogenital sinüsten başlar ve ilk olarak fetal gelişimin üçüncü ayında görülür. Epitelyal tomurcuklar verumontanumun iki yanından, ürogenital sinusun arka tarafında şekillenir. Alttaki tomurcuklar prostatın dış zonunu şekillendirirken üstteki tomurcuklar iç zonu şekillendirir. Her iki zon üretra etrafında dairesel şekilde gelişimini tamamlar. Üretranın prostatik parçası endodermal orjinlidir ve ürogenital sinusun pelvik kısmından gelişir. Endodermal hücreler çevre mezankime doğru büyüyerek prostatın glandüler epiteline farklılaşır. Santralde yerleşik ejakulatör duktuslar ile etraflarındaki stromayı ve prostat düz kasını meydana getiren mezenkimal doku ise mezonefrik kanaldan köken alır. Bu nedenle prostat çift embriyonik orjine sahiptir. Tüm bu gelişim basamakları dihidrotestosteron tarafından kontrol edilir (7-9).

ANATOMİ

Prostat armut şeklinde, normal erişkin bir erkekte 20 gram ağırlığa ulaşan bir organdır (10). Mesane boynu ile üretra arasında yer alır. Retroperitoneal yerleşimlidir (6). Arka tarafta rektum, ön tarafta symphysis pubis ile komşudur. Prostat arka yüzünde iki adet veziküla seminalis bulunur ve arka yüzde, veziküla seminalisler ile rektum arasında Denonviller Fasyası denen gevşek bağ dokusu bulunmaktadır. Normalde rektal tuşe ile bu fasya prostat üzerinde hareket ettirilebilirken prostat kanseri geliştiğinde hareket ettirilemez. Prostat, üretranın mesaneden çıkan ve prostatik üretra adı verilen 1/3 lük kısmını çepeçevre sarar (11). Anatomik olarak ön, arka, orta ve santraldeki üretrayı çevreleyen iki yan loba ayrılır. Fizyolojik ve patolojik özelliklerine göre, iç kısım (periüretral) ve dış kısım (kortikal) zon

olarak isimlendirilir (10). McNeal, 1981 yılında geliştirdiği ve yaygın kabul gören modelinde prostatın glandüler ve non-glandüler komponentlerini tanımlamıştır. Bu modele göre glandüler prostat dokusu; periferik zon, santral zon, transizyonel zon olarak isimlendirilen 3 farklı zondan oluşmaktadır. Non-glandüler prostat dokusu ise anterior fibromuskuler stroma, periprostatik sfinkter, çizgili kastan oluşan sfinkter ve prostat kapsülünden oluşmaktadır (12).

GLANDÜLER PROSTAT DOKUSU

Periferik Zon

Glandüler kısmın %70'ini oluşturur. Bu bölgede yer alan bezler yuvarlak şekilli, küçük, basit yapıda bezlerdir. Prostat karsinomu ve “prostatik intraepitelyal neoplazi” (PIN) en sık bu bölgede görülür (12).

Santral Zon

Glandüler kısmın %25'ini oluşturur. Prostat bazisi ve ejakulatör duktuslar çevresindeki alanı kapsar. Burada bulunan glandlar büyük ve kompleks yapıdadır. Epitel/stroma oranı prostatın diğer alanlarına göre epitel lehine artmıştır (12).

Transizyonel Zon

Glandüler dokunun %5'lik kısmıdır ve prostatik üretra çevresindeki alanı kapsar. Bu alandaki glandlar da periferik zondaki glandlara benzer şekilde küçük ve yuvarlak şekillidir ancak transizyonel zon stroması periferik zon stromasından farklı olarak kompakttır (12).

NON-GLANDÜLER PROSTAT DOKUSU

Proksimal (Periprostatik) Sfinkter

Proksimal üretra etrafında, düz kas liflerinden oluşan, üretrayı manşon şeklinde saran kısımdır. Ejakulasyon esnasında üretranın proksimal segmentini kapatarak retrograd seminal sıvı akışına engel olur (12).

Çizgili Kastan Oluşan Sfinkter

Prostat apeksi ile verumontanum arasındaki kısımdır. Prostat apeksinin altında eksternal üretral sfinkter olarak devam eder (12).

Anterior Fibromusküler Stroma

Prostatın anteromedial yüzünde mesane boynundan aşağı doğru genişleyerek ilerler, apekte daralarak üretra ile birleşir. Bu kısımda gland yapısı azalır, düz kas lifleri ve fibröz doku artar (12).

Prostat Kapsülü:

Fibromusküler stromanın prostat bezinin periferinde yoğunlaşması ile oluşur. Prostat dış yüzünün büyük kısmını çevreler. Ön tarafta anterior fibromusküler stroma ile devam eder (12).

Prostatın arterleri arteria iliaca interna'nın dalları olan arteria vezikalıs inferior ve arteria rektalis media'dır.

Prostatın venleri pleksus prostatikus adı verilen ağı oluşturur ve vena iliaca interna'ya açılır.

Lenfatik drenajı internal iliak, sakral ve eksternal iliak lenf nodlarına olur.

Sinirleri pleksus hipogastikus' tan gelir ve organın içine girerek dağılır (11).

HİSTOLOJİ

Prostat bezi epitelyal ve stromal olmak üzere iki komponentten oluşur. Epitel hücrelerinin oluşturduğu glandüler komponent asini ve duktuslardan oluşmaktadır. Duktuslar geniş (primer, major, eksekretuar) ve periferik (sekonder, minor) olmak üzere ikiye ayrılır. Asiniler ve duktuslar, sekretuar hücreler, bazal hücreler ve dağınık nöroendokrin hücreleri içeren 3 temel hücre tipinden oluşur. Glandın luminal tarafında yer alan sekretuar hücreler seminal sıvının salgısından sorumlu olup immünohistokimyasal olarak gösterilebilen "prostatic acid phosphatase" (PAP) ve "prostate-specific antigen" (PSA) salgırlar (10). PAP ve PSA organa spesifik oluşları nedeni ile tanısai açıdan önemli proteinlerdir. Sekretuar hücreler ayrıca androjen reseptörleri ve asidik müsin sekrete eder. İmmünohistokimyasal olarak değişken derecelerde keratin ve vimentin eksprese ederler ancak yüksek moleköl ağırlıklı keratin (HMWK) eksprese etmezler ve bu tanısai açıdan anlamlıdır. Bazal hücreler bazal membranda yerleşik, bazal membran ile luminal hücreler arasında yer alan, prostat epitel hücreleri içinde en yüksek proliferasyon özelliğine sahip hücrelerdir. İmmünohistokimyasal olarak p63 ve HMWK eksprese ederler bu durum adenokarsinomların tanısında önem kazanır. PSA ve PAP üretmemelerine karşın immünohistokimyasal olarak

androjen reseptör antikörleri ile kuvvetli ancak fokal boyanma gösterirler. Nöroendokrin hücreler hematoksilen boyamada seçilemeyen az sayıda hücre grubudur. Kromogranin A ve B, sekretogranin II ile somatostatin, kalsitonin ve bombesin gibi çok sayıda peptid hormonları eksprese ederler. İmmünohistokimyasal olarak androjen reseptör antikörleri ile boyanma göstermezler. İşlevleri tam olarak açıklanamamakla birlikte diğer organlardakine benzer şekilde büyüme ve gelişmede parakrin-endokrin düzenleyici rolleri olduğu düşünülmektedir. Verumontanum bölgesinde daha yoğun olarak bulunurlar (5). Geniş olan duktuslar ürotelyal epitelle döşeli olup prostatik üretradan ayırt edilemezler. Yüzeyde şemsiye hücresi içermemeleri ile mesane epitelinden ayrılırlar. Duktus epiteli, PSA ve PAP ile immünohistokimyasal olarak pozitif reaksiyon verir. Skuamöz metaplazi oldukça yaygındır. Prostatik stroma yoğun düz kas fibrillerinden oluşur ve androjen reseptörleri içerir. Uyarı alındığında kasılarak prostat sekretinin atılmasında görevlidir (10). Benign prostat asinus lümenlerinde müsin bulunmaz, corpora amylocea ise sık görülür. Bu durum adenokarsinomlarda tam terstir, lümende müsin varlığı adenokarsinom tanısını akla getirir. Benign asinuslarda ayrıca dejenere epitel, kristaloidler, proteinöz debriler, kalküller ve spermatozoa bulunur. Sekretuar epitel hücrelerinin sitoplazmalarında ise lipofuksin ve melanin pigmenti görülebilir (5).

PROSTAT KANSERİ

Prostat Tümörlerinin Histolojik Sınıflandırması (1)

I.Epitelyal tümörler:

A.Glandüler neoplazmlar

1.Asiner adenokarsinom

-Atrofik

-Psödohiperplastik

-Köpüksü

-Kolloid

-Taşlı yüzük hücreli

-Onkositik

-Lenfoepitelyoma benzeri

2. İğsi hücre diferansiyasyonlu karsinom (karsinosarkom, sarkomatoid karsinom)

3. Prostatik intraepitelyal neoplazi (PİN)

-Prostatik intraepitelyal neoplazi, derece III (PİN III)

4. Duktal adenokarsinom

-Kribriform

-Papiller

-Solid

B. Ürotelyal karsinom

C. Skuamöz tümörler

1. Adenoskuamöz karsinom

2. Skuamöz hücreli karsinom

D. Bazal hücreli tümörler

1. Bazal hücreli adenom

2. Bazal hücreli karsinom

II. Nöroendokrin tümörler:

1. Endokrin diferansiyon gösteren adenokarsinom

2. Karsinoid tümör

3. Küçük hücreli karsinom

4. Paraganglioma

5. Nöroblastom

III. Prostatik stromal tümörler:

1. Malignite potansiyeli bilinmeyen stromal tümör

2. Stromal sarkom

IV. Mezenkimal tümörler:

1. Leiomyosarkom

2. Rabdomyosarkom

3. Kondrosarkom

4. Anjiosarkom

5. Malign fibröz histiositom

6. Malign periferik sinir kılıfı tümörü

7. Hemanjiom

8. Kondrom

- 9.Leiomyom
- 10.Granüler hücreli tümör
- 11.Hemanjioperisitom
- 12.Soliter fibröz tümör

V. Hematolenfoid tümörler:

- 1.Lenfoma
- 2.Lösemi

VI. Diğer tümörler:

- 1.Kistadenom
- 2.Nefroblastom
- 3.Rabdoid tümör
- 4.Germ hücreli tümörler
 - Yolk sac tümörü
 - Seminom
 - Embriyonal karsinom
 - Koryokarsinom
- 5.Berrak hücreli adenokarsinom
- 6.Melanom

VII. Metastatik tümörler

EPİDEMİYOLOJİ

2008 sonu itibarıyla, Türkiye’de kanser insidansı, yüz binde erkeklerde yaklaşık 280, kadınlarda ise yaklaşık 172 olarak hesaplanmaktadır. Bu, ülkemizde her yıl yeni 170 bin kanser teşhisi konulduğu anlamına gelmektedir. Bu kanserlerin 2/3’ ü erkeklerde görülen kanserler olup, 1/3’ ü kadınlarda görülen kanserlerden oluşmaktadır. Dünyada, erkeklerde en sık görülen kanserler; prostat, akciğer ve kolon kanserleri olarak sıralanır iken, Türkiye’de bu sıralama; akciğer, prostat ve mesane şeklinde olmaktadır. Prostat kanseri için dünya ortalaması yüz binde 28, Avrupa ortalaması yüz binde 60 olup ülkemizde ise bu oran yüz binde 37’dir (3).

ETİYOLOJİ

Prostat kanserinin etiyojisini araştırmaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmış olsa da henüz net verilere ulaşılabilmış değildir. Etiyolojide yaş, aile öyküsü, hormon seviyesi ve çevresel faktörlerin rolü olduğu düşünölmektedir. Özellikle prostat kanser insidansının düşük olduğu bölgelerden prostat kanser insidansının yüksek olduğu bölgelere göç edenlerde prostat kanseri görölme oranının artışı, çevresel faktörlerin önemini ortaya koymaktadır. Yağlı diyet, domateste bulunan likopen, selenyum, soya ürünleri ve vitamin D ile prostat kanseri ilişkisini araştıran çok sayıda çalışma bulunmaktadır ancak kesin ilişki gösterilememiştir (6). Hormonal faktörlerin prostat kanserindeki rolü büyüktür. Puberteden önce kastrasyon uygulanan erkeklerde prostat kanseri gelişmemesi ya da siroz nedeni ile hiperöstrojenizm görölen erkeklerde prostat kanseri insidansının düşük olması bunun en güzel kanıtıdır. Aile öyküsü ele alındığında birinci derece akrabasında prostat kanseri görölen bir erkekte prostat kanseri gelişme riski aile öyküsü olmayan bir erkeğe göre 2-3 kat artmaktadır (10).

Prostat kanserlerinin üçte ikisi tanı anında ağrısızdır, bu hastalar tümörün yavaş büyüme özelliğinden dolayı, tümör ileri evrelere ulaşmadan başka sebeplerden kaybedilir. Kalan üçte birlik hasta grubunda ise tümör agresif seyreder ve çoğu zaman tanı anında beyin ve kemik metastazları gelişmiştir. Prostat kanseri riski yaşla birlikte artar. Elli yaşın altında tanı alan hasta sayısı ile kıyaslandığında, 50 yaşından sonra tanı alma oranı 9-10 kat artmaktadır. Diğer epitelyal tümörlerde bu oran yaşla birlikte 5- 6 kat artar. Tüm dünyada tanı alan hastaların 3/4'ü 65 yaş ve üzerindedir (1).

KLİNİK ÖZELLİKLER

Prostat kanseri tanısında özenli rektal muayene pratik ve kullanışlı bir metoddur. Ancak erken evre karsinomları diğer patolojik durumlardan (nodüler hiperplazi, granömatöz prostatit, tüberküloz, infarkt veya prostat taşı gibi) ayırt edebilmek için patolojik tanı gereklidir. Görüntölleme yöntemlerinden transüretal ultrasonografide çoğu kanser hipoekoik görünür ve 5mm'e kadar olan lezyonlar dahi yakalanabilir. Ancak çoğu kanser ultrasonografide hipoekoik görünürken kanserlerin %30'u izoekoik görünebildiğinden atlanabilir (10). Tanıda kullanılan diğer bir yöntem olan serum PSA düzeyi normalde 4,0 ng/ml'den azdır. Prostatın yapısını bozan durumlarda salınımı artar (5). Prostat kanseri yanı sıra prostatit gibi iltihabi durumlarda da yükseldiğinden kanser tanısı için spesifik değildir. Ancak normal prostat dokusuna oranla kanserli dokuda serum PSA düzeylerinde 10 kat artış görölür. Sonuç olarak serum PSA düzeyi, transüretal ultrasonografi ve rektal muayene üçlüsü

erken prostat kanseri tanısında birlikte kullanıldığında etkilidir (10). Prostat karsinomlarının %70'i glandın periferik zonundan özellikle posteriordan gelişir. Bu bölgeye rektal muayenede palpasyonla ulaşılabilir (6). Ancak kesin tanı histopatolojiktir.

PATOLOJİK ÖZELLİKLER

Makroskopik olarak prostat adenokarsinomları, çevresindeki süngerimsi yapıda sarımsı, ten renkli normal prostat dokusundan solid, gri-beyaz renkli oluşları ile ayrılabilir. Geniş kanama alanları ve nekroz nadirdir (1).

Mikroskopik olarak prostat adenokarsinomları, “Hematoksilen -Eozin” (H&E) boyamalarda benign prostat dokusundan güçlükle ayrılabilen, ayırım için immünohistokimyasal yöntemlerin gerekebildiği iyi diferansiyasyon gösteren az diferansiyasyon gösteren karsinomlardan, neredeyse gland yapısının seçilemediği, tamamı ile solid, infiltratif gidiş gösteren az diferansiyasyon gösteren karsinomlara kadar değişen histomorfolojide görülebilir. Bu durum hastanın prognozunda da önemli rol oynar. Prostat adenokarsinomlarında hastalığın evresini ve hastanın prognozunu belirleme amaçlı en yaygın kullanılan sistem Gleason skorlama sistemidir. Bu sistem küçük büyütmede tümörün glandüler diferansiyasyonu ve büyüme paterninin stroma ile ilişkisine dayanır, hücresel özellikler dikkate alınmaz. Patern 1 ile 5 arasında değerlendirilen Gleason sisteminde en sık görülen patern ve tümörün en az diferansiyasyon gösteren alanları dikkate alınarak primer ve sekonder skorlama yapılır. Gleason skor bu primer ve sekonder skorların toplamıdır. Biyopsi şekline göre Gleason skorlaması değişir; iğne biyopsilerde en sık görülen patern (primer) en kötü patern (sekonder) eklenerek skor verilir (örneğin Gleason skor: 3+5=8/10 gibi). Rezeksiyon materyallerinde ise en sık izlenen birinci ve ikinci paternler toplanarak skor verilir (1,10).

İMMÜNOHİSTOKİMYA

Prostat spesifik antijen 1979'da keşfedilmiş olup prostatik diferansiyasyonun immünohistokimyasal belirleyicisidir. Poliklonal ve monoklonal antikoları bulunur. Bütün prostatik glandüler hücre sitoplazmalarında PSA ekspresyon edilir, ancak bazal hücrelerde, seminal vezikül/ejakülatör duktusun glandüler hücrelerinde ve ürotelyal hücrelerde ekspresyon edilmez. Prostata olan bu spesifitesinden dolayı PSA prostat adenokarsinomlarında ve metastazlarında tanıya yardımcıdır. p63 ve HMWK prostat glandularının bazal hücre tabakalarında ekspresyon edilir ve prostat adenokarsinomunda bazal hücre kaybını göstermek için kullanılır. Bu iki belirteç özellikle atrofik glandların iyi diferansiyasyon gösteren karsinomdan ayırt

edilmesinde faydalıdır. Prostat karsinomlarında eksprese edilen diğer belirteç “alfa-metil-açıl koenzim A rasemaz” (AMACR)’ dır. Ancak AMACR prostat karsinomuna spesifik olmayıp, nodüler hiperplazi, yüksek dereceli PİN ve adenozis gibi durumlarda da eksprese edilebilir. Bu nedenle bazal tabakayı gösteren antikorlarla korele şekilde kullanılmalıdır (1).

PATOGENEZ

Prostat karsinogenezinde, etnik kökene göre prostat kanseri gelişme riskindeki farklılıklar genetik faktörlerin etyolojide rolü olduğunu göstermektedir. (1) Genetik açıdan bakıldığında spontan mutasyonlar ya da diyetle alınan kanserojen maddelerin yol açtığı mutasyonlar sonucunda gelişen onkogen aktivasyonu ve tümör supresör gen inaktivasyonu ile ortaya çıkan kontrolsüz hücre bölünmesi karsinogenezde rol alabilir (5). Prostat kanseri diğer kanserlere benzer şekilde genetik ve epigenetik değişiklikler sonucu glandüler epitelin, önce preneoplastik değişimi (PİN) sonra invaziv karsinoma dönmesi sonucu gelişir. Yapılan çok sayıda çalışmaya rağmen kesin genetik mekanizma tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Prostat kanserine neden olan kalıtsal özelliklerin bir ya da birden fazla spesifik genetik özelliğe bağlı olup olmadığını belirlemek zordur. Birçok alt tipi bulunan prostat kanserinde farklı genetik mekanizmaların rol oynadığı düşünülmektedir ve genetik olarak kontrol edilen birden fazla faktör sporadik tümörlerin gelişimi sağlamaktadır. Prostat kanserinde çok sayıda somatik değişiklikler izlenir. Bunlardan bazıları genetik (nokta mutasyonları, delesyonlar, amplifikasyonlar, translokasyonlar, telomer kısalması gibi) bazıları epigenetik değişiklikler şeklinde olur (13).

Onkogenler

Protoonkogenler hücrenin normal büyüme ve çoğalmasında rol alan genlerdir. Mutasyonlar, delesyonlar gibi genetik değişiklikler durumunda anormal hücre büyümesine yol açan fonksiyonlar kazanırlar. Prostat kanserinde onkogenlerin etkisi sınırlı olmakla birlikte, ekspresyon ya da amplifikasyonda rol alıp almadıkları net olarak açıklanabilmiş değildir. Çalışmalar “C-myelocytomatosis gene” (c-myc), ras, cerb2 ve “B cell Lymphoma 2” (Bcl2) üzerinde yoğunlaşmaktadır. Myc amplifikasyonu çalışmalara göre değişiklik göstermekle birlikte prostat kanserlerinde %0-40 arasında saptanmış olup, artmış gen kopya sayısı ile ilişkilidir. Myc metastatik lezyonların %30’unda saptanmıştır ve artmış ekspresyonu yüksek Gleason skoru ve kötü prognozla korele olarak bulunmuştur (14). Ras geni ilk keşfedilen insan onkogenidir. Prostat kanserinde ras mutasyon oranları değişkendir; batı

toplumlarında oran %5'ten az iken Japon toplumunda %26'lara çıkmaktadır. Bcl-2 antiapoptotik protein ailesinde yer alan, androjen bağımsız proteindir. Normal prostat dokusunda bulunmaz ancak prostat kanserlerinin yarısında eksprese edildiği gösterilmiştir (13,15,16). Fonksiyonel androjen reseptörü (AR) ve androjen hormonları normal prostat gelişimi, sekretuar fonksiyon ve luminal hücre yaşamı için esansiyeldir. Androjen reseptörü klasik onkogen değildir. Normal prostat epitel hücrelerinin tümör hücrelerine dönüşüm sürecinde meydana gelen tüm genetik ve epigenetik değişiklikler anjiogenezi indükleyici, büyümeyi uyarıcı, apoptozisi durdurucu yönde etki gösterir. Tüm bunlar AR sinyalizasyonu üzerinden gerçekleşir ve AR sinyali olmadan bu onkojenik değişikliklerin olması mümkün değildir. Bu hipoteze göre prostat kanser hücreleri AR pozitif hücrelerdir, bunun diğer bir kanıtı da androjen tedavisine alınan yüz güldürücü yanıtlardır (17-19). “Prostate stem cell antigen” (PSCA), son çalışmalarda prostat kanserlerinin %80'inde ve yüksek dereceli PİN vakalarında eksprese edildiği gösterilen bir proteindir (20). PSCA seviyeleri yüksekliğinin yüksek Gleason skorları, ileri hastalık evresi ve androjen tedavisi direnci ile ilişkili olduğu bulunmuştur (21). “Erythroblast Transformation-specific-related Gene” (ERG) ve “ETS translocation variant 1” (ETV1), ETS transkripsiyon ailesinden iki genidir ve prostat kanserli olgularda hem primer hem de metastatik hastalık durumunda aşırı ekspresyonları gösterilmiştir. Bu genler, prostat spesifik hücre yüzey serin proteaz geni olan TMPRSS2 geni ile aktive olarak androjene yanıt veren onkoprotein üretiminde rol alırlar (22). Hepsin, hücre membranında yer alan ve hücre büyümesinde rol alan serum proteazlarından biridir. Benign prostat dokusuna göre kanserli dokuda ve yüksek dereceli PİN vakalarında ekspresyonu artar. Hepsin ekspresyonunun prostat kanserinde prognozla korele olduğu gösterilmiştir (23). AMACR, günlük diyetle yer alan yağ asitlerinin oksidasyonunda rol alan proteini kodlayan genidir. Çalışmalar AMACR'ın artmış prostat kanseri riski ile ilişkili olduğunu göstermektedir. İmmunohistokimyasal olarak yaklaşık %88 vakada AMACR ile boyanma gösterilmiş olup bu durum patoloğlar için prostat kanseri tanısı koyarken %97 sensitivite %100 spesifite sağlamaktadır (1,15).

Tümör Supresör Genler

Normalde tümör supresör genler tümör hücre büyümesini engelleyen genlerdir. Bu genlerin her iki allelinde mutasyon, delesyon, “Deoxyribonucleic Acid” (DNA) metilasyonu, gibi fonksiyon kaybına neden olabilecek diğer epigenetik ve genetik değişiklikler gelişmesi durumunda tümör hücrelerinin büyümesi baskılanamaz ve kontrolsüz hücre büyümesi

gerçekleşir. Prostat kanseri gelişiminde, hastalığın prognozunda ve androjen reseptör direncinde rol alan çok sayıda tümör supresör gen tespit edilmiştir. Prostat kanserli olgularda kromozom 8 üzerindeki iki ayrı bölge olan 8p23 ve 8p12-22 bölgelerinde benzer allel kayıpları gösterilmiştir. Kromozom 8p üzerinde çok sayıda tümör supresör gen yer alır. Bunlar arasında 8p21.2 lokasyonunda yer alan “prostat spesifik homebox gene” (NKX3.1) en çok araştırmaya konu olan ve en çok ümit vadeden genidir. NKX3.1 geninin ürünü DNA’ya bağlanarak PSA gen ekspresyonunu baskılar. Bu gen androjen duyarlı hücrelerde bulunur ve normal prostat dokunun gelişiminde rol alır. NKX3.1 geninin kaybı prostat kanserlerinde görülen yüksek PSA konsantrasyonunu açıklayabilir (23). Yapılan bir çalışmaya göre PİN lezyonlarının %20’sinde, erken evre prostat kanserlerinin %6’sında, yüksek dereceli prostat tümörlerinin %22’sinde, androjen bağımsız tümörlerin %34’ünde, metastatik prostat kanserli vakaların %78’inde NKX3.1 gen kaybı olmaktadır (24). İlk olarak gliomda keşfedilen “phosphatase and tensin homolog” (PTEN) geni kromozom 10q24’te yer alır ve “fosfotidilinozitol 3’-kinaz / protein kinaz B” (P13K/AKT) sinyal yolağını inhibe ederek apoptozun düzenlenmesinde rol alır. PTEN kaybı artmış hücre proliferasyonu ile sonuçlanır. PTEN kaybı metastaz yapmamış prostat tümörlerinde %5-27 arasında değişen oranlarda izlenirken metastatik prostat kanserlerinde bu oran %30-60’a çıkmaktadır (25,26). p27 prostat kanserinde rolü olan kromozom 12p12-3’te yer alan tümör supresör genidir ve “Cyclin-dependent kinase inhibitor 1B” (CDKN1b)’yi kodlar. p27 seviyeleri özellikle kötü prognozlu agresif prostat kanserlerinde düşüktür ve PTEN, CDKN1b ve NKX3.1 ile korele çalışır (27,28). Kromozom 17’de yer alan p53 geni diğer kanserlerde karşımıza sıkça çıkan bir tümör supresör gen olmasına rağmen yapılan çalışmalar primer prostat kanserinde p53 inaktivasyonunun nadir olduğunu göstermiştir (%10-20) (29). Bununla birlikte p53 mutasyonu ileri evre prostat kanserlerinde, kemik metastazı gösteren olgularda ve androjen bağımsız tümörlerde yaklaşık %42 oranında gösterilmiştir (30). 13q kromozomda yer alan ve apoptozu düzenleyen genlerden olan retinoblastom geni (RB) prostat kanserli olgularda bildirilmiştir. Retinoblastom geni gibi siklin bağımlı kinaz inhibitör proteinlerden olan p15, p16, p21 de tümör supresyonu ve hücre döngüsü düzenleyicisi olarak korele şekilde çalışmakta olup, primer kanserden çok ileri evre prostat kanserlerinde ya da metastatik tümörlerde karşımıza çıkmaktadır (15,17,31).

CHECK POINT KINASE 2 GENE

Son yıllarda kanser patogenezi anlamaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda malign tümörlerin gelişiminde, onkogenler ve tümör supresör genler kadar DNA hasarına verilen yanıtın da önemli olduğu anlaşılmıştır. DNA molekülü oksidatif yaşamın getirisi olan reaktif oksijen radikalleri gibi çok sayıda endojen hücre metabolitinin hedefi konumundadır. Endojen metabolitler yanı sıra ultraviyole, iyonize radyasyon, organik ve inorganik kimyasal ajanlar da ekzojen DNA hasarından sorumludur. Bu ajanlar DNA mutasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, delesyonlar, translokasyonlar ve füzyonlara sebep olabilir. DNA'yı bu hasardan korumakla görevli DNA polimeraz enzimi replikasyon sırasında 1/109 oranında hata yapar. Bu nedenle genetik bilginin bir hücreden diğerine sağlıklı aktarılabilmesi için antikanser bariyer olarak adlandırılacak DNA hasar kontrol noktaları bulunmaktadır (32,33). "Check Point Kinase 2 gene" (CHK2/ CHEK2) 22q kromozomda yer alır ve DNA hasarına yanıt (DDR) olarak aktive olduğunda hücrenin mitozaya girmesini önleyerek DNA tamir mekanizmalarının devreye girmesine olanak tanır (34). Sonuç olarak DNA hasarına verilen hücresel yanıt ve dolayısı ile hücre döngüsü kontrol noktası yanıtları kanser patogenezi anahtar rolü oynamaktadır. Bu nedenle son yıllarda DDR'ını açıklamaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmaktadır. DNA onarım enzimlerinden olan "Breast Cancer Susceptibility Gene 1" (BRCA1) ve "Breast Cancer Susceptibility Gene 2" (BRCA2) mutasyonları ile meme ve over kanseri arasındaki ilişki bu çalışmalarla gösterilmiştir (35). DNA hasarı kontrol noktası yolağı çok sayıda sinyal iletimi şeklinde düzenlenir. İlk olarak hasar özel sensörlerle tespit edilir. Daha sonra bu sinyal transduser proteinlere iletilir. Transduser proteinler transkripsiyonu düzenleyen proteinler ile DNA onarımında ve hücre döngüsünde rol alan p53 ve CDC25 gibi proteinleri baskılar. Bu yolda rol alan en önemli ajanlar "Ataxia Telangiectasia Mutated" (ATM) ve "ataxia-telangiectasia and Rad3-related" (ATR)'dir. ATM özellikle DNA çift zincir kırıklarına karşı gelişen DNA onarım mekanizmalarında transduser olarak rol alır. ATM aracılı sinyal iletimi hasarlı hücrenin kaderini belirler, hücre apoptoza gidebilir ya da hücre döngüsü durdurulabilir. ATM'nin bu etkisi farklı substratlar üzerinden olmaktadır. Bu substratlardan bazıları p53 (ilk keşfedilen), CHEK2, BRCA1'dir. ATR diğer önemli transduser proteindir. Bu proteinin de görevi ATM'ye benzer şekilde DNA hasarı geliştiğinde hücre döngüsü kontrol noktalarını düzenlemektir (32,36). ATR, ATM ile benzer substratları kullanmakla birlikte yapılan bir çalışmada ATR'nin ATM'ye kıyasla hasarın geç döneminde ortaya çıktığı, daha çok ultraviyole (UV) ile ilişkili DNA hasarında rol aldığı ve substrat olarak "Check Point Kinase 1

gene” (CHEK1)’i kullandığı gösterilmiştir. Bu durumu, ATM CHEK2’yi ATR CHEK1’i aktive eder yargısı ile basitleştirmek doğru değildir. DNA hasar onarımı birbiri ile ilişkili karmaşık yollardan oluşmaktadır. ATM/ATR tarafından aktive edilen CHEK1 ve CHEK2’nin etkileri çeşitlidir. Bu etkiler sirkadiyen ritmin düzenlenmesinden, kromatin remodelingi, regulasyonu ve transkripsiyonuna kadar değişebilir (32,37). DNA hasarı meydana geldiğinde hücre bir yandan hasarın onarımı için gerekli olan yolları devreye sokarken bir yandan da hasarın tamir edilebilmesi için DNA sentezini ve hücre döngüsünü durdurur. ATM tarafından fosforile edilen CHEK2, BRCA1 proteinini fosforile ederek DNA tamirini başlatır, aynı zamanda “Forkhead box M1” (FOXO1)’i fosforile ederek DNA tamir mekanizmasında görev alan BRCA2 ve “X-ray repair cross complementing protein 1” (XRCC1) genlerinin ekspresyonunu artırır (38). CHEK2 hücre döngüsü düzenleyici etkisini “Cell division cycle 25” ailesi üzerinden gösterir. CHEK2 tarafından fosforilasyona uğrayan CDC25 ailesi, hücre döngüsünü G1/S ve G2/M fazında durdurarak DNA tamirine olanak sağlar (32). CHEK2 ayrıca p53 üzerinden etki ederek hücre döngüsünü G1/S fazında durdurur. p53 çok uzun yıllardır bilinen G1/S fazında anahtar rolü olan proteindir. DNA hasarı durumunda p53 çok çeşitli yollarla fosforile olarak aktive edilir. ATM ve CHEK2 tarafından fosforile edilen ve bir transkripsiyon faktörü olan AATF, p53 ekspresyonunu artırır. CHEK2 p53’ün serin 366 (S366) ve treonin 387 (T387) aminoasitlerini fosforilayarak p53 proteinini aktive eder. p53’ün ATM/ATR, CHEK1/2 ya da DNA-protein kinaz tarafından fosforilasyonu “Mousedouble minute 2 homolog” (MDM2) ile ilişkisini bozarak p53’ün stabilitesini artırır. Buna ek olarak aktive olan p53 DNA hasar yanıtında rolü olan Gadd45, p21WAF1 gibi çok sayıda genin upregulasyonunu sağlar (39,40).

Son yıllarda DNA hasar yanıtında rol alan proteinlerin kanser gelişimindeki rolü birçok araştırmaya konu olmuştur. ATM, ATR, CHEK1, CHEK2, BRCA1 ve BRCA2 bu yollarda kritik önemi olan genler ve ürünlerinden bazılarıdır. Bu gen ve gen ürünlerinde meydana gelen mutasyonların tümör gelişimine sebep olabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda ATM ve CHEK2 ile lenfatik sistem tümörleri, ATM, CHEK2, BRCA1 ve BRCA2 ile meme kanseri, CHEK2, BRCA1 ve BRCA2 ile over kanseri, CHEK2 ile kolon ve prostat kanseri ilişkilendirilmiştir (32,41).

CELL DIVISION CYCLE 25 FAMILY

Protein fosforilasyonu memeli hücrelerinde büyümeyi ve hayatta kalmayı düzenleyen mekanizmadır. “Protein fosfatazlar” (PTPaz) hidrolize ettikleri aminoasit ester bağına göre iki

ana gruba ayrılırlar. Bunlar; serin-treonin spesifik protein fosfatazlar ve tirozin spesifik protein fosfatazlardır. PTPaz'lar tümör hücrelerinde genellikle bozulmuş olan temel hücresel süreçleri düzenlemekle görevli olduklarından son yıllarda araştırmalara konu olmaktadır. “Dual fosfatazlar” (DSPlar) PTPaz ailesinin alt grubudur. Genetik çalışmalarla 33 tane DSPaz bulunmuş olup bunlar arasında en çok bilgi sahibi olduğumuz grup CDC25 fosfatazlarıdır. Bu fosfatazlar siklin bağımlı kinazlar (CDK)'ın defosforilasyonu ve aktivasyonu ile hücre döngüsünü düzenlenmesinde görevlidirler (42). CDC25 fosfatazlar DNA hasarında aktive olan kontrol noktalarında anahtar rol oynar. Bütün hücreler UV radyasyon etkisi, serbest oksijen radikalleri gibi DNA hasarına neden olabilecek durumların yarattığı stresle başa çıkmak durumundadır. Böyle bir durumla karşılaşan hücre genellikle ilgili kontrol mekanizmasını etkinleştirerek DNA hasarından korunmaya çalışır. Bu mekanizmaların etkinleşmesi ile DNA onarımının yapılabilmesi için hücre döngüsü durdurulabilir ya da hücre programlanmış hücre ölümüne gidebilir. Kontrol mekanizmalarında defekt olduğunda hasarlı hücre bölünmeye devam eder ve hasarlı DNA yeni oluşan hücrelere aktarılır. CDC25 fosfataz kontrol mekanizmasının temelini oluşturduğundan bu basamakta gelişen herhangi bir sorun genetik istikrarsızlığa sebep olur. Hücre döngüsü düzenlenmesindeki bu anahtar rollerinin yanı sıra kanser hücrelerinde aşırı eksprese edilmelerinden dolayı kanser tedavisi için ideal hedeflerdir (43). Memeli hücresinde CDC25 ailesinin üç izoformu tanımlanmıştır. Bunlar; CDC25A, CDC25B ve CDC25C'dir (44-46). Bugün CDC25'lerin bilinen tek substratları CDK-siklin kompleksleridir. CDC25 ailesinin her üç üyesi de hücre döngüsünde CDK1 ve CDK2 aktivitelerini düzenleyerek G1-S ve G2-M geçişini kontrol eder. CDK/siklinler aralarında inhibitör proteinler olan p21, p27, p16 ve p15'in de yer aldığı çok sayıda karşıt mekanizma etkisi altındadır. CDK'lar, CDK-aktive edici kinaz üzerinde yer alan Thr160 ve Tyr161 fosforilasyonu ile aktive olurken, “Mitosis inhibitor protein kinase” (Wee1) ve “Myelin transcription factor 1” (Myt1) kinaz üzerinde yer alan Thr14 ve Tyr15 fosforilasyonu ile inhibe olurlar. CDC25 ailesinin üç üyesi de Thr14 ve Thr15 defosforilasyonundan sorumludur. Sonuç olarak CDK/siklin kompleksinin aktivasyonu tetiklenir (47). Memelilerde CDC25 ailesinin üç üyesi de CDK1 ve CDK2 üzerinden etki ederek hücre döngüsünün G1-S ve G2-M fazlarının düzenlenmesinden sorumludur. CDC25A öncelikli olarak CDK2-siklin E ve CDK2-siklin B kompleksini aktive ederek G1-S geçişini düzenler. Bununla birlikte kromozom kondensasyonunu başlattığı düşünülen CDK1-siklin B kompleksini aktive ederek G2-M geçişinde de rol alır. CDC25B ve CDC25C hücrenin mitoz bölünmeye girebilmesi için primer olarak gerekli proteinlerdir.

CDC25B'nin G2-M geçişi sırasında sentrozomda yer alan CDK1-siklin B kompleksinin ilk aktivasyonundan sorumlu olduğu düşünülmektedir. İlk aktivasyonun ardından mitozun erken döneminde nükleusta yer alan CDK1-siklin B kompleksinin aktivasyonu CDC25C tarafından tamamlanır. Yapılan araştırmalarda bu iki fosfatın S fazına giriş sırasında da görevi olduğu gösterilmiştir (40,48). CDC25 A, B ve C arasında fonksiyonel olarak benzerlik bulunması bu üç protein arasında fazlalık olan var mı sorusunu akla getirirse de, yapılan fare deneylerinde, fare embriyoları ile erişkin farelerde CDC25 düzeylerinin farklı olduğu bulunmuştur (49,50). CDC25A fare embriyolarında preimplantasyon aşamasından geç blastokist aşamasına kadar eksprese edilmez. CDC25A ekspresyonunun başlaması embriyonik hücre döngüsünün tipik G1 fazının başlaması ile koreledir. Embriyogenezin daha geç evrelerinde CDC25A dokuların çoğunda eksprese edilir. CDC25A'nın aksine CDC25B ve CDC25C ekspresyonu fare embriyogenezinin erken evrelerinde başlar. Buna dayanarak CDC25B ve CDC25C'nin preimplantasyon öncesi embriyoda hücre döngüsünü düzenlediği söylenebilir. Erişkin farelerde CDC25A'nın aksine CDC25B ve CDC25C çoğunlukla over ve testis dokularında eksprese edilir. CDC25A'sız bırakılan fareler embriyonel hayatın 5-7. günlerinde kaybedilir. Bu durum implante olan hücrelerin CDC25A yokluğunda işlev kaybına uğradığının göstergesidir. CDC25B ve CDC25C proteinleri olmayan fareler ise normal embriyogenez gösterirler. CDC25B ve CDC25C inhibisyonu yapılan farelerde CDC25A düzeyinin fare embriyo fibroblastlarında artmadığı bildirilmiştir. Buna dayanarak CDC25A'nın CDC25B ve CDC25C fonksiyonlarını kompanse edebilen protein olduğu söylenebilir (51). Diğer yandan çoğu erişkin doku CDC25B ve CDC25C eksikliğinde normal fenotipik görünüm sergilerken, CDC25B eksikliği olan dişi fareler, mayoz bölünme gerçekleşemediği için sterildir. Sonuç olarak CDC25B'nin dişi farelerin mayoz bölünmesi için esansiyel olduğu gösterilmiştir (52). CDC25 izoformları arasında fonksiyonel benzerlikler olsa da, hepsinin kendine has özellikleri olması nedeni ile hiçbirinin fazlalık olmadığı söylenebilir. DNA hasarına karşı çok sayıda kontrol yolağı aktive olur ve hücrenin G1-S, G2-M geçişi ya da S fazına girmesi engellenir. Sonuç ne olursa olsun hücre döngüsünün ilerlemesini durdurma amacı ile ilk meydana gelen CDK-siklin kompleksinin inhibisyonudur. DNA replikasyonunun tamamlanamaması ya da iyonize radyasyon gibi DNA hasarı durumunda ATM ve ATR kinaz yolu aktive olur. ATM öncelikle DNA çift zincir kırıklarındaki yanıtta sorumludur. ATR ise tek zincir kırıkları olan durumlarda aktive olur. Bazı farklılıklara rağmen ATM ve ATR yolları arasında işbirliği mevcuttur. Buna uygun olarak ATM ve ATR kinazlar kontrol noktası kinazlarını fosforile ederek CHEK1 ve CHEK2'yi aktive ederler. CHEK1 ve CHEK2'nin çok sayıdaki

substratlarından biri de CDC25 fosfatazlarıdır. CHEK1 ve CHEK2, CDC25 fosfatazların inhibisyonundan sorumludur. CHEK1, iyonize radyasyona ya da UV'ye bağlı DNA hasarı durumunda, CDC25A inhibisyonu yaparak hücre döngüsünün S ve G2 fazının durdurulmasından sorumludur. Yapılan bir çalışmada iyonize radyasyona maruz kalındığında CHEK1 ve CHEK2 tarafından CDC25A turnoverının hızlandırıldığı ve CDC25A'nın hiperfosforilasyona uğradığı gösterilmiştir. CDC25C, CDC25A'ya benzer şekilde DNA hasarına yanıt olarak ATM/ATR aktivasyonu ile CHEK1/CHEK2 tarafından fosforile edilir. CDC25 fosfatazlarının aktivasyonuna ek olarak CHEK1 aktivasyonu CDK-siklin komplekslerinin inhibisyonunu güçlendirmek için WEE1 kinaz aktivitesini artırır (43).

Ultraviyole radyasyon ya da osmotik stres gibi hücrel uyaranlar sonucu aktive olan diğer yolak "p38 mitogen-activated protein kinase" (MAPK) yolağıdır. MAPK yolağı da CDC25 fosfatazlara etki ederek G2-M geçişini engeller. İn vitro ve in vivo olarak UV ilişkili DNA hasarının ardından CDC25C ve CDC25B'nin, sisplatin tedavisi sonrasında CDC25A'nın MAPK1 ve MAPK2 tarafından fosforile edildiği gösterilmiştir (53,54). Bu bilgiler ışığında MAPK yolağının p53 bulunmayan tümör hücrelerinde UV ilişkili DNA hasarında alternatif kontrol yolağı olduğu söylenebilir. İlginç olarak MAPK yolağının DNA hasarına sebep olan kemotöropatik ajanlarla direk aktive olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle p53 eksikliği gösteren tümör hücrelerinde görülen kemotöropatik ajan direncinde MAPK yolağı önem kazanmaktadır (54).

Kontrol mekanizmalarının DNA hasarı durumunda aktivasyonu ile CDC25 fosfatazlar inaktive edilmelidir. Böylece hücre döngüsü durdurulabilir ve hücreye DNA tamiri ya da apoptoza girmesi için zaman kazandırılmış olur. Bu yolakta meydana gelen herhangi bir aksaklık genetik instabiliteye neden olacaktır (43). Bu nedenle meme, over, kolon ve baş boyun tümörleri gibi birçok kanser türünde artmış CDC25A ve CDC25B ekspresyonu rapor edilmiştir. CDC25A ve CDC25B'nin aşırı ekspresyonu sıklıkla agresif hastalık ve kötü prognoz ile ilişkilidir (42). Çalışmalarda bildirilen CDC25C ekspresyonundaki artış CDC25A ve CDC25B artışı kadar belirgin değildir. CDC25C'nin alt tipi olan CDC25C seviyeleri prostat tümörlerinin %50'sinde artarken bu oran normal prostat dokusunda %17 olarak bulunmuştur (43). Tümör gelişim basamaklarında CDC25'in aşırı ekspresyonunun mekanizması henüz açıklanamamış değildir. Kolo-rektal, gastrik, küçük hücreli dışı akciğer tümörleri ve Non-Hodgkin lenfomalar ile yapılan çalışmalar gen amplifikasyonunun CDC25'in aşırı ekspresyonunda rolü olmadığını göstermiştir. Bununla birlikte CDC25 artışını açıklayacak genetik mutasyonların varlığı konusunda henüz kesin kanıtlara ulaşılamamıştır.

CDC25 transkripsiyonu ile CDC25 protein seviyeleri arasında belirgin korelasyon kaybı bulunması nedeni ile CDC25 aşırı ekspresyonunun transkripsiyon, translasyon ve hatta posttranslasyonel basamakların herhangi bir dönemindeki hatadan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Transkripsiyon faktörü ve aynı zamanda protoonkogen olan c-myc'in rolü ise tartışmalıdır. Yapılan bir çalışmada CDC25A ve CDC25B'de myc/max için fonksiyonel bağlanma bölgeleri bulunduğu ve bu fosfatazların c-myc'in hedefi olduğu gösterilmiştir (55). c-myc aktivasyonu CDC25A ve CDC25B'nin mRNA seviyelerinde artışa sebep olur. Bu durumun CDC25A ve CDC25B'nin artmış ekspresyonu ile korele olduğu öne sürülse de, myc ile CDC25 fosfatazların hücre döngüsü düzenlenmesinde birlikte rol aldığını gösteren ilk çalışmanın ardından bu korelasyonu araştırmaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmış ancak %100 korelasyon hiçbirinde gösterilememiştir. Yine de meme tümörlerinde CDC25A, Non-Hodgkin lenfoma, akciğer tümörleri ve nöroblastomda CDC25B ile myc ve nmyc mRNA seviyeleri arasında belirgin korelasyon bulunduğu gösterilmiştir (43,56-59). CDC25A ayrıca G1-S faz geçişini kontrol eden major transkripsiyonel aktivatör olan "retinoblastom E2F1 transkripsiyon faktör 1" (E2F1-RB) yolağının transkripsiyonel hedefidir. E2F1 DNA hasarına bağlı gelişen apoptozda p53 ile birlikte ve p53'ten bağımsız olarak kilit rol oynamaktadır (60). Serum E2F düzeyleri azaltılan hücrelerle yapılan çalışmalar CDC25A aktivitesinin S fazına geçiş için esansiyel olduğunu göstermiştir (61,62). Bazı viruslarla enfekte olan hücrelerde CDC25 seviyelerinde artış gösterilmiştir. E6/E7 papilloma virüs ile enfekte fibroblastlarda CDC25B "Messenger RNA" (mRNA) artışı ve "Adenovirus early region 1A" (E1A) adenovirüs ile enfekte fibroblastlarda CDC25A mRNA seviyelerindeki artış buna örnek gösterilebilir (63). Bu bilgilere dayanarak CDC25 fosfatazların hücrel transformasyon sürecinde transkripsiyon faktörlerinin ve transforme virüslerin hedefi olduğu söylenebilir. CDC25 stabilitesini düzenleyen basamaklarda olabilecek değişiklikler CDC25 ekspresyon artışına katkıda bulunabilir. CDC25 fosfataz seviyeleri hücre siklusu boyunca artıp azalarak hücrenin mitozu girişini kontrol ederler. Mitozun sonuna doğru CDC25A seviyeleri "anaphase promoting complex/ cyclosome" (APC/C) tarafından hızla azaltılır (64). S-G2 geçişi ise CDC25A seviyeleri proteozom yolağı ile "F-box containing complex" (SCF)/ "Beta-transducin repeat containing" BTRCP aracılı mekanizmalar üzerinden azaltılır. SCF bağımlı CDC25A azalması CHK1 ve CHK2 serin kümeleri üzerinden olmaktadır (65). Benzer şekilde CDC25B S fazının ortalarında artmaya başlar ve G2-M fazı boyunca pik yaparak ardından hızla azalır. CDC25B azalması da proteozom yolağı ile olur ancak bu kez yolak CDK1-siklinA fosforilasyonuna ve SCF/ BTRCP bağlanmasına ihtiyaç duyar (66). CDC25

stabilizasyonunu sağlayan basamaklarda olabilecek değişikliklerin CDC25 aşırı ekspresyonunda rolü olabileceğinden yola çıkan bazı araştırmalar prostat, akciğer, mide kanseri gibi birçok kanser türünde BTRCP seviyelerinde azalma ile seyreden mutasyonları göstermişlerdir (67-69). Akciğer kanseri gelişiminde BTRCP “Small interfering RNA” (siRNA) inhibisyonunun CDC25A stabilizasyonunu arttırdığını gösteren yayınlar mevcuttur (68). Benzer durum CHEK için geçerlidir. Meme, kolon, over, akciğer, mide ve endometrium kanserlerinde ve lenfomalarda CHEK1 mRNA’sında ve protein seviyelerinde downregulasyon gösterilmiştir (70,71). BTRCP ve CHEK mutasyonları CDC25 artışının indirek göstergeleridir (43).

Fare embriyo fibroblastlarında invitro olarak CDC25A ve CDC25 B artışının onkojenik “Harvey rat sarcoma” (HRAS) ya da RB1 kaybı ile korele olduğu gösterilmiş olup bu farelerde in vivo ortamda yüksek dereceli tümör gelişimi izlenmiştir (72). Tek başına transgenik CDC25A ekspresyonunun fare meme dokusunda alveolar hiperplaziye neden olduğu gösterilmiş fakat bu farelerde spontan tümör gelişimi izlenmemiştir. Transgenik farelerde CDC25 aşırı ekspresyonu belirgin olarak tümör gelişimini hızlandırmış, hücre proliferasyonunda koordinasyon bozukluğunu induklemiş ve çoklu kromozomal anomalilere sebep olmuştur (73). CDC25A ve CDC25B’nin aşırı ekspresyonu fosfataz aktivitesinde artış anlamına gelir. Bu durumda bu iki fosfatazın hedefindeki CDK-siklin komplekslerinin aşırı aktivasyonu gelişir. Bu durum hücrenin zamansız şekilde hücre bölünmesine girmesine neden olarak genetik sapmalara zemin hazırlar. Artmış CDC25B seviyelerinin S-G2 fazındaki hücrelerin, DNA replikasyonu tamamlanmadan art arda mitozu girmeye zorladığı gösterilmiştir (43,74). CDC25A seviyelerindeki aşırı artış ise hücrenin S fazına girişini hızlandırarak mitozu hızlandırır (75). Tam tersi mekanizmalarla CDC25B ve CDC25C’ye karşı geliştirilmiş antikorların mikroenjeksiyonu ya da bu iki fosfatazın inaktif mutantlar halinde transfeksiyonu hücre döngüsünde G2 arrestine neden olur (76). CDC25A antikorlarının ya da mutant formlarının ise hücre siklusunda G1 arrestine neden olduğu gösterilmiştir (77).

Sonuç olarak DNA hasarı ile kontrol noktalarının aktivasyonu ve hücre döngüsünün durması sağlanır. Bu sayede hücre DNA hasarının tamiri için zaman kazanmış olur. Eğer hasar tamir edilemeyecek boyutta ise hücre apoptoza gider. Kontrol noktaları aktive olduğunda CDC25 fosfatazlar inaktive edilir. Proteozom yolağı tarafından tam olarak inaktivasyon sağlanamadığı durumlarda CDC25 proteinleri CDK-siklin komplekslerini aktive etmeye devam eder ve hücreyi kontrol noktası bariyerini aşmaya zorlar (43). Çalışmalarda

aşırı CDC25A ekspresyonunun S faz kontrol noktasının feshedilmesine neden olarak radyorezistan DNA sentezinde rol aldığı gösterilmiştir (78). Bugünkü kanser araştırmaları CDC25 aşırı ekspresyonunun tümör oluşumundaki farklı basamaklardan kaynaklandığını göstermektedir. Ayrıca hücre döngüsünde yarattıkları etkiler nedeni ile genomik instabiliteye neden olmalarının ve normal yolakta yer alan onkogenlerle koopere şekilde çalışmalarının hastalığın ilerlemesine katkıda bulunduğu söylenebilir. CDC25’ler mitojenik sinyal yolları ile hücre döngüsü arasında doğrudan bağlantı sağladıklarından antikanser tedavisinde ideal birer hedeftir (43).

THE APOPTOSIS-ANTAGONIZING TRANSCRIPTION FACTOR

“The Apoptosis-Antagonizing Transcription Factor” (AATF) ilk olarak ratlarda keşfedilmiş olup daha sonra insanlarda barsak kript epitel hücresi farklılaşmasında rol alan ve fibroblastlar tarafından salgılanan “transforming growth factor factor- beta” TGF- β tarafından düzenlenen genlerin araştırılması sırasında bulunmuştur. AATF, 17q11.2-q12 kromozomda yer alan, 560 aminoasitten oluşan ve Che-1 olarak da isimlendirilen bir proteindir. “3 L = leucine and X = any 5 amino acids” (LXXLL)’ten oluşan, nükleer hormon reseptörleri için bağlanma bölgesi ve çok sayıda kinaz için fosforilasyon alanına sahip, nükleer yerleşimli proteindir. AATF her dokuda eksprese edimesinin yanı sıra, beyin, kalp, timus, böbrek ve plasenta gibi dokulardaki ekspresyonu diğer dokulardan fazladır (79,80). AATF proteini transkripsiyonundan parçalanmasına kadar geçen sürenin büyük bölümünde proteosom yolağı tarafından kontrol edilir. AATF, DNA hasar yanıtı, hücre döngüsü düzenlenmesi, kromatin remodelingi ve apoptoz gibi hücre sel süreçlerde anahtar rol oynamaktadır (81). AATF aynı zamanda tümör supresör gen ve onkogen olarak işlev görmektedir. AATF’nin rolü esas olarak tümör orijini tarafından belirlenir. RNA polimeraz 2’nin 11 alt ünitesi ile ilişkili olup p21 ve siklin bağımlı kinaz inhibitörler aracılığı ile apoptozun inhibisyonunda rol alan transkripsiyon faktörüdür (82). AATF hücre döngüsü düzenlenmesindeki rolü nedeni ile Rb, “DAP like kinases” (DLK) ve “histone deacetylases” (HDACs) gibi çok sayıda mekanizma ile ilişki halindedir. Örneğin Rb geni, E2F ile etkileşerek hücre çoğalmasında görev alan proapoptotik gendir. Benzer olarak DLK, HDACs hücrenin hayatta kalabilmesi için gereken, kromatin yeniden düzenlenme sürecini gösteren önemli belirteçlerdir. Tüm bu mekanizmalar hücre döngüsü için esansiyeldir ve AATF tüm bu basamakların ortak noktasıdır. AATF onkogen olarak da rol alır. Meme kanseri ve lösemide AATF seviyelerinde artış olduğu bilinmektedir. AATF gen ürünü “specificity protein 1” (SP1) ve Rb gen ürünleri ile etkileşime girme

yeteneği sayesinde bir kısır döngüyü de başlatmış olur. AATF bağımlı E2F salınımı sonucu c-myc geni upregüle olur, c-myc geni de AATF upregulasyonunu sağlar. Diğer yandan AATF P13K/AKTyolağı üzerinden “Bcl-2-associated death promoter” (Bad) fosforilasyonuna neden olarak kendi inaktivasyonunu sağlar. AATF inaktivasyonuna Bcl-2 aktivasyonu eklendiği takdirde hücre ölümsüz hale gelebilir. Bu mekanizmanın lösemik hücrelerde izlenen AATF artışını açıkladığı düşünölmektedir (81,83,84). Ökaryotik hücrelerin DNA hasar yanıtı ATM/ATR ile CHK1/CHK2 kinaz aktivasyonları ve bunun sonucunda gelişen p53 fosforilasyonu ile sağlanmaktadır. Yapılan araştırmalarda ATM ve CHK2'nin transkripsiyon düzenleyici olan AATF fosforilasyonu üzerinden p53 ve p21 gen transkripsiyonunu düzenlediği gösterilmiştir. Ayrıca AATF'nin DNA hasarında fosforile edilerek p53 üzerinden G2/M kontrol noktasında rol oynadığı ve AATF'nin siRNA tarafından inhibisyonunun kanser hücrelerini kemoterapiye hassas hale getirdiği ortaya konmuştur (39). Bir araştırmada prostat tümörlerinde AATF seviyesi düşük bulunmuş, yapılan diğer araştırmalarda kolon ve böbrek tümörlerinde de benzer sonuçlar elde edilmiştir (84).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma (05.02.2014 tarih, 03/06 karar numarası TTF-GOKAEK 2014/18 Protokol numaralı belge) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Ek 1).

Bu çalışmada normal prostat dokuları ve prostat adenokarsinomlu dokularda hücre siklusunun düzenlenmesinde önemli rollere sahip olan CDC25A, CDC25C ve AATF genlerinde mutasyon varlığı konusunda şüphe uyandırabilecek protein ekspresyon düzeyleri ve bu proteinlerin subsellüler lokalizasyonlarındaki farklılıklarını gösterebilecek immünohistokimyasal belirteçler kullanılarak, bu genlerin ve proteinlerin birbirleriyle ilişkilerinin yanı sıra prostat dokusunda artan malignite potansiyeli ile ilişkilerini incelemek amaçlandı. Bu amaçla 2007-2013 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı arşivine kayıt edilmiş ve arşivde yer alan 177'si prostat adenokarsinomu (%63,7), 101'i benign prostat dokusu (%36,3) içeren toplam 278 olgu incelendi.

Bu bağlamda prostatektomi, radikal prostatektomi ve transüretral prostatektomi materyallerine ait Hematoksilen Eozin kesitler ışık mikroskobunda incelenerek tümör dokusu yeterli olan vakaların parafin blokları seçildi. Çalışmaya 177'sine prostat adenokarsinomu, 101'ine benign prostat dokusu tanıları verilmiş toplam 278 vaka dahil edildi. Bu materyallere ait lamlar ışık mikroskobu ile incelendi. İncelemede biyopsilere ait özellikleri en iyi yansıtan, birer tane yedekleriyle birlikte toplam ikişer lam seçildi. Bu lamlara ait parafine gömülü doku blokları blok arşivinden çıkarıldı. Bu bloklardan polizinli ve pozitif şarjlı lamlar üzerine 4 mikron kalınlığında kesitler alındı. Kesit alınmış lamlar 70°C'lik etüvde 1 saat bekletildi.

Lamlar Benchmark Ventana marka immünohistokimya cihazına alındı ve her olguya ait kesitlere CDC25A, CDC25C, AATF immünohistokimyasal antikorları uygulandı.

Çalışmada CDC25A antikoruna için Santa Cruz Biotechnology marka DCS 120 klonu monoklonal IgG kiti; CDC25C antikoruna için Santa Cruz Biotechnology marka H-150 klonu poliklonal IgG kiti; AATF antikoruna için LSBio marka 3C7 klonu poliklonal IgG kiti kullanıldı. Her kit için katalogta belirtilen kontrol dokularını içerir biyopsi örnekleri ile kontrol boyaması yapıldı.

“Cell division cycle 25 homolog A” ve “Cell division cycle 25 homolog C” ile boyama sırasında şu işlem sıraları takip edildi:

- 1) Slayt 75°C'ye kadar ısıtıldı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 2) Depar için 12 dakika EZ Prep uygulandı.
- 3) LCS uygulandı.
- 4) Slayt 76°C'ye kadar ısıtıldı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 5) Slayt çalkalandı.
- 6) LCS uygulandı.
- 7) Slayt 95°C'ye kadar ısıtıldı ve 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 8) Antijen geri kazanımı için 60 dakika CCl uygulandı.
- 9) 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 10) 2 defa Reaction Buffer ile yıkandı ve LCS uygulandı..
- 11) Slayt 37 °C'ye kadar ısıtıldı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 12) Reaction Buffer uygulandı.
- 13) Bir damla INHIBITOR uygulandı
- 14) LCS uygulandı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 15) Reaction Buffer uygulandı.
- 15) LCS uygulandı
- 16) Slayt 37°C'ye kadar ısıtıldı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 17) Reaction Buffer uygulandı.
- 18) LCS uygulandı.
- 19) Primer antikor uygulandı ve 1 saat 36 dakika süreyle inkübe edildi.
- 20) Reaction Buffer uygulandı.
- 21) LCS uygulandı.
- 22) Slayt 37°C'ye kadar ısıtıldı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 23) Reaction Buffer uygulandı

- 24) Bir damla AMPLIFIER A uygulandı.
- 25) LCS uygulandı ve 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 26) Reaction Buffer uygulandı.
- 27) Bir damla AMPLIFIER B uygulandı.
- 28) LCS uygulandı ve 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 29) Reaction Buffer uygulandı.
- 30) LCS uygulandı.
- 31) Reaction Buffer uygulandı.
- 32) Bir damla BLOCKER A uygulandı.
- 33) LCS uygulandı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 34) Reaction Buffer uygulandı.
- 35) Bir damla BLOCKER B uygulandı.
- 36) LCS uygulandı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 37) Reaction Buffer uygulandı.
- 38) Bir damla BIOTINYLATED Ig uygulandı.
- 39) LCS uygulandı ve 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 40) Reaction Buffer uygulandı.
- 41) LCS uygulandı.
- 42) Reaction Buffer uygulandı.
- 43) Bir damla AVIDIN-HRPO uygulandı.
- 44) 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 45) Reaction Buffer uygulandı.
- 46) LCS uygulandı.
- 47) Reaction Buffer uygulandı.
- 48) Bir damla AEC ve bir damla AEC H₂O₂ uygulandı.
- 49) LCS uygulandı
- 50) 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 51) Reaction Buffer uygulandı.
- 52) Bir damla HEMATOXYLIN uygulandı.
- 53) LCS uygulandı ve 16 dakika süreyle inkübe edildi.
- 54) Reaction Buffer uygulandı.
- 55) LCS uygulandı.
- 56) Reaction Buffer uygulandı.

- 57) Bir damla BLUING REAGENT uygulandı.
- 58) Lamel uygulandı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 59) Reaction Buffer uygulandı.
- 60) LCS uygulandı.
- 61) Lamlar sistemden çıkartılıp deterjanlı suyla yıkandı
- 62) Lamlar kurutulup Aquamount ile kapatıldı.

“Apoptosis antagonizing transcription factor” ile boyama sırasında şu işlem sıraları takip edildi:

- 1) Slayt 75°C’ye kadar ısıtıldı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 2) Depar için 12 dakika EZ Prep uygulandı.
- 3) LCS uygulandı.
- 4) Slayt 76°C’ye kadar ısıtıldı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 5) Slayt çalkalandı.
- 6) LCS uygulandı.
- 7) Slayt 95°C’ye kadar ısıtıldı ve 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 8) Antijen geri kazanımı için 30 dakika CCl uygulandı.
- 9) 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 10) 2 defa Reaction Buffer ile yıkandı ve LCS uygulandı..
- 11) Slayt 37 °C’ye kadar ısıtıldı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 12) Reaction Buffer uygulandı.
- 13) Bir damla INHIBITOR uygulandı
- 14) LCS uygulandı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 15) Reaction Buffer uygulandı.
- 15) LCS uygulandı
- 16) Slayt 37°C’ye kadar ısıtıldı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 17) Reaction Buffer uygulandı.
- 18) LCS uygulandı.
- 19) Primer antikör uygulandı ve 48 dakika süreyle inkübe edildi.
- 20) Reaction Buffer uygulandı.
- 21) LCS uygulandı.
- 22) Slayt 37°C’ye kadar ısıtıldı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 23) Reaction Buffer uygulandı

- 24) Bir damla BLOCKER A uygulandı.
- 25) LCS uygulandı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 26) Reaction Buffer uygulandı.
- 27) Bir damla BLOCKER B uygulandı.
- 28) LCS uygulandı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 29) Reaction Buffer uygulandı.
- 30) Bir damla BIOTINYLATED Ig uygulandı.
- 31) LCS uygulandı ve 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 32) Reaction Buffer uygulandı.
- 33) LCS uygulandı.
- 34) Reaction Buffer uygulandı.
- 35) Bir damla AVIDIN-HRPO uygulandı.
- 36) 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 37) Reaction Buffer uygulandı.
- 38) LCS uygulandı.
- 39) Reaction Buffer uygulandı.
- 40) Bir damla AEC ve bir damla AEC H2O2 uygulandı.
- 41) LCS uygulandı
- 42) 8 dakika süreyle inkübe edildi.
- 43) Reaction Buffer uygulandı.
- 44) Bir damla HEMATOXYLIN uygulandı.
- 45) LCS uygulandı ve 16 dakika süreyle inkübe edildi.
- 46) Reaction Buffer uygulandı.
- 47) LCS uygulandı.
- 48) Reaction Buffer uygulandı.
- 49) Bir damla BLUING REAGENT uygulandı.
- 50) Lamel uygulandı ve 4 dakika süreyle inkübe edildi.
- 51) Reaction Buffer uygulandı.
- 52) LCS uygulandı.
- 53) Lamlar sistemden çıkartılıp deterjanlı suyla yıkandı
- 54) Lamlar kurutulup Aquamount ile kapatıldı.

DEĞERLENDİRME

Tüm kesitler önce tez araştırmacısı tarafından, daha sonra tez yöneticisi ile birlikte değerlendirildi. Buna göre kontrol dokularındaki boyanma paterni ve katalogda belirtilen boyanma özelliklerine göre AATF, CDC25A ve CDC25C için sitoplazmik ve nükleer boyanma durumları değerlendirildi. Dokularda incelenen sitoplazmik boyanma özellikleri, yoğunlukları temel alınarak; boyanma izlenmedi (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanma (++) ve kuvvetli boyanma (+++) olarak değerlendirildi. AATF, CDC25A ve CDC25C için nükleer boyanmalar nükleer boyanma varlığına göre; nükleer boyanma mevcut (+) ve nükleer boyanma izlenmedi (-) olarak değerlendirildi.

Tablo ve grafiklerde CDC25A, CDC25C ve AATF çalışmalarında nükleer boyanma izlenen vakalar; nükleer boyanma açısından pozitif (+) olarak gruplandı ve “1” olarak skorlandı. Nükleer boyanma izlenmeyen vakalar ise; nükleer boyanma açısından negatif(-) olarak gruplandı ve “0” olarak skorlandı. Her üç çalışma için sitoplazmik boyanma özellikleri boyanma yoğunluklarına göre gruplandı ve boyanma izlenmedi: “0”, zayıf boyanma (+): “1”, orta şiddette boyanma (++): “2” ve kuvvetli boyanma (+++): “3” olacak şekilde skorlandı.

Prostat adenokarsinomu olguları “Gleason Skorum Sistemine” göre 3 gruba ayrıldı. Buna göre Gleason skoru 4, 5, 6 olanlar Derece I, Gleason skoru 7 olanlar Derece II ve Gleason Skoru 8, 9, 10 olanlar Derece III olarak gruplandı (1). İnceleme sırasında ayrıca adenokarsinomların tümörle infiltre prostat dokusu yüzdeleri, perinöral tümör invazyonu, bilateral tümör tutulumu, ekstraprostatik tümör yayılımı, vezikula seminalis invazyonu ve lenfovasküler invazyon değerlendirildi.

İncelenen adenokarsinom tanısı almış vakalar Gleason skorlarına göre, Gleason skoru 4-6 olanlar; Gleason skoru 7 olanlar ve Gleason skoru 8-10 olanlar şeklinde gruplanır iken tümörle invaze prostat dokusu yüzdeleri sayısal veri olarak değerlendirmeye alındı. Bunlara ek olarak malign vakalar perinöral invazyon, bilateral tutulum, ekstraprostatik yayılım, vezikula seminalis invazyonu, lenfovasküler invazyon olup olmamasına göre var (+), yok (-) şeklinde gruplandı.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Sayısal sonuçlar ortalama±Standart Sapma ile, kategorik sonuçlar sayı (yüzde) ile gösterildi. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında Pearson ya da Fisher Ki-Kare testlerinden uygun olanı kullanıldı. Olgu gruplarına göre yaş değerlerinin karşılaştırılmasında Tek Yönlü

ANOVA testi kullanıldı. CDC25A, CDC25C ve AATF antikorlarının sitoplazmik ve nukleer boyanma değerleri arasındaki ilişki Spearman korelasyon analizi ile incelendi. Olgu gruplarına göre yaş değerlerinin grafiksel gösterimi “Ortalama \pm %95 Güven Aralığı” grafiği ile, kategorik verilerin grafiksel gösterimi “Bar grafik” ile yapıldı. $P<0.05$ değeri istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi. İstatistiksel analizler T.. Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalında SPSS 20,0 (Lisans No: 10240642) paket programı kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

İstatistiksel çalışma sonucunda benign vaka grubunda yer alan hastaların yaş ortalaması 72 ve malign vaka grubunda yer alanların yaş ortalaması 68 olarak tespit edildi. Malign ve benign gruplarda yer alan vakalarda izlenen en düşük yaş 50 olup, malign grupta yer alan vakalarda izlenen en yüksek yaş 89, benign grupta yer alan vakalarda izlenen en yüksek yaş 88 olarak tespit edildi.

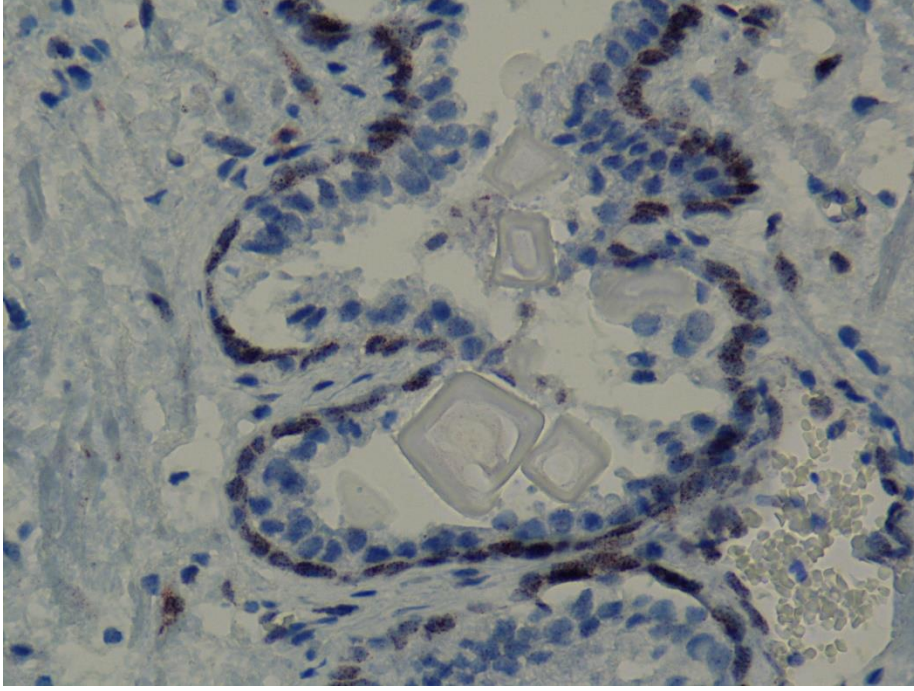
“CELL DIVISION CYCLE 25 A ” ANTİKORUNUN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BOYANMA PATERNİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Vaka gruplarında CDC25A antikorunun (Santa Cruz Biotechnology, DCS 120 klonu, monoklonal IgG) nükleer boyanma özelliklerine bakıldığında 70 (%69,3) benign postat olgusu nükleer boyanma açısından negatif olarak değerlendirilirken, 31 (%30,7) vakada nükleer pozitiflik tespit edildi. Malign gruptaki 177 vakanın 173'ü (%97,7) nükleer boyanma açısından negatif iken 4'ü (%2,3) pozitif olarak değerlendirildi (Tablo 1,Şekil 1-3).

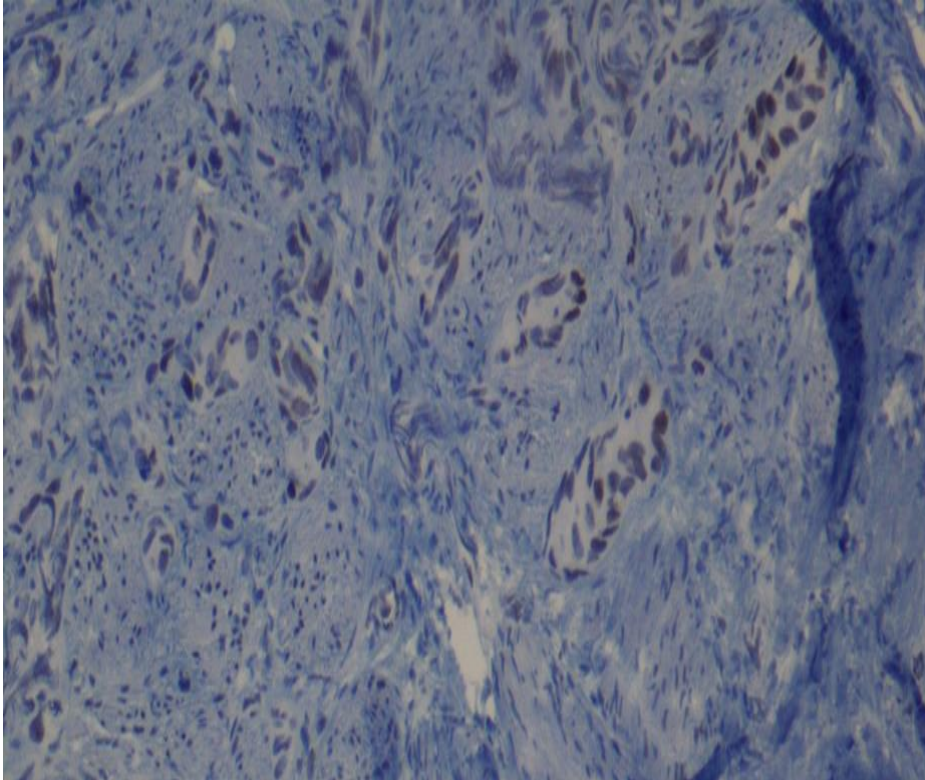
Tablo 1. CDC25A'nın tanı gruplarına göre nükleer boyanma değerleri

Boyanma yaygınlığı	Malign	Benign
0	173 (%97,7)	70 (%69,3)
1	4 (%2,3)	31 (%30,7)

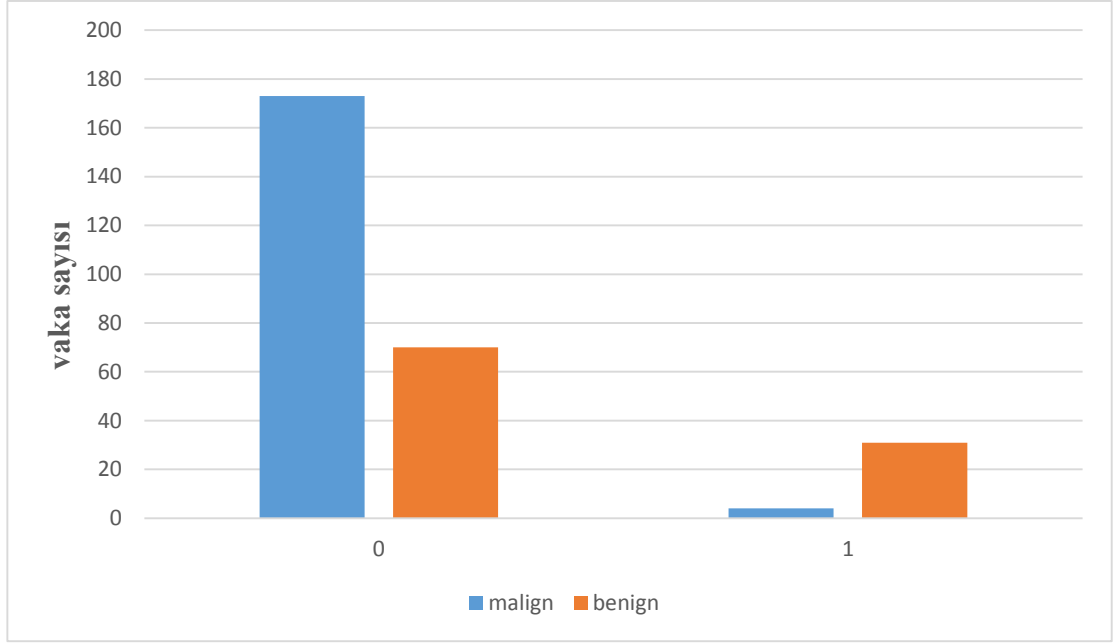
0: Negatif (Boyanma yok) **1:** Pozitif (nükleer boyanma var) Fisher Ki-Kare testi (p=0,000).



Şekil 1. Normal prostat bezinde CDC25A ile nükleer boyanma (x400)



Şekil 2. Prostat adenokarsinomda CDC25A ile nükleer boyanma (x200)



Şekil 3. CDC25A'nın tanı gruplarına göre nükleer boyanma değerleri

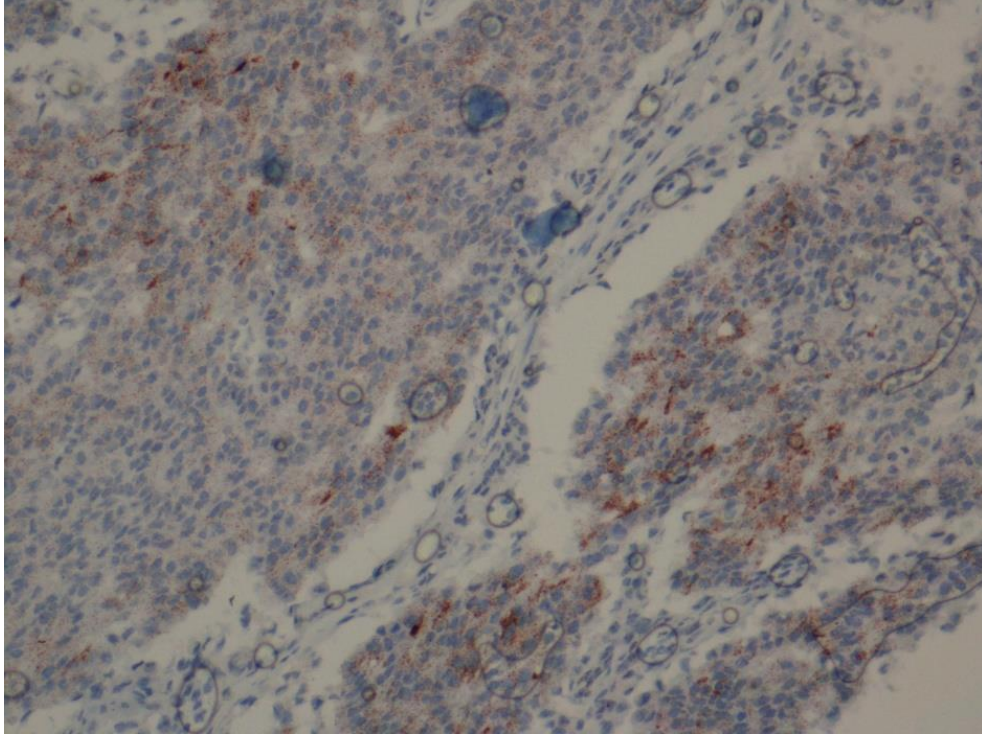
0: Negatif (Boyanma yok) **1:** Pozitif (nükleer boyanma var)

Vaka gruplarına göre CDC25A sitoplazmik boyanma özelliklerinin değerlendirilmesinde malign vakaların 172'sinde (%97,2) benign vakaların 99'unda (%98,0) boyanma izlenmedi. Malign grupta yer alan 177 vakanın 4'ünde (%2,3) +/+++; 1'inde (0,6) ++/+++; sitoplazmik reaksiyon gözlemlendi. Benign gruba bakıldığında 101 vakanın 2'sinde (%2) +/+++ sitoplazmik reaksiyon olduğu görüldü. Benign vakalarda ++/+++ sitoplazmik reaksiyon izlenmezken malign ve benign vakalarda +++/+++ sitoplazmik reaksiyon gözlenmedi (Tablo 2, Şekil 4,5).

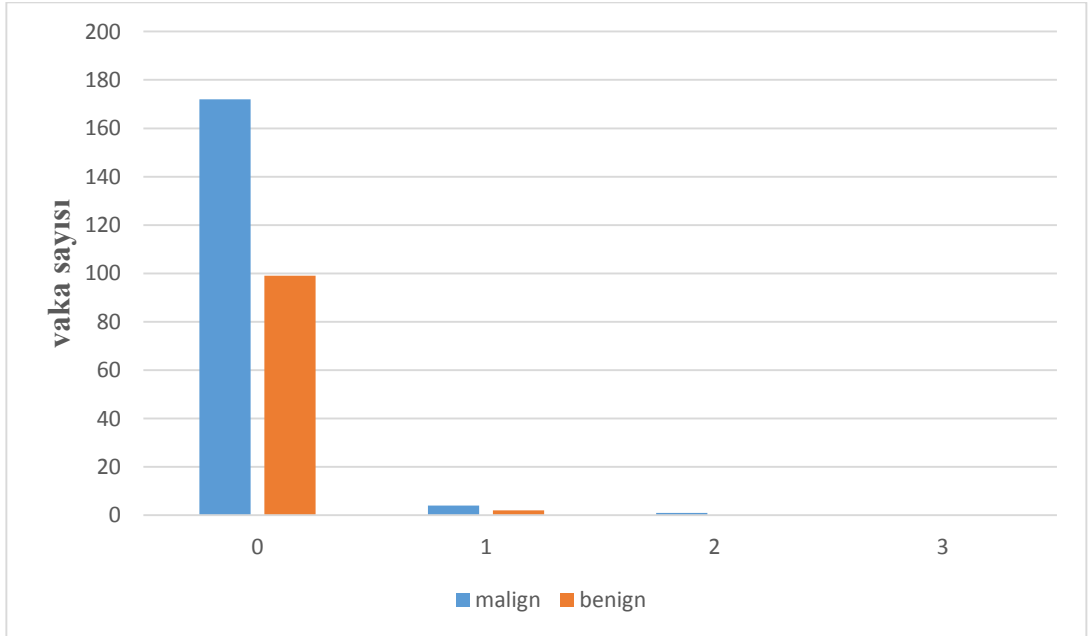
Tablo 2. CDC25A'nın tanı gruplarına göre sitoplazmik boyanma değerleri

Boyanma yoğunluğu	Malign	Benign
0	172 (%97,2)	99 (%98,0)
1	4 (%2,3)	2 (%2)
2	1 (%0,6)	0 (%0)
3	0 (%0)	0 (%0)

0: Boyanma izlenmedi, **1:** Zayıf boyanma (+/+++), **2:** Orta şiddette boyanma (++/+++), **3:** Kuvvetli boyanma (+++/+++).Fisher Ki-Kare testi (p=0,741).



Şekil 4. Prostat adenokarsinomda CDC25A ile ++/+++ sitoplazmik boyanma (x200)



Şekil 5. CDC25A' nin tanı gruplarına göre sitoplazmik boyanma değerleri

1: Zayıf boyanma (+/+++), **2:** Orta şiddette boyanma (+/+++), **3:** Kuvvetli boyanma (+++/+++).

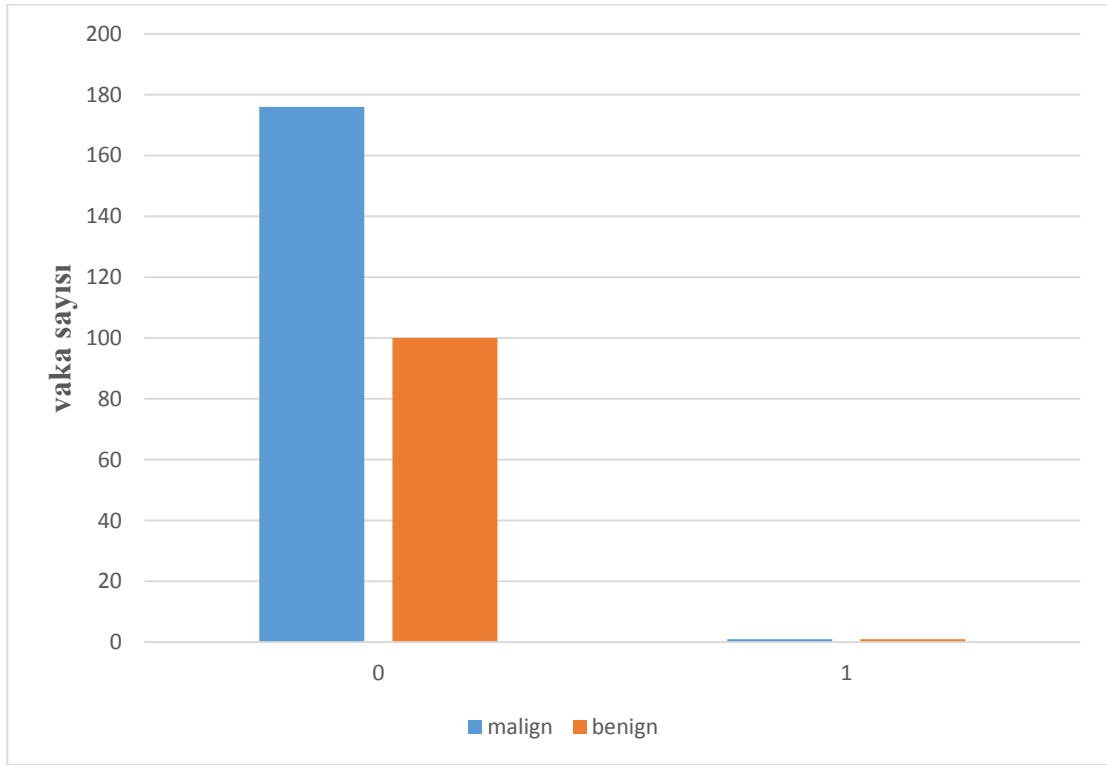
“CELL DIVISION CYCLE 25 C ” ANTİKORUNUN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BOYANMA PATERNİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Vaka gruplarında CDC25C antikorunun (Santa Cruz Biotechnology, H-150 klonu, poliklonal IgG) nükleer boyanma özelliklerine bakıldığında 100 (%99,0) benign postat vakası nükleer boyanma açısından negatif, 1 (%1,0) vaka ise pozitif olarak değerlendirildi. Malign gruptaki 177 vakanın 1’inde (%0,6) nükleer boyanma açısından pozitiflik görülürken, 176’sı (%99,4) negatif olarak değerlendirildi (Tablo 3, Şekil 6).

Tablo 3. CDC25C’nin tanı gruplarına göre nükleer boyanma değerleri

Boyanma yaygınlığı	Malign	Benign
0	176 (%99,4)	100 (%99,0)
1	1 (%0,6)	1 (%1,0)

0: Negatif (Boyanma yok) **1:** Pozitif (nükleer boyanma var) Fisher Ki-Kare testi (p=1,000).



Şekil 6. CDC25C’nin tanı gruplarına göre nükleer boyanma değerleri

0: Negatif (Boyanma yok) **1:** Pozitif (nükleer boyanma var).

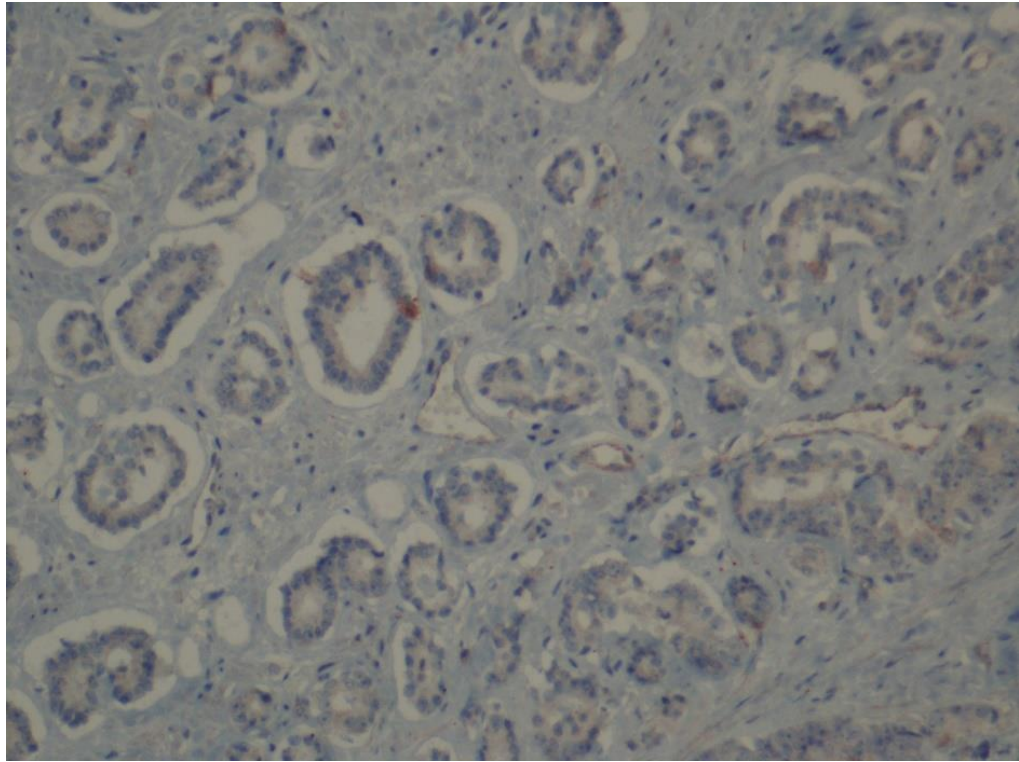
Vaka gruplarına göre CDC25C sitoplazmik boyanma özelliklerinin değerlendirmesinde malign grupta 86 (%48,6) vakada boyanma izlenmedi. Malign vakaların

51'inde (%28,8) +/+++; 30'unda (%16,9) ++/+++; 10'unda (%5,6) +++/+++ sitoplazmik boyanma gözlemlendi. Benign grupta 101 vakanın 93'ünde (%92,1) boyanma izlenmezken, 6'sında (%5,9) +/+++; 2'sinde (%2,0) ++/+++ sitoplazmik boyanma olduğu görüldü. Benign vakalarda +++/+++ sitoplazmik boyanma gözlenmedi (Tablo 4, Şekil 7-10).

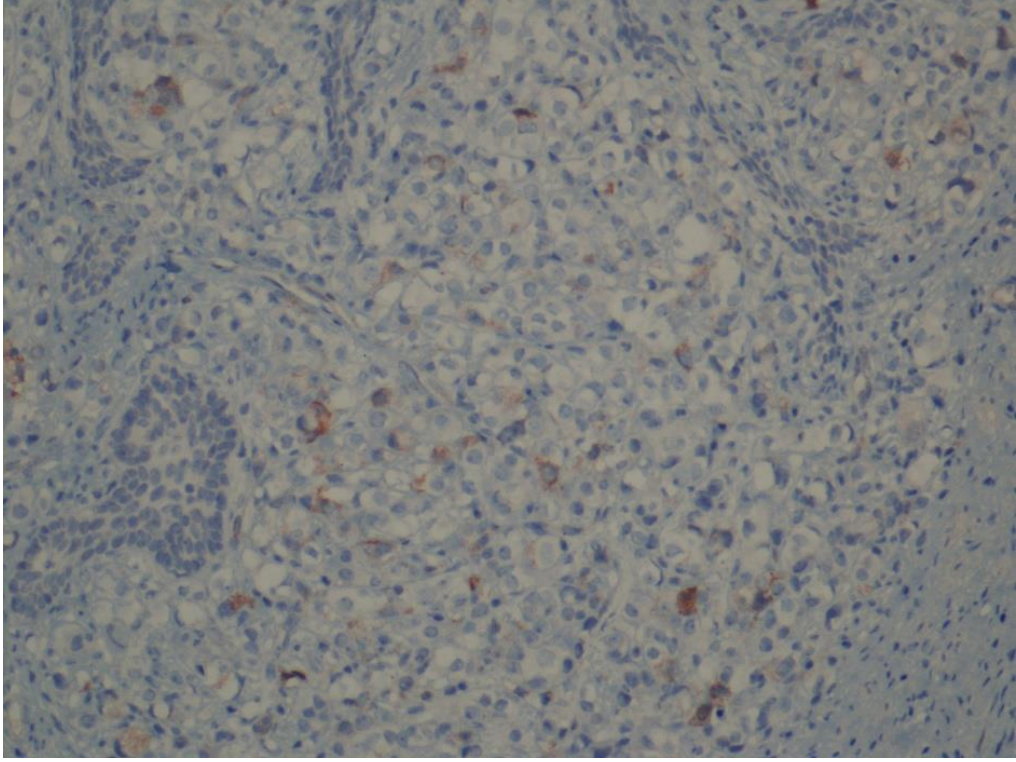
Tablo 4. CDC25C'nin tanı gruplarına göre sitoplazmik boyanma değerleri

Boyanma yoğunluğu	Malign	Benign
0	86 (%48,6)	93 (%92,1)
1	51 (%28,8)	6 (%5,9)
2	30 (%16,9)	2 (%2,0)
3	10 (%5,6)	0 (%0,0)

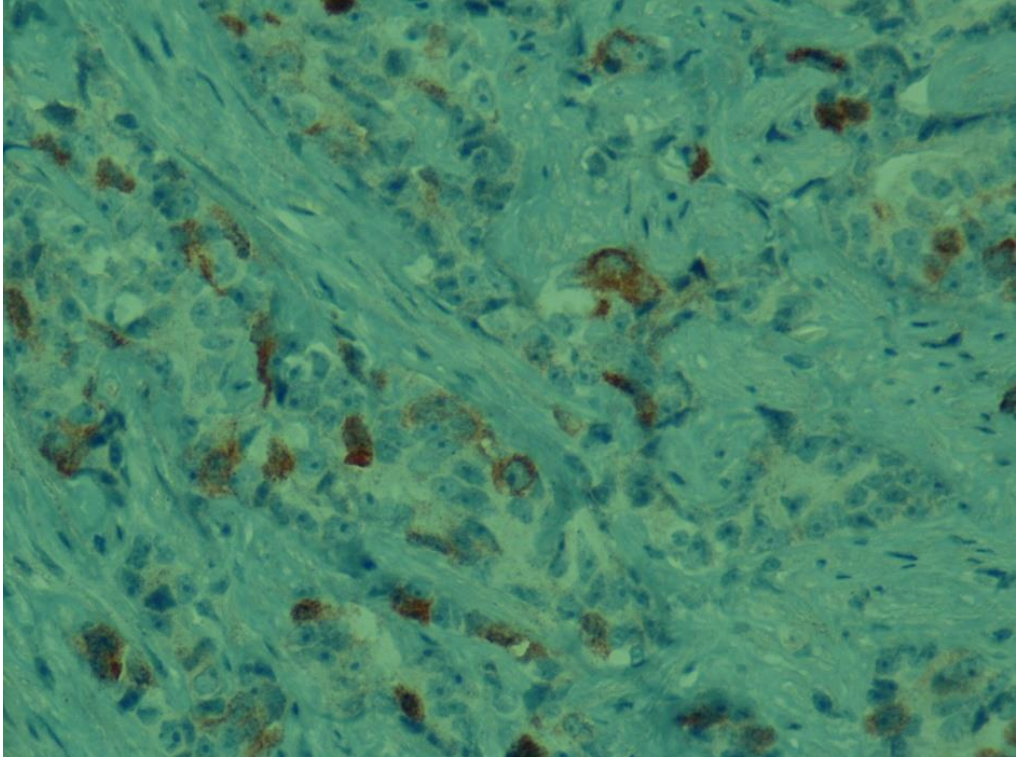
0: Boyanma izlenmedi, **1:** Zayıf boyanma (+/+++), **2:** Orta şiddette boyanma (++/+++), **3:** Kuvvetli boyanma (+++/+++).Fisher Ki-Kare testi (p<0,001).



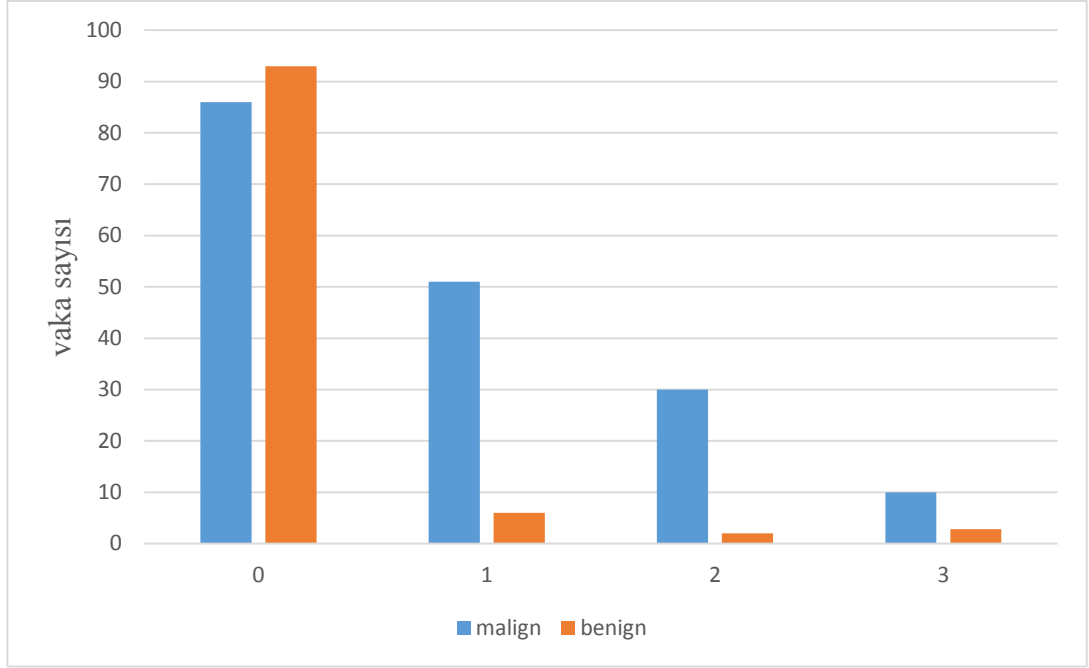
Şekil 7. Prostat adenokarsinomda CDC25C ile +/+++ sitoplazmik boyanma (x200)



**Şekil 8. Prostat adenokarsinomda CDC25C ile ++/+++ sitoplazmik boyanma
(x200)**



**Şekil 9. Prostat adenokarsinomda CDC25C ile +++/+++ sitoplazmik boyanma
(x400)**



Şekil 10. CDC25C' nin tanı gruplarına göre sitoplazmik boyanma değerleri

1: Zayıf boyanma (+/+++), **2:** Orta şiddette boyanma (++/+++), **3:** Kuvvetli boyanma (+++/+++).

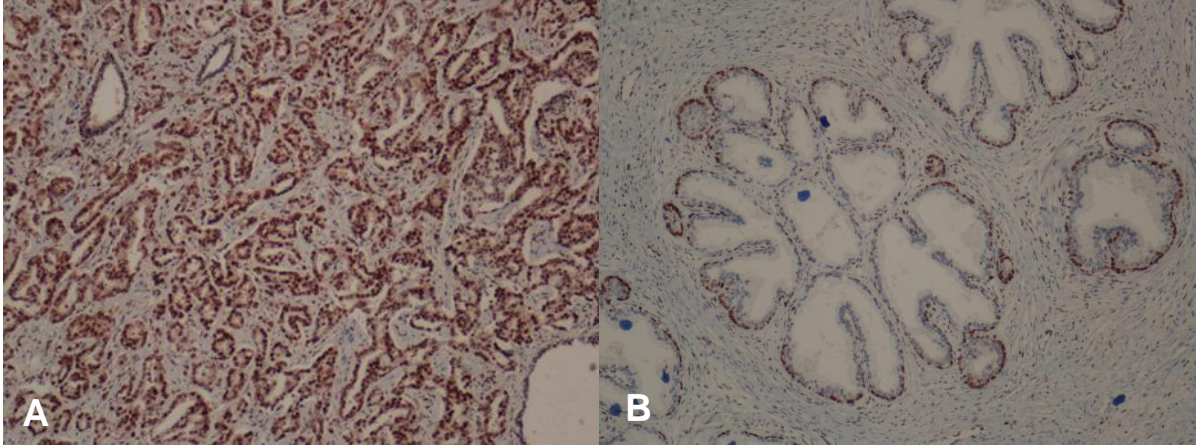
“APOPTOSIS-ANTAGONIZING TRANSCRIPTION FACTOR” ANTİKORUNUN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BOYANMA PATERNİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Vaka gruplarında AATF antikorunun (LSBio marka 3C7 klonu poliklonal IgG) nükleer boyanma özelliklerinin değerlendirilmesinde; 177 malign vakanın 137'sinde (%77,4) nükleer pozitiflik izlenirken 40 vakada (%22,6) nükleer boyanma izlenmedi. Benign vakaların 5'inde (%5,0) nükleer pozitiflik izlenmezken 96 benign vakada (%95,0) nükleer pozitiflik tespit edildi (Tablo 5, Şekil 11,12).

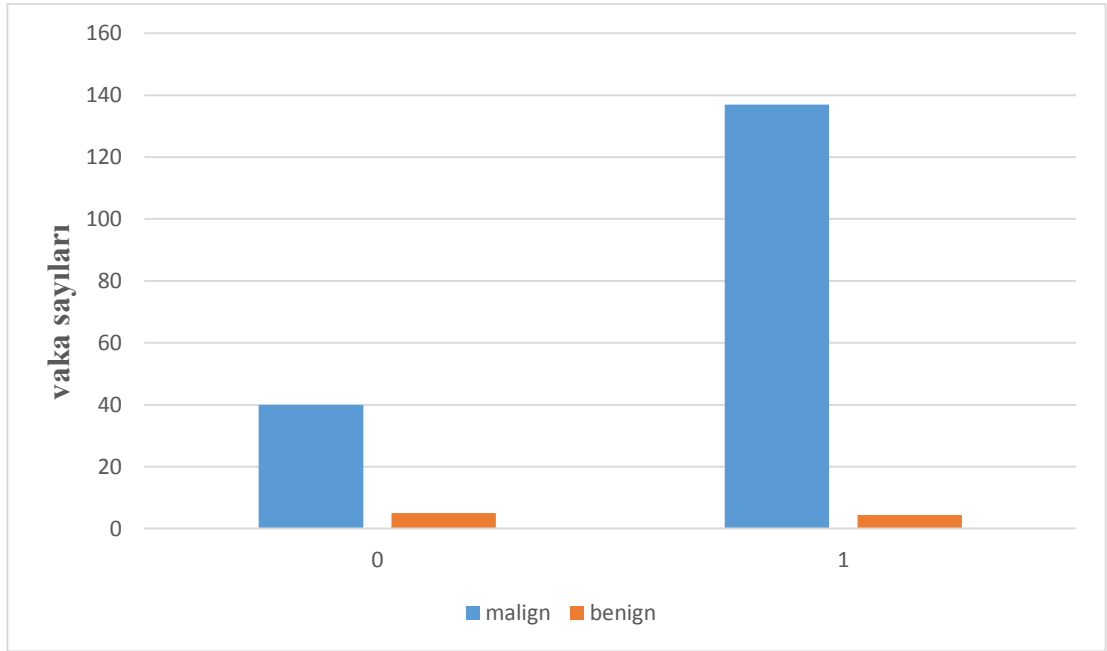
Tablo 5. AATF' nin tanı gruplarına göre nükleer boyanma değerleri

Boyama yaygınlığı	Malign	Benign
0	40 (%22,6)	5 (%5,0)
1	137 (%77,4)	96 (%95,0)

0: Negatif (Boyanma yok), **1:** Pozitif (Nükleer boyanma var) Fisher Ki-Kare testi (p<0,001).



Şekil 11A. Prostat adenokarsinomunda AATF ile nükleer boyanma (X100) 11B. Normal prostat dokusunda AATF ile nükleer boyanma (x100)



Şekil 12. AATF' nin tanı gruplarına göre nükleer boyanma değerleri

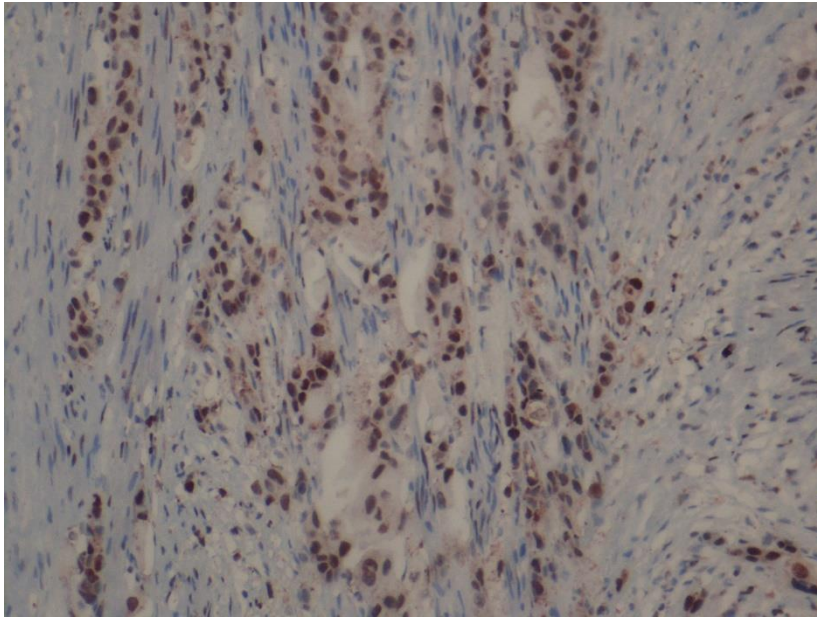
0: Negatif (Boyanma yok) **1:** Pozitif (Nükleer boyanma var).

Vaka gruplarına göre AATF antikorunun sitoplazmik boyanma özelliklerinin değerlendirmesinde malign grupta 24 vakada (%13,6) boyanma izlenmedi. Malign vakaların 39'unda (%22,0) +/+++; 43'ünde (%24,3) ++/+++; 71'inde (%40,1) +++/+++ sitoplazmik boyanma gözlemlendi. Benign grupta 101 vakanın 75'inde (%74,3) boyanma izlenmezken, 20'sinde (%19,8) +/+++ ; 5'inde (%5,0) ++/+++ ;1'inde (%1,0) +++/+++ sitoplazmik boyanma izlendi.(Tablo 6, Şekil 13-17)

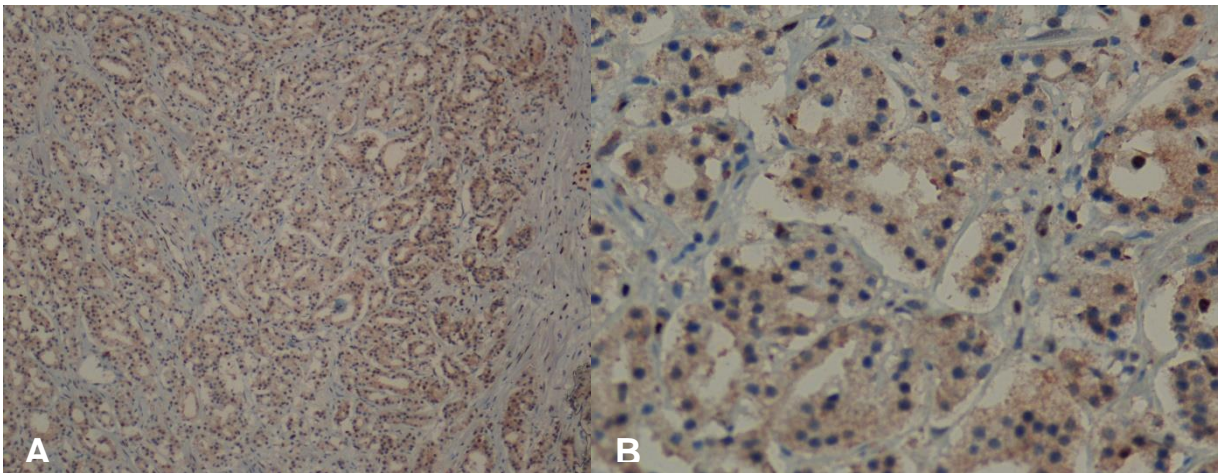
Tablo 6. AATF'nin tanı gruplarına göre sitoplazmik boyanma değerleri

Boyanma yoğunluğu	Malign	Benign
0	24 (%13,6)	75 (%74,3)
1	39 (%22,0)	20 (%19,8)
2	43 (%24,3)	5 (%5,0)
3	71 (%40,1)	1 (%1,0)

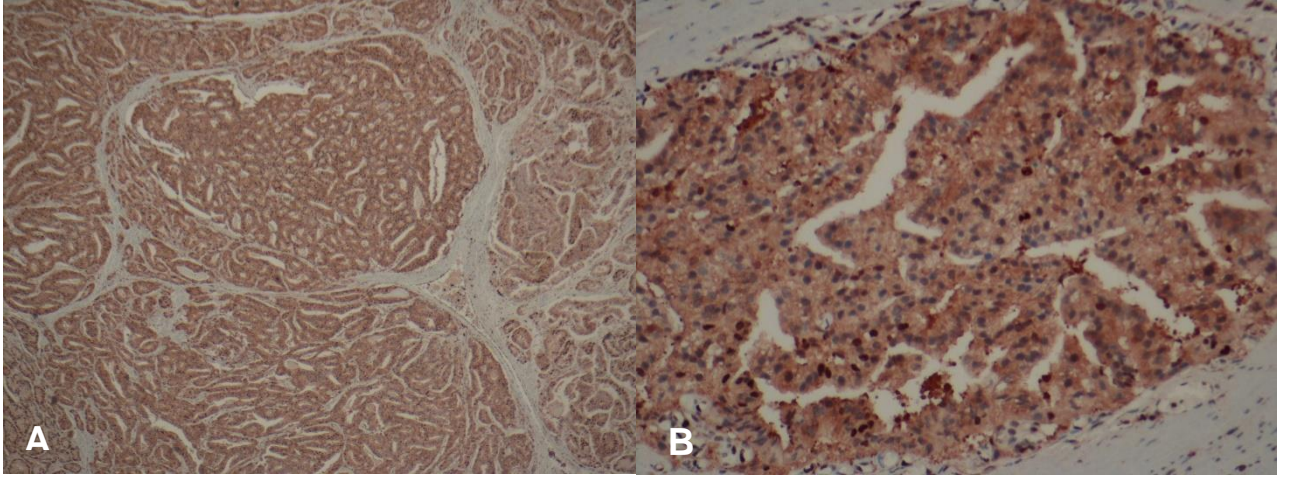
0: Boyanma izlenmedi, **1:** Zayıf boyanma (+/+++), **2:** Orta şiddette boyanma (+/+++), **3:** Kuvvetli boyanma (+/+++)+Fisher Ki-Kare testi (p<0,001)



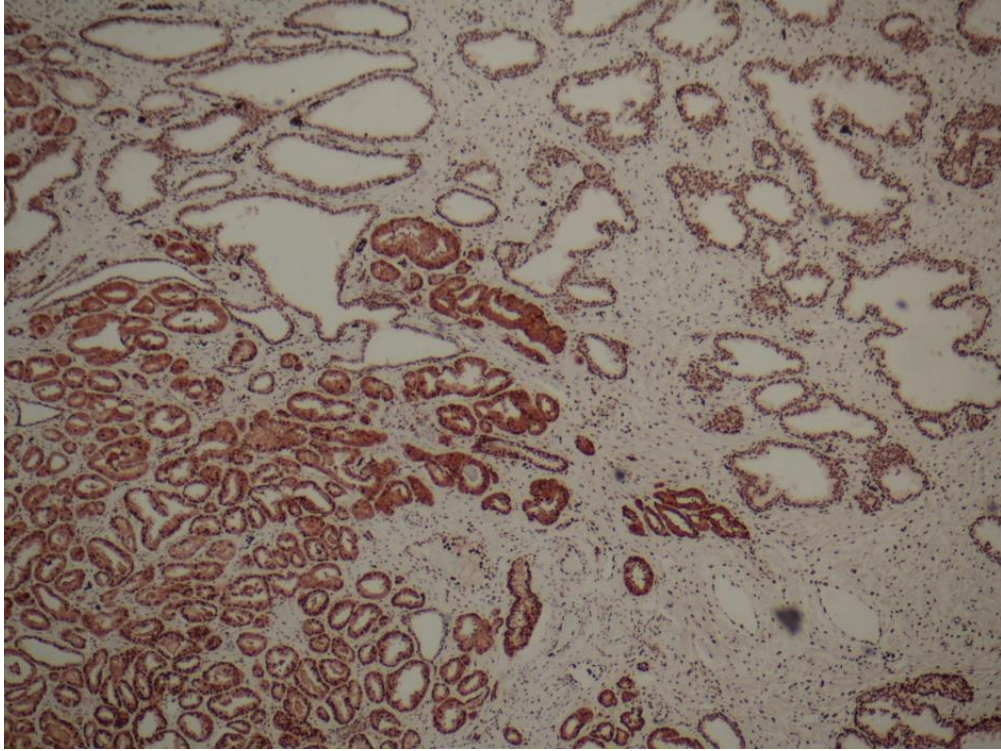
Şekil 13. Prostat adenokarsinomunda AATF ile +/+++ sitoplazmik boyanma (x200)



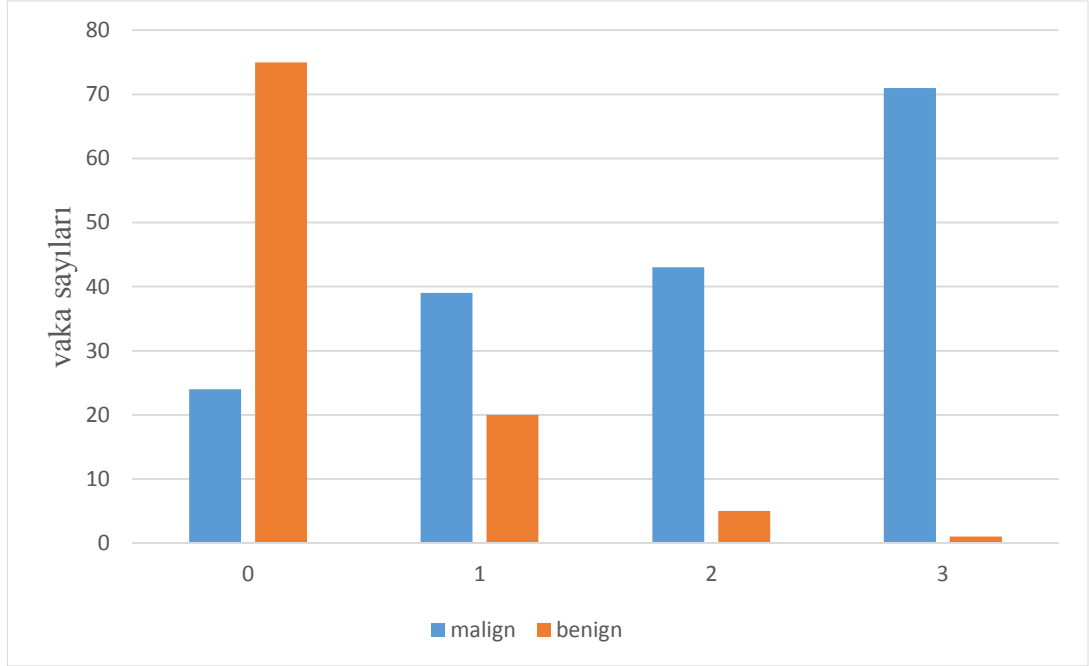
Şekil 14. A. Prostat adenokarsinomunda AATF ile +/+++ sitoplazmik boyanma (x100)
B. Prostat adenokarsinomunda AATF ile +/+++ sitoplazmik boyanma (x400)



Şekil 15. A. Prostat adenokarsinomunda AATF ile +++/+++ sitoplazmik boyanma (x40)
B. Prostat adenokarsinomunda AATF ile +++/+++ sitoplazmik boyanma (x200)



Şekil 16. Prostat adenokarsinomunda AATF ile +++/+++ sitoplazmik boyanma ve normal prostat dokusunda AATF ile nükleer boyanma (x40)



Şekil 17. AATF' nin tanı gruplarına göre sitoplazmik boyanma değerleri

1: Zayıf boyanma (+/+++), **2:** Orta şiddette boyanma (++/+++), **3:** Kuvvetli boyanma (+++/+++).

ANTİKORLARIN NÜKLEER ve SİTOPLAZMİK BOYANMA ÖZELLİKLERİNİN BİRBİRİYLE İLİŞKİSİ

Malign vaka grubu içerisinde 3 antikorun nükleer ve sitoplazmik boyanma özelliklerinin birbirleriyle ilişkileri incelendiğinde CDC25A antikorunun sitoplazmik boyanma yoğunluğu ile CDC25C antikorunun sitoplazmik boyanma yoğunluğu arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ($p=0,014$) (Tablo 7). CDC25A antikorunun nükleer boyanma özellikleri ile AATF antikorunun nükleer boyanma özellikleri arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ($p=0,011$). CDC25C antikorunun sitoplazmik boyanma özellikleri ile CDC25A antikorunun sitoplazmik boyanma özellikleri ve AATF antikorunun sitoplazmik boyanma özellikleri arasında ayrı ayrı anlamlı ilişki tespit edilmiştir ($p=0,000$ ve $p=0,014$). CDC25C antikorunun nükleer boyanma özellikleri ile CDC25A antikorunun nükleer ($p=0,508$) ve sitoplazmik ($p=0,888$), AATF antikorunun nükleer ($p=0,562$) ve sitoplazmik ($p=0,821$) boyanma özellikleri arasında anlamlı ilişki tespit edilmemiştir AATF antikorunun sitoplazmik boyanma yoğunluğu ile CDC25C antikorunun sitoplazmik boyanma yoğunluğu ve AATF antikorunun nükleer boyanma yoğunluğu arasında ayrı ayrı anlamlı ilişki tespit edilmiştir ($p=0,023$ ve $p=0,039$). AATF antikorunun nükleer boyanma özellikleri ile CDC25A antikorunun nükleer boyanma özellikleri ve AATF antikorunun sitoplazmik boyanma yoğunluğu arasında ayrı ayrı anlamlı ilişki elde edilmiştir ($p=0,011$ ve $p=0,023$).

Tablo 7. Malign vaka grubunda antikorların boyanma özelliklerinin birbiriyle ilişkisi

	CDC25A sit.	CDC25A nük.	CDC25C sit.	CDC25C nük.	AATF sit.	AATF nük.
CDC25A sit.	.	0,732	0,014	0,865	0,832	0,884
CDC25A nük.	0,732	.	0,962	0,880	0,011	0,011
CDC25C sit.	0,014	0,962	.	0,337	0,039	0,239
CDC25C nük.	0,865	0,880	0,337	.	0,590	0,590
AATF sit.	0,832	0,793	0,000	0,935	.	0,023
AATF nük.	0,884	0,011	0,239	0,590	0,023	.

N=177, **Sit:** Sitoplazmik, **Nük:** Nükleer.

Benign vaka grubu içerisinde 3 antikorun nükleer ve sitoplazmik boyanma özelliklerinin birbirleriyle ilişkileri incelendiğinde; CDC25A ve AATF antikorlarının sitoplazmik ve nükleer boyanma özellikleri ile CDC25A, CDC25C ve AATF antikorlarının nükleer ve sitoplazmik boyanma özellikleri arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. CDC25C antikorunun nükleer boyanma özellikleri ve sitoplazmik boyanma özellikleri arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur (p=0,001) (Tablo 8).

Tablo 8. Benign vaka grubunda antikorların boyanma özelliklerinin birbiriyle ilişkisi

	CDC25A sit.	CDC25A nük.	CDC25C sit.	CDC25C nük.	AATF sit.	AATF nük.
CDC25A sit.	.	0,347	0,679	0,888	0,495	0,747
CDC25A nük.	0,347	.	0,243	0,508	0,96	0,599
CDC25C sit.	0,679	0,243	.	0,001	0,907	0,506
CDC25C nük.	0,888	0,508	0,001	.	0,562	0,821
AATF sit.	0,495	0,096	0,907	0,562	.	0,184
AATF nük.	0,747	0,599	0,506	0,821	0,184	.

N=101, **Sit:** Sitoplazmik, **Nük:** Nükleer.

ANTİKORLARIN BOYANMA ÖZELLİKLERİNİN MALİGN VAKALARDA GLEASON SKORLAR İLE İLİŞKİSİ

CDC25A Antikoru:

Malign gruptaki vakaların Gleason skorları ile CDC25A antikorunun sitoplazmik boyanma yoğunluğu arasındaki ilişkinin değerlendirmesinde, Gleason Skoru 4-6 olan 98 vakanın 1'inde (%1,0) +/+++ sitoplazmik pozitif reaksiyon izlenmiştir. 97 vakada (%99,0) boyanma görülmemiştir. Gleason Skoru 7 olan 43 vakanın hiçbirinde (%100) sitoplazmik

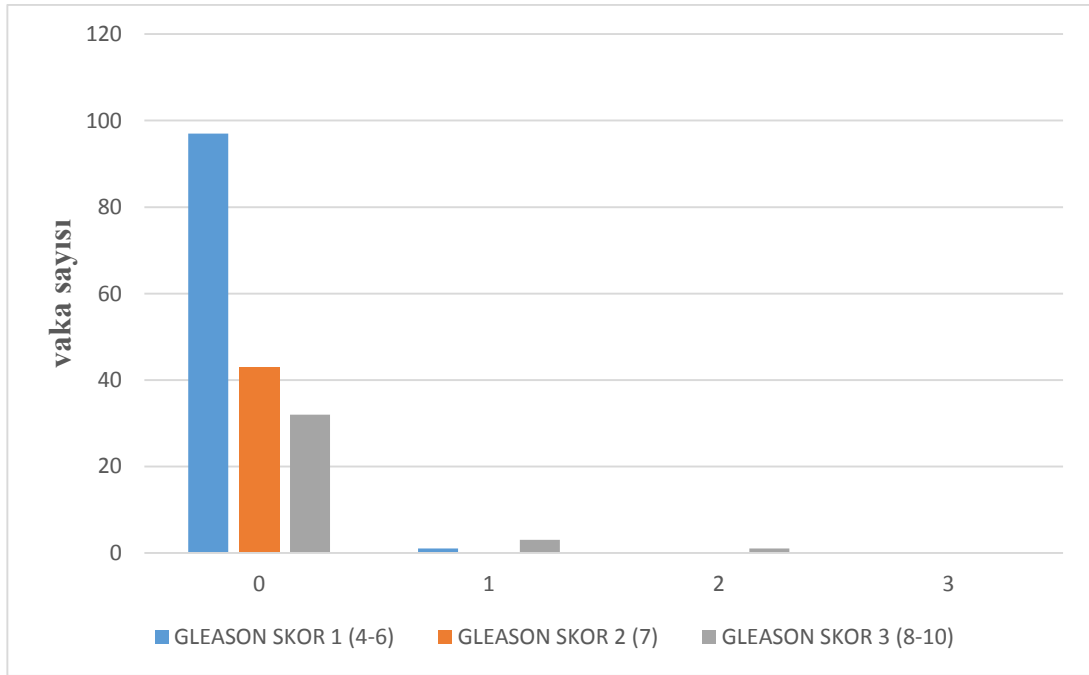
boyanma görülmemiştir. Gleason Skoru 8-10 olan 36 vakanın 3'ünde (%8,3) +/+++ , 1'inde (%2,8) ++/+++ sitoplazmik pozitif reaksiyon izlenmiştir. 32 vakada (%88,9) boyanma görülmemiştir (p=0,019) (Tablo 9, Şekil 18).

Sitoplazmik olarak CDC25A antikoruna ile +++/+++ boyanan malign vaka görülmemiştir. Gleason skoru 4-6 ve 7 olan gruptaki vakaların hiçbirinde sitoplazmik ++/+++ boyanma izlenmemiştir.

Tablo 9. Malign vakaların Gleason derecelerine göre CDC25A'nın sitoplazmik boyanma değerleri

Boyanma yoğunluğu	Gleason Skor 4-6	Gleason Skor 7	Gleason Skor 8-10
0	97 (%99,0)	43 (%100)	32 (%88,9)
1	1 (%1,0)	0 (%0)	3 (%8,3)
2	0 (%0)	0 (%0)	1 (%2,8)
3	0(%0)	0(%0)	0 (%0)

0: Boyanma izlenmedi, **1:** Zayıf boyanma (+/+++), **2:** Orta şiddette boyanma (++/+++), **3:** Kuvvetli boyanma (+++/+++). Fisher Ki-Kare testi (p=0,019)



Şekil 18. Malign vakalarda Gleason derecelerine göre CDC25A'nın sitoplazmik boyanma değerleri

1: Zayıf boyanma (+/+++), **2:** Orta şiddette boyanma (++/+++), **3:** Kuvvetli boyanma (+++/+++).

Malign gruptaki vakaların Gleason skorları ile CDC25A antikorunun nükleer pozitifliği arasındaki ilişkinin değerlendirmesinde; Gleason Skoru 4-6 olan 98 vakadan 1'inde (%1,0) nükleer pozitiflik izlenmiştir. Kalan 97 vakada (%99,0) nükleer boyanma görülmemiştir. Gleason skoru 7 olan 43 vakanın 42'si (%97,7) nükleer boyanma açısından negatifken, 1'i (%2,3) nükleer pozitifdir. Gleason skoru 8-10 olan 36 vakadan 2'sinde (%5,6) nükleer pozitiflik izlenirken, 34 vaka (%94,4) nükleer boyanma açısından negatiftir (p=0,293) (Tablo 10).

Tablo 10. Malign vakaların Gleason derecelerine göre CDC25A' nın nükleer boyanma değerleri

Boyanma yaygınlığı	Gleason Skor 4-6	Gleason Skor 7	Gleason Skor 8-10
0	97 (%99)	42 (%97,7)	34 (%94,4)
1	1 (%1,0)	1 (%1,3)	2 (%5,6)

0: Negatif (Boyanma yok), 1: Pozitif (Nükleer boyanma var) Fisher Ki-Kare testi (p=0,293).

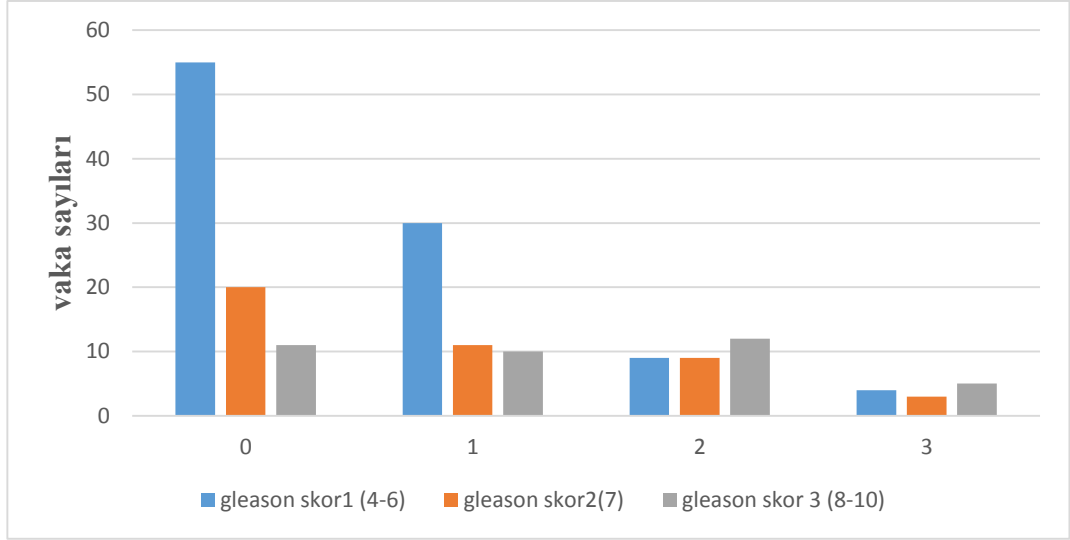
CDC25C ANTİKORU

Malign gruptaki vakaların Gleason skorları ile CDC25C antikorunun sitoplazmik boyanma yoğunluğu arasındaki ilişkinin değerlendirmesinde, Gleason skoru 4-6 olan 98 vakanın 30'unda (%30,6) +/+++ , 9'unda (%9,2) ++/+++ , 4'ünde (%4,1) +++/+++ sitoplazmik pozitif reaksiyon izlenmiştir. 55 vakada (%56,1) boyanma izlenmemiştir. Gleason skoru 7 olan 43 vakanın 11'inde (%25,6) +/+++ , 9'unda (%20,9) ++/+++ , 3'ünde (%7,0) +++/+++ sitoplazmik pozitif reaksiyon görülmüştür. 20 vakada (%46,5) boyanma görülmemiştir. Gleason skoru 8-10 olan 36 vakanın 10'unda (%27,8) +/+++ , 12'sinde (%33,3) ++/+++ , 3'ünde (%8,3) +++/+++ sitoplazmik reaksiyon saptanmıştır. 11 vakada (%30,6) boyanma görülmemiştir. Boyanma gösteren 91 vakanın 43'ü (%47,25) Gleason skor 1, 23'ü (%25,27) Gleason skor 2 ve 25'i (%27,47) Gleason skor 3 olan grupta yer almaktadır (p=0,025) (Tablo 11, Şekil 19).

Tablo 11. Malign vakaların Gleason derecelerine göre CDC25C'nin sitoplazmik boyanma değerleri

Boyanma yoğunluğu	Gleason Skor 4-6	Gleason Skor 7	Gleason Skor 8-10
0	55 (%56,1)	20 (%46,5)	11 (%30,6)
1	30 (%30,6)	11 (%25,6)	10 (%27,8)
2	9 (%9,2)	9 (%20,9)	12 (%33,3)
3	4 (%4,1)	3 (%7,0)	3 (%8,3)

0: Boyanma izlenmedi, 1: Zayıf boyanma (+/+++), 2: Orta şiddette boyanma (++/+++), 3: Kuvvetli boyanma (+++/+++). Fisher Ki-Kare testi (p=0,025).



Şekil 19. Malign olguların Gleason derecelerine göre CDC25C'nin sitoplazmik boyanma değerleri

0: Boyanma izlenmedi, **1:** Zayıf boyanma (+/+++), **2:** Orta şiddette boyanma (+/+++), **3:** Kuvvetli boyanma (+++ /+++)
Gleason: Gleason Skor.

Malign gruptaki vakaların Gleason skorları ile CDC25C antikorunun nükleer pozitifliği arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde; Gleason Skoru 4-6 olan 98 vakanın 97'si (%99,0) nükleer boyanma açısından negatifken, 1'i pozitifdir (%1,0). Gleason Skoru 7 olan 43 vakanın tümü (%100) nükleer boyanma açısından negatiftir. Gleason Skoru 8-10 olan 36 vakanın tümü (%100) nükleer boyanma açısından negatiftir (p=0,667) (Tablo 12).

Tablo 12. Malign olguların Gleason derecelerine göre CDC25C'nin nükleer boyanma değerleri

Boyanma yaygınlığı	Gleason Skor 4-6	Gleason Skor 7	Gleason Skor 8-10
0	97 (%99,0)	43 (%100)	36 (%100)
1	1 (%1,0)	0 (%0)	0 (%0)

0: Negatif (Boyanma yok), **1:** Pozitif (Nükleer boyanma var) Fisher Ki-Kare testi (p=0,667).

AATF Antikoru

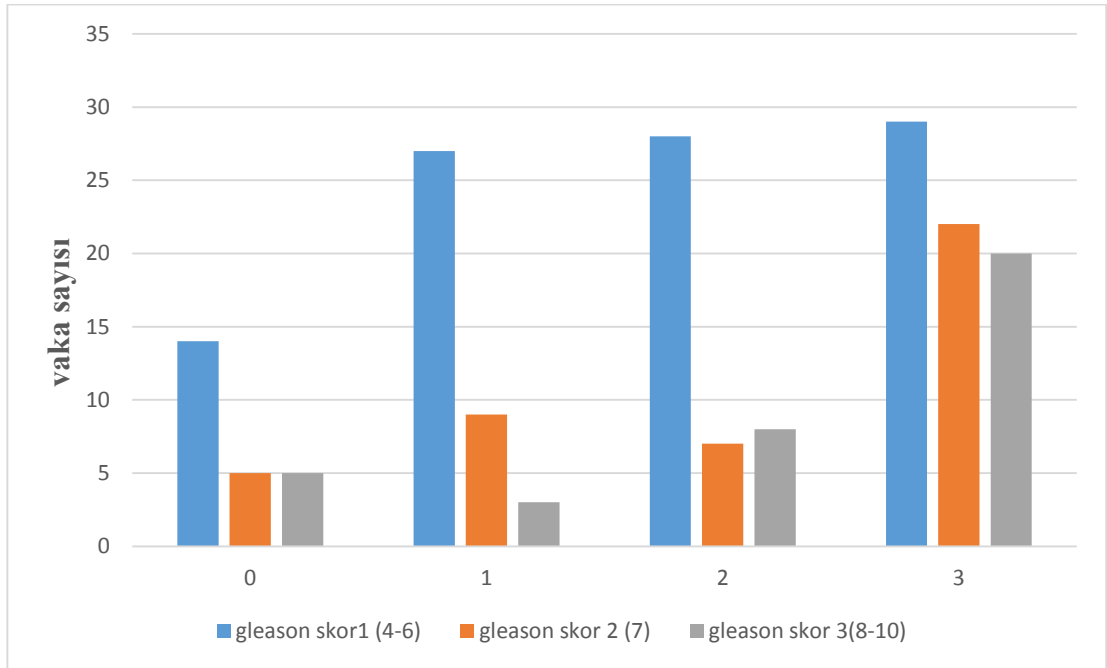
Malign gruptaki vakaların Gleason skorları ile AATF antikorunun sitoplazmik boyanma yoğunluğu arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde; Gleason skoru 4-6 olan 98 vakanın 14'ünde (%14,3) boyanma izlenmemiştir. 27 vakada (%27,6) +/+++ , 28 vakada (%28,6) ++/+++ , 29 vakada (%29,6) +++/+++ sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Gleason skoru 7 olan 43 vakanın 5'inde (%11,6) boyanma görülmezken, 9'unda (%20,9) +/+++ ,

7'sinde (%16,3) ++/+++, 22'sinde (%51,2) +++/+++ sitoplazmik pozitif reaksiyon izlenmiştir. Gleason skoru 8-10 olan 36 vakanın 5'inde (%13,9) boyanma izlenmemiştir. Vakaların 3'ünde (%8,3) +/+++, 8'inde (%22,2) ++/+++, 20'sinde (%55,6) +++/+++ sitoplazmik boyanma saptanmıştır (p=0,048) (Tablo 13, Şekil 20).

Tablo 13. Malign vakaların Gleason derecelerine göre AATF'nin sitoplazmik boyanma değerleri

Boyanma yoğunluğu	Gleason Skor 4-6	Gleason Skor 7	Gleason Skor 8-10
0	14 (%14,3)	5 (%11,6)	5 (%13,9)
1	27 (%27,6)	9 (%20,9)	3 (%8,3)
2	28 (%28,6)	7 (%16,3)	8 (%22,2)
3	29 (%29,6)	22 (%51,2)	20 (%55,6)

0: Boyanma izlenmedi, **1:** Zayıf boyanma (+/+++), **2:** Orta şiddette boyanma (++/+++), **3:** Kuvvetli boyanma (+++/+++). Fisher Ki-Kare testi (p=0,048).



Şekil 20. Malign vakaların Gleason derecelerine göre AATF'nin sitoplazmik boyanma değerleri

0: Boyanma izlenmedi, **1:** Zayıf boyanma (+/+++), **2:** Orta şiddette boyanma (++/+++), **3:** Kuvvetli boyanma (+++/+++). **Gleason:** Gleason Skor.

Malign gruptaki vakaların Gleason skorları ile AATF antikorunun nükleer pozitifliği arasındaki ilişkinin değerlendirmesinde; Gleason Skoru 4-6 olan 98 vakanın 23'ü (%23,5) nükleer boyanma açısından negatifken, 75'i (%76,5) pozitiftir. Gleason skoru 7 olan 43 vakanın 8'i (%18,6) nükleer boyanma açısından negatifken 35'i (%81,4) pozitiftir. Gleason skoru 8-10 olan 36 vakanın 27'sinde (%75,0) nükleer pozitiflik izlenirken, 9 vaka (%25,0) nükleer boyanma açısından negatiftir (p=0,758) (Tablo 14).

Tablo 14. Malign vakaların Gleason derecelerine göre AATF'nin nükleer boyanma değerleri

Boyanma yaygınlığı	Gleason Skor 4-6	Gleason Skor 7	Gleason Skor 8-10
0	23 (%23,5)	8 (%18,6)	9 (%25,0)
1	75 (%76,5)	35 (%81,4)	27 (%75,0)

0: Negatif (Boyanma yok), 1: Pozitif (Nükleer boyanma var) Fisher Ki-Kare testi (p=0,758).

ANTİKORLARIN BOYANMA ÖZELLİKLERİNİN MALİGN VAKALARDA TÜMÖRLE İNFİLTRE PROSTAT DOKUSU YÜZDELERİ İLE İLİŞKİSİ

Malign gruptaki vakaların tümörle invaze prostat dokusu yüzdeleri ile CDC25A, CDC25C ve AATF antikorlarının nükleer ve sitoplazmik boyanma yoğunlukları arasındaki ilişkinin değerlendirmesinde; tümörle invaze prostat dokusu yüzdesi artışı ile CDC25C ve AATF antikorlarının nükleer boyanma değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilmiştir (p=0,014, p=0,026).

ANTİKORLARIN BOYANMA ÖZELLİKLERİNİN MALİGN VAKALARDA DİĞER PROGNOSTİK PARAMETRELER İLE İLİŞKİSİ

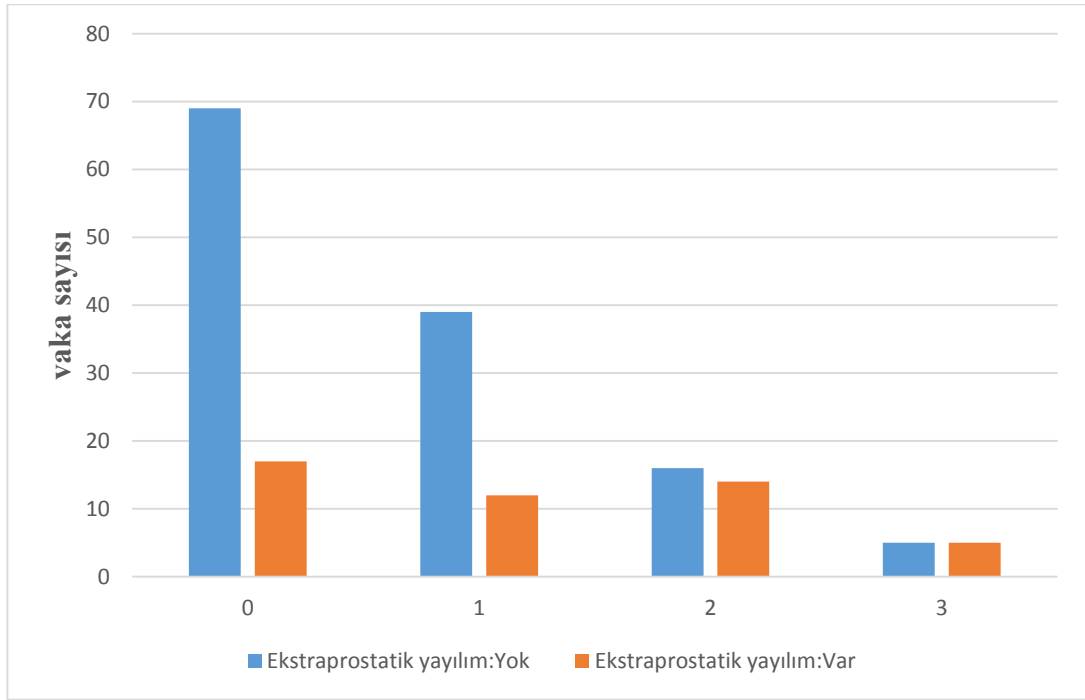
Malign gruptaki vakalarda CDC25A, CDC25C ve AATF antikorlarının nükleer ve sitoplazmik boyanma özelliklerinin, ekstraprostatik yayılım varlığı, perinöral invazyon varlığı, lenfovasküler invazyon varlığı, bilateral tutulum, ve vezikula seminalis tutulumu ile ilişkileri değerlendirilmiştir; Ekstraprostatik yayılım varlığı ile CDC25C antikorunun sitoplazmik boyanma yoğunluğu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,011) Ekstraprostatik yayılımın olmadığı toplam 129 vakanın 69'unda (%53,5) boyanma izlenmezken, 39'unda (%30,2) +/+++, 16'sında (%12,4) ++/+++, 5'inde (%3,9) +++/+++ sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Ekstraprostatik yayılım olan 48 vakanın 17'sinde (%35,4)

boyanma izlenmezken 12'sinde (%25,0) +/+++ , 14'ünde (%29,2) ++/+++ , 5'inde (%10,4) +++/+++ sitoplazmik boyanma saptanmıştır (Tablo 15, Şekil 21).

Tablo 15. Malign vakalarda ekstraprostatik yayılım varlığına göre CDC25C'nin sitoplazmik boyanma değerleri

Sitoplazmik Boyanma Yoğunluğu	Ekstraprostatik yayılım yok	Ekstraprostatik yayılım var
0	69 (%53,5)	17 (%35,4)
1	39 (%30,2)	12 (%25,0)
2	16 (%12,4)	14 (%29,2)
3	5 (%3,9)	5 (%10,4)

1: Zayıf boyanma (+/+++), 2: Orta şiddette boyanma (++/+++), 3: Kuvvetli boyanma (+++/+++). Fisher Ki-Kare testi (p=0,011).



Şekil 21. Malign vakalarda ekstraprostatik yayılım varlığına göre CDC25C'nin sitoplazmik boyanma değerleri

1: Zayıf boyanma (+/+++), 2: Orta şiddette boyanma (++/+++), 3: Kuvvetli boyanma (+++/+++)

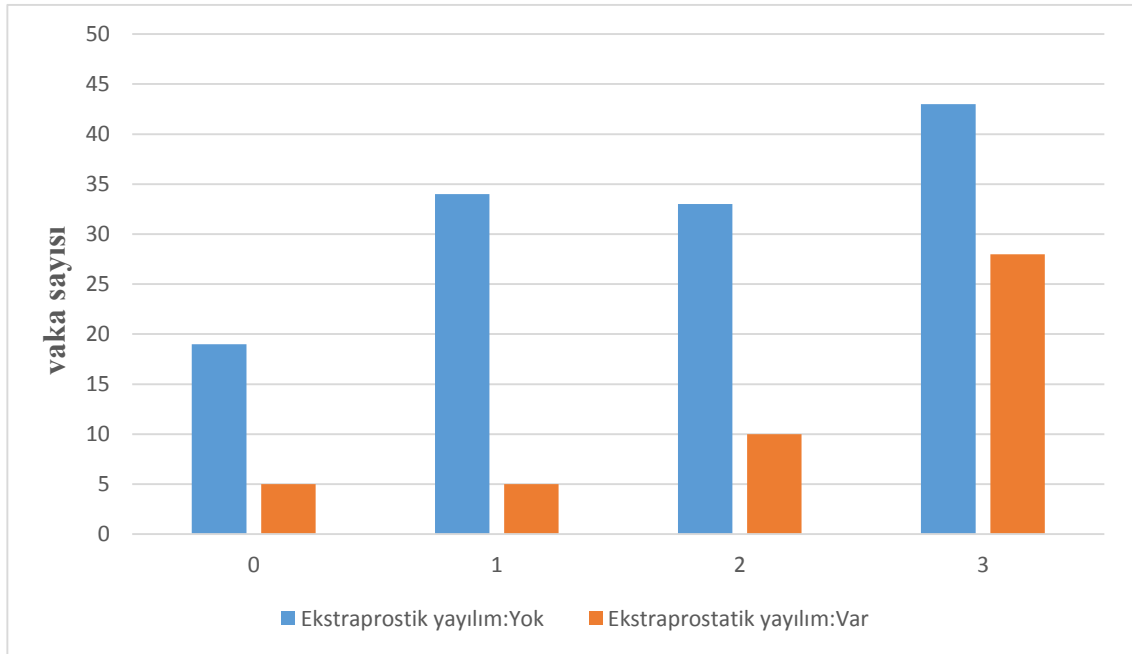
Malign gruptaki vakalarda ekstraprostatik yayılım varlığı ile AATF antikorunun sitoplazmik boyanma yoğunluğu arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde; ekstraprostatik

yayılımın olmadığı toplam 129 vakanın 19'unda (%14,7) boyanma izlenmemiştir. Vakaların 34'ünde (%26,4) +/+++, 33'ünde (%25,6) ++/+++, 43'ünde (%33,3) +++/+++ sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Ekstraprostatik yayılım olan 48 vakanın 5'inde (%10,4) boyanma izlenmemiş olup 5'inde (%10,4) +/+++, 10'unda (%20,8) ++/+++, 28'inde (%58,8) +++/+++ sitoplazmik boyanma saptanmıştır. AATF antikoru ile sitoplazmik boyanma gösteren vakalar ile ekstraprostatik yayılım varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki izlenmiştir (p=0,016) (Tablo 16, Şekil 22).

Tablo 16. Malign vakalarda ekstraprostatik yayılım varlığına göre AATF'nin sitoplazmik boyanma değerleri

Sitoplazmik Boyanma Yoğunluğu	Ekstraprostatik yayılım yok	Ekstraprostatik yayılım var
0	19 (%14,7)	5 (%10,4)
1	34 (%26,4)	5 (%10,4)
2	33 (%25,6)	10 (%20,8)
3	43 (%33,3)	28 (%58,3)

0: Boyanma izlenmedi, 1: Zayıf boyanma (+/+++), 2: Orta şiddette boyanma (++)/+++, 3: Kuvvetli boyanma (+++/+++). Fisher Ki-Kare testi (p=0,016).



Şekil 22. Malign vakalarda ekstraprostatik yayılım varlığına göre AATF'nin sitoplazmik boyanma değerleri

1: Zayıf boyanma (+/+++), 2: Orta şiddette boyanma (++)/+++, 3: Kuvvetli boyanma (+++/+++).

Diğer prognostik parametreler olan perinöral invazyon varlığı, lenfovasküler invazyon varlığı, bilateral tutulum varlığı ve veziküla seminalis tutulumu varlığı ile CDC25A, CDC25C ve AATF antikörlerinin sitoplazmik ve nükleer boyanma özellikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (Tablo 17-23).

Tablo 17. Malign olgularda CDC25A antikörünün sitoplazmik boyanma değerlerinin prognostik parametrelerle ilişkisi

CDC25A S	0	1	2	3
PNI yok	72(%98,6)	1(%1,4)	0(%0)	0(%0)
PNI var	100(%96,2)	3(%2,9)	1(%1)	0(%0)
BT yok	61(%95,3)	2(%3,1)	1(%1,6)	0(%0)
BTvar	111(%98,2)	2(%1,8)	0(%0)	0(%0)
EPY yok	125(%96,9)	3(%2,3)	1(%0,8)	0(%0)
EPY var	47(%97,9)	1(%2,1)	0(%0)	0(%0)
VSI yok	152(%98,1)	2(%1,3)	1(%0,6)	0(%0)
VSI var	20(%90,9)	2(%9,1)	0(%0)	0(%0)
LVI yok	150(%98)	2(%1,3)	1(%0,7)	0(%0)
LVI var	22(%91,7)	2(%8,3)	0(%0)	0(%0)

CDC25A S: CDC25A antikörünün sitoplazmik boyanma değerleri; **0:** Boyanma yok; **1:** Zayıf boyanma; **2:** Orta şiddette boyanma; **3:** Kuvvetli boyanma; **PNI:** Perinöral invazyon; **BT:** Bilateral tutulum; **EPY:** Ekstraprostatik yayılım; **VSI:** Veziküla seminalis invazyonu; **LVI:** Lenfovasküler invazyon.

Tablo 18. Malign olgularda CDC25A antikörünün nükleer boyanma değerlerinin prognostik parametrelerle ilişkisi

CDC25A N	0	1
PNI yok	20(%87,0)	3(%13,0)
PNI var	46(%90,2)	5(%9,8)
BT yok	61(%95,3)	3(%4,7)
BTvar	112(%99,1)	1(%0,9)
EPY yok	126(%97,7)	3(%2,3)
EPY var	47(%97,9)	1(%2,1)
VSI yok	152(%98,1)	3(%1,9)
VSI var	21(%95,5)	1(%4,5)
LVI yok	150(%98,0)	3(%2,0)
LVI var	23(%95,8)	1(%4,2)

CDC25A N: CDC25A antikörünün nükleer boyanma değerleri; **0:** Boyanma yok; **1:** Boyanma var; **PNI:** Perinöral invazyon; **BT:** Bilateral tutulum; **EPY:** Ekstraprostatik yayılım; **VSI:** Veziküla seminalis invazyonu; **LVI:** Lenfovasküler invazyon.

Tablo 19. Malign olgularda CDC25C antikorunun sitoplazmik boyanma değerlerinin prognostik parametrelerle ilişkisi

CDC25C S	0	1	2	3
PNI yok	43(%58,9)	17(%23,3)	10(%13,7)	3(%4,1)
PNI var	43(%41,3)	34(%32,7)	20(%19,2)	7(%6,7)
BT yok	39(%60,9)	14(%21,9)	8(%12,5)	3(%4,7)
BTvar	47(%41,6)	37(%32,7)	22(%19,5)	7(%6,2)
VSI yok	78(%50,3)	45(%29,0)	24(%59,5)	8(%5,2)
VSI var	8(%36,4)	6(%27,3)	6(27,3)	2(%9,1)
LVI yok	79(%51,6)	42(%27,5)	23(%15,0)	3(%5,9)
LVI var	7(%29,2)	9(%37,5)	7(%29,2)	1(%4,2)

CDC25C S: CDC25C antikorunun sitoplazmik boyanma değerleri; **0:** Boyanma yok; **1:** Zayıf boyanma; **2:** Orta şiddette boyanma; **3:** Kuvvetli boyanma; **PNI:** Perinöral invazyon; **BT:** Bilateral tutulum; **EP:** Ekstraprostatik yayılım; **VSI:** Vezikula seminalis invazyonu; **LVI:** Lenfovasküler invazyon.

Tablo 20. Malign olgularda CDC25C antikorunun nükleer boyanma değerlerinin prognostik parametrelerle ilişkisi

CDC25C N	0	1
PNI yok	72(%98,6)	1(%1,4)
PNI var	104(%100)	0(%0)
BT yok	63(%98,4)	1(%1,6)
BTvar	113(%100)	0(%0)
EP yok	128(%99,2)	1(%0,8)
EP var	48(%100)	0(%0)
VSI yok	154(%99,4)	1(%0,6)
VSI var	22(%100)	0(%0)
LVI yok	152(%99,3)	1(%0,7)
LVI var	24(%100)	0(%0)

CDC25C N: CDC25C antikorunun nükleer boyanma değerleri; **0:** Boyanma yok; **1:** Boyanma Vezikula seminalis invazyonu; **LVI:** Lenfovasküler invazyon.

Tablo 21. Malign olgularda AATF antikorunun sitoplazmik boyanma değerlerinin prognostik parametrelerle ilişkisi

AATF S	0	1	2	3
PNI yok	11(%15,1)	22(%30,1)	14(%19,2)	26(%35,6)
PNI var	13(%15,5)	17(%16,3)	29(%27,9)	45(%43,3)
BT yok	9(%14,1)	14(%21,9)	16(%25,0)	25(%39,1)
BTvar	15(13,3)	25(%22,1)	27(%23,9)	46(%40,7)
VSI yok	20(%12,9)	35(%22,6)	38(%24,5)	62(%40,0)
VSI var	4(%18,2)	4(%18,2)	5(%22,7)	9(%40,9)
LVI yok	19(%12,4)	32(%20,9)	39(%25,5)	63(%41,2)
LVI var	5(%20,8)	7(%29,2)	4(%16,7)	8(%33,3)

AATF S: AATF antikorunun sitoplazmik boyanma değerleri; **0:** Boyanma yok; **1:** Zayıf boyanma; **2:** Orta şiddette boyanma; **3:** Kuvvetli boyanma; **PNI:** Perinöral invazyon; **BT:** Bilateral tutulum; **EPY:** Ekstraprostatik yayılım; **VSI:** Vezikula seminalis invazyonu; **LVI:** Lenfovasküler invazyon.

Tablo 22. Malign olgularda AATF antikorunun nükleer boyanma değerlerinin prognostik parametrelerle ilişkisi

AATF N	0	1
PNI yok	21(%28,8)	52(%71,2)
PNI var	19(%18,3)	85(%81,7)
BT yok	18(%28,1)	46(%71,9)
BTvar	22(%19,5)	91(%80,5)
EP yok	29(%22,5)	100(%77,5)
EP var	11(%22,9)	37(%77,1)
VSI yok	31(%20,0)	124(%80,0)
VSI var	9(%40,9)	13(%59,1)
LVI yok	32(%20,9)	121(%79,1)
LVI var	8(%33,3)	16(%66,7)

AATF N: AATF antikorunun nükleer boyanma değerleri; **0**: Boyanma yok; **1**: Boyanma var; **PNI**: Perinöral invazyon; **BT**: Bilateral tutulum; **EPY**: Ekstraprostatik yayılım; **VSI**: Veziküla seminalis invazyonu; **LVI**: Lenfovasküler invazyon.

Tablo 23. Malign grupta antikorların boyanma özelliklerinin prognostik parametrelerle ilişkisi

	Gleason skor	EPY varlığı	LVI varlığı	BT varlığı	VSI varlığı	PNI varlığı
CDC25A Sp	0,019	0,825	0,092	0,344	0,998	0,559
CDC25A Np	0,293	1,000	0,445	0,135	0,415	0,698
CDC25C Sp	0,025	0,011	0,143	0,104	0,407	0,149
CDC25C Np	0,667	1,000	1,000	0,362	1,000	0,412
AATF Sp	0,048	0,016	0,439	0,995	0,898	0,118
AATF Np	0,758	1,000	0,276	0,256	0,052	0,144

CDC25A Sp: CDC25A antikorunun sitoplazmik boyanma p değerleri; **CDC25A Np**: CDC25A antikorunun nükleer boyanma p değerleri; **CDC25C Sp**: CDC25C antikorunun sitoplazmik boyanma p değerleri; **CDC25C Np**: CDC25C antikorunun nükleer boyanma p değerleri; **AATF Np**: AATF antikorunun nükleer boyanma p değerleri; **AATF Sp**: AATF antikorunun sitoplazmik boyanma p değerleri; **PNI**: Perinöral invazyon; **BT**: Bilateral tutulum; **EPY**: Ekstraprostatik yayılım; **VSI**: Veziküla seminalis invazyonu; **LVI**: Lenfovasküler invazyon.

TARTIŞMA

Prostat kanseri de diğerk kanserler gibi genetik ve epigenetik değişiklikler sonucu glandüler epitelin preneoplastik değişimi ve sonrasında invaziv karsinoma dönmesi sonucu gelişir. Yapılan çok sayıda çalışmaya rağmen kesin genetik mekanizma tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Son yapılan çalışmalarda malign tümörlerin gelişiminde, onkogenler ve tümör supresör genler kadar DNA hasarına verilen yanıtın da önemli olduğu anlaşılmıştır. Genetik bilginin bir hücreden diğerkine sağlıklı aktarılabilmesi için antikanser bariyer olarak adlandırılabilcek DNA hasar kontrol noktaları bulunmaktadır (32). CHEK2, DNA hasarına yanıt olarak aktive olup hücrenin mitozaya girmesini önler, böylece DNA tamir mekanizmaları devreye girer (34). CHEK2 tarafından fosforilasyona uğrayan CDC25 ailesi, hücre döngüsünü G1/S ve G2/M fazında durdurarak DNA tamirine olanak sağlar (32,41). Memeli hücresinde CDC25 ailesinin üç izoformu tanımlanmıştır, bunlar; CDC25A, CDC25B ve CDC25C'dir (44-46). İlk keşfedildiklerinde CDC25 proteinlerinin immünfloresan yöntemi ile baskın olarak nükleusta yer aldıkları düşünölmekteydi (78). Daha sonra yapılan çalışmalarla non transforme memeli fibroblastlarında CDC25 proteinlerinin hücre döngüsü sırasında nükleer zarın parçalanmasının tamamlanmasına kadar geçen süre boyunca nükleusta yer aldıkları, ancak tam bu anda, profaz evresinin sonunda, CDC25'lerin sitoplazmaya dağıldıkları, telefaz evresi boyunca CDC25'lerin nükleustaki yerlerine geri döndükleri gösterilmiştir (85). Leisser ve ark. (86) indirekt immünfloresan ve Western blot yöntemini kullandıkları çalışmalarında, CDC25A proteininin hem nükleer hem de sitoplazmik yerleşimini göstermişlerdir. Ratlarla yapılan bu çalışmada, CDC25A'nın antiapoptotik etkisinin sitoplazmik lokalizasyonu ile sınırlı olduğu, bunun aksine nükleer yerleşimli CDC25A'nın aşırı ekspresyonunun,

proapoptotik transkripsiyon faktörlerinin defosforilasyonuna sebep olarak apoptotik etki gösterdiği bulunmuştur. Bu sonuçlar ışığında CDC25A'nın, çeşitli kanserlerde aşırı eksprese edildikten, apoptoza yatkınlığı yerleştiği lokalizasyona göre artan, ya da azalan bir onkogen olarak kabul edilebileceği kanaatine varmışlardır. Çalışmamızda CDC25A ve CDC25C ile boyanma izlenen vakalara bakıldığında, yapılan çalışmaları destekler nitelikte hem sitoplazmik hem de nükleer boyanma elde edilmiştir.

Singh ve ark. (87) retinoblastomlu vakalar üzerinde yaptıkları çalışmada; immunohistokimyasal olarak CDC25A ve CDC25B'nin retinoblastom hücrelerinde sitoplazmik boyanma gösterdiğini ve her iki fosfatazın da az diferansiye retinoblastomlarda daha fazla eksprese edildiğini ortaya koymuşlardır. CDC25B'nin belirgin olarak diferansiyasyon kaybı ile ilişkili olduğu ve CDC25A ve CDC25B ekspresyonlarının masif koroidal invazyon ve optik sinir invazyonu ile korele olduğu sonucuna varmışlardır. Bizim çalışmamızda ise prostat adenokarsinomlarının prognostik verileri olan ekstraprostatik yayılım, bilateral tutulum, lenfatik damar invazyonu ve perinöral invazyon ile CDC25A'nın nükleer ve sitoplazmik boyanma özellikleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Tiroid kanserleri ile CDC25A ve CDC25B arasındaki ilişkiyi inceleyen çok sayıda çalışma mevcuttur. İto ve ark. (88) tiroid lenfomalarında CDC25A ve CDC25B immunohistokimyasal ekspresyonunu araştırmış, normal tiroid folikül hücrelerinde CDC25A ve CDC25B'nin eksprese edilmediğini, kronik tiroidit ve tiroid lenfomalarında bu iki fosfatazın eksprese edildiğini göstermişlerdir. Bu veriler ışığında CDC25B'nin, tiroid lenfomalarının erken fazında, muhtemelen kronik tiroiditten lenfomaya transformasyon aşamasında, CDC25A'nın ise tiroid lenfomasının progresyonunda rol aldığı sonucuna varmışlardır. Yine aynı yazara ait başka bir çalışmada normal folikül hücreleri ile tiroid neoplazilerinde CDC25A ve CDC25B'nin immunohistokimyasal boyanma özellikleri değerlendirilmiş olup CDC25B'nin foliküler adenomlarda ve minimal invaziv foliküler karsinomlarda eksprese edildiği, CDC25A'nın ise invaziv foliküler karsinom ve diğer tiroid karsinomlarında eksprese edildiği gösterilmiştir. İlginç olarak tiroid karsinomlarında diferansiyasyon azaldıkça CDC25B ekspresyonunun da azaldığını göstermişler ve bunun CDC25B'nin tiroid karsinomlarının erken evresinde rol almasına bağlı olabileceği sonucuna varmışlardır (89).

Skuamöz hücreli karsinomlar ile CDC25 fosfatazların ilişkisini araştıran çok sayıda çalışma mevcuttur. Wang ve ark. (90) Western blot ve immunohistokimyasal yöntemleri kullanarak CDC25A, CDC25B ve CDC25C'nin vulvar skuamöz hücreli karsinom patogenezi

ve prognozundaki rollerini araştırdıkları çalışmalarında, immünohistokimyasal olarak tümöral hücrelerde CDC25A ve CDC25B ile artmış nükleer pozitiflik, CDC25C ile artmış sitoplazmik ve nükleer pozitiflik elde etmiş, CDC25C'nin vulvar karsinom patogenezi ve kötü prognozu ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır. Benzer bir alışma Nishioko ve ark. (91) tarafından yapılmış, özofagus skuamöz hücreli karsinomlarında immünohistokimyasal, Western blot ve PCR yöntemleri ile CDC25A ve CDC25B ekspresyonu değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda CDC25A ve CDC25B antikörleri ile tümörlü hücrelerde kuvvetli sitoplazmik reaksiyon gözlenmiştir. CDC25A ve CDC25B ekspresyonunun derin tümör invazyonu, lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu, özellikle CDC25A'nın özofagus kanserleri için prognostik belirteç olarak kullanılabilir olduğunu göstermişlerdir.

Skvamöz hücreli karsinomlardaki CDC25 ekspresyonuna ait bulgulara benzer şekilde bizim çalışmamızda da tümör dışı alanlarda izlenen ürotelyal epitelde ve skuamöz metaplazi gösteren prostat bez epitelinde CDC25A ile nükleer ve sitoplazmik boyanma oluşmuştur. Buna karşılık CDC25A'nın prostat dokusunda prognostik veriler ile anlamlı ilişkisi bulunmamıştır.

Xing ve ark. (92) gastrik kanserlerde CDC25A ve CDC25B'nin immünohistokimyasal ekspresyonunu araştırdıkları çalışmalarında CDC25A ve CDC25B düzeyleri artışı ile gastrik kanser gelişimi arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir. Ayrıca CDC25A ile intestinal metaplazi olan alanlarda kuvvetli sitoplazmik boyanma izlenmiştir.

Xu ve ark. (93) CDC25A ve CDC25B'nin immünohistokimyasal ekspresyonları ile hepatoselüler karsinomlar arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve normal hepatositlerle karşılaştırıldığında tümöral alanlarda CDC25A ekspresyonunun anlamlı derecede artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Bunun yanı sıra CDC25A'nın hepatoselüler karsinomlarda bağımsız bir prognostik faktör olarak kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.

Prostat dışı dokularda yapılan, CDC25A'nın onkogenik özelliklerini ortaya koyan çalışmalar ile karşılaştırıldığında bizim çalışmamızda elde edilen veriler ile önceki çalışmalar arasında farklılık söz konusudur. Yapılan alışmalarda CDC25A proteinin hem nükleer hem de sitoplazmik boyanma özelliklerinden bahsedilmektedir. Bizim alışmamızda ise benign ve malign dokular arasında CDC25A sitoplazmik boyanmaları açısından anlamlı fark bulunmamış hatta vakaların % 97,48'inde sitoplazmik boyanma izlenmemiştir. CDC25A antikörünün malign ve benign vakalarda nükleer boyanma özellikleri karşılaştırıldığında malign vakaların %97,7'sinde boyanma olmazken, benign vakalarda %30,7 oranında istatistiksel olarak anlamlı nükleer boyanma mevcuttur.

Prostat kanserinde CDC25A'nın immünohistokimyasal ekspresyonunun araştırıldığı çalışmalar oldukça kısıtlıdır. CDC25A ekspresyonunun immunohistokimyasal olarak gösterildiği bir çalışmada, prostat kanser hücrelerinde CDC25A ve CDC25B'nin hücre siklusunu düzenlemedeki rolleri birbirine benzer olsa da androjen reseptörü (AR) sinyal yolağındaki rollerinin farklı olduğu, CDC25A'nın AR korepresörü olarak fonksiyon gösterdiği ve CDC25A düzeyinin androjen bağımsız prostat kanser gelişiminde rolü olmadığı sonucuna varılmıştır. İmmünohistokimyasal olarak CDC25A düzeylerinin prostat kanserli olgularda normal prostat dokusuna göre artış gösterdiği bulunmuş ve bu PCR ve Western Blot yöntemleri ile desteklenmiştir (94-96). Bu verilerin aksine bizim çalışmamızda incelenen 177 prostat adenokarsinom vakasının CDC25A ile sitoplazmik boyanma özelliklerine bakıldığında malign vakalar ile benign vakalar arasında anlamlı sonuç elde edilememiştir. CDC25A'nın nükleer boyanma özelliklerine bakıldığında ise benign olgularda malign olgulara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen nükleer boyanma benign prostat gland epitelinin özellikle bazal tabaka hücrelerinde izlenmiştir. CDC25A hücre siklus düzenlenmesinden sorumlu olup hücre bölünmesini kontrolünde rol almaktadır ve non tümöral dokuda, gland epitelinde mitotik çoğalma özellikle bazal tabaka hücrelerinde daha fazla oranda görülür. Bu durum bizim çalışmamızda bazal tabaka hücrelerinde gördüğümüz nükleer boyanmayı açıklayabilir. Yapılan diğer çalışmaların aksine bizim çalışmamızda benign vakalarda görülen nükleer boyanmanın kullanılan antikör klonu farklılığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Aynı çalışmada elde edilen diğer bulgu Gleason skor'u 7 ve 7'den büyük olan vakalarda CDC25A düzeyinin Gleason skor 7'den düşük olan vakalara göre belirgin olarak arttığı yönündedir. Ayrıca metastatik tümörler ile metastaz yapmayan tümörlerin karşılaştırılmasında CDC25A düzeyinin metastaz yapan grupta belirgin artış gösterdiğini bulunmuştur (96). Bizim çalışmamızda ise Gleason skoru ile CDC25A'nın nükleer ve sitoplazmik boyanma özelliklerine bakıldığında, malign vakalarda izlenen nükleer boyanmaların Gleason skor ile anlamlı ilişkisi saptanmamıştır. CDC25A'nın sitoplazmik boyanma özellikleri ile Gleason skor arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı olmakla birlikte sitoplazmik olarak pozitif boyanan sadece 5 vaka izlenmiş olup bu 5 vakanın 4'ü Gleason skor 8-10 olan grupta yer almaktadır Diğer prognostik veriler olan lenfatik damar invazyonu, bilateral tutulum, perinöral invazyon ekstraprostatik yayılım ve veziküla seminalis invazyonu varlığı ile CDC25A'nın nükleer ve sitoplazmik özellikleri karşılaştırıldığında, prognostik verilerin hiçbiri ile anlamlı sonuç elde edilememiştir.

Schneider ve ark. (97) Western blot yöntemini kullanarak, CDC25 ailesinin diğer üyesi olan CDC25C ile prostat kanseri arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında, CK2 inhibisyonu sonrasında CDC25C ekspresyonunda hızlı azalma tespit etmişler ve CDC25C'nin CK2'nin substratı olduğu sonucuna varmışlardır. CK'nin alt birimi olan "CK alfa" da inhibisyon yapıldığında CDC25C ekspresyonunun azalmamasına rağmen, bu vakalarda apoptozun görülmesi nedeni ile CDC25C inhibisyonunun apoptoz için esansiyel olmadığını bulmuşlardır. Buradan yola çıkarak Cdk1 seviyesindeki azalmanın, hücre döngüsünde duraksamaya sebep olduğu ve sonuçta apoptoza gidişte bir önkoşul olduğu sonucuna varılabilir (98).

Literatürde prostat kanserinde, CDC25C'nin immünohistokimyasal olarak ekspresyonun araştırıldığı çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılan araştırmaların büyük bir kısmı CDC25B üzerine yoğunlaşmış olup, elde edilen veriler, immünohistokimyasal yöntemlere ek olarak, PCR, Western Blot gibi moleküler çalışmalar ile desteklenmiştir. CDC25 fosfataz ailesinden olan CDC25B'nin prostat kanser hücrelerindeki ekspresyonunu gösteren çalışmalarında, Ngan ve ark. (94) 30 vakaya ait radikal prostatektomi materyalinde yaptıkları çalışmalarında, immünohistokimyasal olarak neoplastik ve non-neoplastik prostat gland epitel hücrelerinde CDC25B ile sitoplazmik boyanma olduğunu görmüşler ve bu boyanmanın non-tümöral alanlara kıyasla tümöral alanlarda belirgin olarak artış gösterdiğini ve bu artışın tümör evresi ile doğru orantılı olduğunu ortaya koymuşlardır. Bizim çalışmamızda, bu çalışmaya benzer şekilde, malign vakalarda, benign vakalara kıyasla CDC25C'nin sitoplazmik boyanma oranı belirgin artış göstermektedir. Gleason skor ile CDC25C boyanma özellikleri karşılaştırıldığında, bizim çalışmamızda Ngan ve arkadaşlarının çalışmalarına benzer şekilde Gleason skor ile CDC25C sitoplazmik boyanma yoğunluğu arasında anlamlı fark bulunmuştur. Ayrıca çalışmamızda değerlendirilen diğer prognostik parametrelerden olan ekstraprostatik yayılım ile CDC25C sitoplazmik boyanma yoğunluğu arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Diğer prognostik veriler olan lenfatik damar invazyonu, bilateral tutulum, perinöral invazyon ve veziküla seminalis invazyonu varlığı ile CDC25C'nin nükleer ve sitoplazmik özellikleri karşılaştırıldığında, anlamlı fark elde edilememiştir.

Hücre döngüsü düzenlenmesi, DNA hasar yanıtı, kromatin "remodeling"i ve apoptoz gibi hücresel süreçlerde anahtar rol oynayan AATF, ilginç olarak hem tümör supresör gen hem de onkogen olarak işlev gören bir gendir (81,82). Bu özelliklerinden dolayı AATF'nin, meme, over kanserleri, lösemiler ve nöronal hasarla giden hastalıkların patogenezindeki ve tedavisindeki rolü araştırma konusu olmuştur. Ancak yapılan araştırmalar arasında prostat

tümörlerinde AATF'nin immunohistokimyasal özelliklerini inceleyen bir çalışma literatürde yer almamaktadır.

Haanpää ve ark. (99) ailesinde meme ya da over kanseri öyküsü bulunan 121 olgu üzerinde yaptıkları çalışmalarında, AATF geninde birkaç sekans varyantları bulmuşlar ancak bu varyantların artmış meme kanseri ile ilişkisini gösterememişlerdir. Sharma (81) meme kanserli olgularda AATF geni baskılanmasını araştırdığı çalışmasında, AATF geni baskılanmasının meme kanserli olgularda apoptozu indüklediğini ve östrojen “down” regülasyonu yaptığını, buna karşın normal meme dokusunda AATF geni baskılanmasının biyolojik selüler süreci etkilemediğini göstermiştir.

Di Podova ve ark. (84) PCR ve Western Blot yöntemleri ile AATF cDNA kullanarak normal doku ile pek çok kanser türünü karşılaştırdıkları çalışmalarında böbrek, kolon ve prostat tümörlerinde normal dokuya kıyasla AATF düzeyinde anlamlı düşüş olduğunu göstermişlerdir.

Di Podova ve ark. (84) çalışmalarının aksine bizim çalışmamızda AATF1 antikorunun sitoplazmik boyanma özellikleri incelendiğinde malign vakalarda, benign vakalarla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu görülmüştür. AATF ile pozitiflik gösteren vakaların %40'ında kuvvetli sitoplazmik, %24,3'ünde orta şiddette sitoplazmik boyanma izlenmiştir. AATF antikorunun nükleer boyanma özellikleri değerlendirildiğinde malign vakalarda benign vakalara kıyasla anlamlı artış olduğu görülmüştür. AATF'nin prostat kanseri de dahil olmak üzere diğer kanserlerin prognozları ile ilişkisini araştıran çalışma literatürde bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda AATF sitoplazmik boyanma özellikleri Gleason skor ile karşılaştırıldığında Gleason skor artışı ile sitoplazmik boyanma arasında korelasyon olduğu görülmüştür. Gleason skor dışında çalışmamızda değerlendirilen diğer prognostik parametrelerden biri olan ekstraprostatik yayılım ile AATF'nin sitoplazmik ekspresyonunun ilişkisine bakıldığında, ekstraprostatik yayılım gösteren vakalarda AATF'nin sitoplazmik ekspresyonunda anlamlı artış izlenmiştir. Ancak sitoplazmik boyanmanın aksine nükleer boyanma ile Gleason skor artışı ve ekstraprostatik yayılım varlığı arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Bu iki parametre dışında çalışmamızda değerlendirilen diğer prognostik parametrelerle AATF antikorunun ekspresyon ilişkisine bakıldığında, perinöral invazyonu, bilateral tutulum, veziküla seminalis invazyonu ve lenfovasküler invazyon bulunan olgularda sitoplazmik ekspresyon yoğunluğunda bir artış görülmüştür, ancak bu veriler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Sitoplazmik boyanmanın aksine AATF ile nükleer boyanma gösteren vakalarla Gleason skor artışı, ekstraprostatik yayılım, perinöral invazyon, bilateral

tutulmuş, vezikula seminalis invazyonu ve lenfovasküler invazyon varlığı arasında anlamlı ilişki izlenmemiştir. Bu veriler AATF'nin prostat kanserinin tanısında ve prognoz tayininde belirteç olarak kullanılabilceğini göstermektedir.

Kaul ve ark. (83) çalışmalarında Kolon, böbrek ve prostat tümörlerinin aksine altta yatan genetik translokasyonları farklı olsa bile AATF gen amplifikasyonunun, tüm lösemik hücre tiplerinin ortak paydası olabileceği ve lösemi tedavisinde kullanılabilceği sonucuna varmışlardır. Yapılan çalışmalar AATF'nin tümör supresör ve onkojenik özelliğini destekler niteliktedir. Her iki özelliğinden dolayı AATF'nin kanser tedavisinde yeri olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Bruno ve ark. (39) çalışmalarında AATF deplesyonu sağlayan ilaçların tümör hücrelerine etkili olduğunu, normal hücrelere etkili olmadığını göstermiş olup AATF'nin kemoterapötik ilaçların etkinliğini arttıracak terapötik bir ajan olabileceğini ileri sürmüşlerdir. AATF'nin kanser tedavisinde rolü olabileceğini gösteren çalışmalara ek olarak çalışmamızda AATF'nin prostat adenokarsinom vakalarında anlamlı olarak ekspres edilmesi nedeni ile AATF'nin terapötik etkilerinin prostat kanseri tedavisinde de kullanışlı olabileceğini düşünülebilir.

Apoptoz üzerindeki etkilerinin yanı sıra, AATF'nin nükleer reseptör kofaktörü olduğu da kanıtlanmıştır ve AATF'nin bu fonksiyonunun prostat kanseri üzerinde etkisi olabileceğini düşünülebilir (100). Page ve ark. (101) yaptıkları çalışmada AATF'nin "zipper interacting protein" (ZIP) ile etkileşimde bulunduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın ardından Leister ve ark. (100) prostat kanserinde ZIP kinazın AR koaktivatörü olarak fonksiyon gösterdiğini, AATF ve ZIP kinazın birbirinden bağımsız ancak işbirliği içinde olarak AR'ne bağlandıklarını ve ZIP kinaz AR bağlantısının AATF varlığında artış gösterdiğini, ancak mutant AATF varlığında ZIP kinaz AR bağlantısının kusurlu olabileceğini göstermişlerdir. Çalışmamızda prostat kanserlerinde AATF artışı gösterilmiş olmasına karşın bu artışın mekanizmasını açıklayacak yolları göstermek mümkün olmamıştır. Yine de yapılan önceki çalışmalar eşliğinde bu artış, AATF'nin prostat tümör hücrelerinde apoptozu inaktive etmesine ve / veya AR koaktivatörü olarak fonksiyon göstermesine bağlanabilir.

Prostat kanseri de dahil olmak üzere AATF'nin diğer kanserlerin prognozları ile ilişkisini araştıran çalışma literatürde bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda araştırılan prognostik verilerden Gleason skor ve ekstraprostatik yayılım ile AATF'nin sitoplazmik ekspresyonundaki artışı arasında anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. AATF'nin tümör baskılayıcı ve onkojenik özelliklerinin yanında prognoza olan etkisinin de yeni çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalı laboratuvarında 2007-2013 yılları arasında tanı almış, 177'si prostat adenokarsinomu 101'i benign prostat dokusundan oluşan 278 vaka üzerinde immünohistokimyasal olarak CDC25A, CDC25C ve AATF antikorları ile yapılan çalışma sonuçları şunlardır:

1. Malign vakalarda, CDC25C'nin sitoplazmik boyanma değerleri benign grup ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir.
2. Malign vakalarda AATF'nin hem sitoplazmik hem de nükleer boyanma değerleri benign grup ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir.
3. CDC25A sitoplazmik ve nükleer boyanma özellikleri ile malign ve benign vaka grubu arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ancak benign vakalarda CDC25A nükleer pozitifliğindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.
4. Gleason skor artışı ile AATF, CDC25A ve CDC25C'nin sitoplazmik boyanma değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır.
5. CDC25A ve CDC25C'nin nükleer boyanma özellikleri ile Gleason skor artışı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.
6. Ekstraprostatik yayılım varlığı ile CDC25C ve AATF antikorlarının sitoplazmik boyanma değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır.
7. CDC25A ile ekstraprostatik yayılım varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.
8. Tümör ile invaze prostat dokusu yüzdesi artışı ile CDC25C ve AATF nükleer boyanma değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır.

9. CDC25C ve AATF antikorlarının benign prostat dokusu ile kıyaslandığında prostat adenokarsinomunda artmış sitoplazmik ekspresyonları gösterilmiş olup, sitoplazmik ekspresyonun Gleason skor artışı ve ekstraprostatik yayılım varlığı ile korele olmasından dolayı bu iki antikorun prostat adenokarsinomunun tanısında ve prognoz tayininde önemli olabileceğini düşünmekteyiz.

ÖZET

Prostat kanseri erkeklerde görülen kanserler arasında 3. sıradadır. En sık izlenen alt tip asiner adenokarsinomlardır. Prostat karsinogenezinde genetik mekanizmaların rolünü gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur. Deoksiribonükleik asit tamir mekanizmalarında rol alan “Checkpoint kinase 2” genindeki mutasyonlar ve hücre siklusunda görevli “Cell division cycle” kinazların (A, B, C) CHEK2 ile ilişkili olarak prostat kanseri gelişiminde rol aldığı gösterilmiştir. Deoksiribonükleik asit tamir mekanizmalarında rol alan diğer bir protein olan ve apoptozu engelleyen AATF proteininin kanser gelişimindeki rolünü gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur. Ancak CDC25 ailesinden CDC25A ve CDC25C’nin AATF ile birlikte prostat karsinogenezindeki rolünü gösteren çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bununla birlikte var olan çalışmalar genetik temelli olup bu konuda yapılmış immunohistokimyasal çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada CDC25A, CDC25C ve AATF proteinlerinin normal prostat dokusunda ve malign dokuda ekspresyonlarının incelenmesi ve birbirleriyle ilişkilerinin ortaya konması amaçlandı. Çalışmaya Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden 177 malign, 101 benign prostat dokusu içeren toplam 278 materyal dahil edildi. Malign vakalar kendi aralarında Gleason skorlarına göre üç gruba ayrıldı. Malign vakalarda prostat karsinomu prognostik belirteçleri olan bilateral tutulum, ekstraprostatik yayılım, perinöral invazyon, veziküla seminalis invazyonu ve lenfovasküler invazyon varlığı değerlendirildi. Parafin bloklardan alınan kesitlere immunohistokimyasal olarak CDC25A, CDC25C ve AATF antikorları uygulandı ve iki gözlemci tarafından ışık mikroskobu altında değerlendirildi.

Malign vakalarda CDC25C antikorunun sitoplazmik, AATF antikorunun sitoplazmik ve nükleer pozitifliği benign gruba göre artmış olarak tespit edilmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Malign vaka grubunda AATF antikorunun sitoplazmik boyanma oranlarının Gleason skor artışı ile paralellik gösterdiği saptanmış, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Malign vaka grubunda CDC25C ve AATF sitoplazmik boyanma oranlarının ekstraprostatik yayılım varlığı ile korele olduğu saptanmış bu korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: CDC25A,CDC25C, AATF, CHEK 2, prostat, adenokarsinom

**EVALUATION OF “CELL DIVISION CYCLE 25 HOMOLOG C”
(CDC25C), “CELL DIVISION CYCLE 25 HOMOLOG A (CDC25A)’
AND “APOPTOSIS ANTAGONIZING TRANSCRIPTION FACTOR”
(AATF) PROTEINS WHICH ARE ACTIVATED BY CHEK-2 WITH
IMMUNOHISTOCHEMISTRY IN NORMAL PROSTATE TISSUE AND
PROSTATIC ADENOCARCINOMAS**

SUMMARY

Prostate cancer is the third common cancer in men. Acinar adenocarcinoma is the most common type. There are number of studies about role of genetic mechanisms in prostate carcinogenesis.

Mutations in “Checkpoint kinase 2” (CHEK2) gene, which is involved in Deoxyribonucleic acid damage response, and “Cell division cycle” (CDC) kinases (CDC25A, CDC25B,CDC25C) which are involved in the cell cycle, associated with CHEK2 has been shown to play a role in prostate cancer development. Another protein, AATF, is, involved in Deoxyribonucleic acid damage response and prevents apoptosis, and there are many studies indicating its role in cancer growth. But studies showing the role of CDC25A and CDC25C proteins along with AATF in prostate carcinogenesis, are limited in the literature. However except for the genetically based studies, there are no immunohistochemical studies related to this topic..

The aim of current study is to research alterations in expressions of CDC25A, CDC25C and AATF proteins in malignant prostate tissues and normal prostate tissues and demonstrating the relationship with each other.

Research is performed on a total number of 278 cases, which consist of 177 malignant prostate tissues, and 101 benign prostate tissues. Cases are selected from the archive of Trakya University Medical Faculty Department of Pathology which were submitted to the laboratory between 2007 and 2013. Malignant cases are graded and grouped into three groups with regard to Gleason scoring system. In addition, the malignant cases are evaluated concerning the prognostic factors such as bilateral lobe invasion, extraprostatic extension, perineural invasion, vesicula seminalis invasion and lymphovascular invasion. Immunohistochemical and light microscopy evaluations were performed by two observers.

Nuclear and cytoplasmic expressions of AATF antibody and cytoplasmic expression of CDC25C antibody were significantly increased in malignant cases. Cytoplasmic expression of AATF antibody in malignant cases was parallel with Gleason scores of tumours. This relationship was statistically significant. Additionally, increase in the cytoplasmic expression rates of AATF and CDC25C antibodies in malignant cases were correlated with extraprostatic extension and this was also statistically significant.

Key words: CDC25A, CDC25C, AATF, CHEK2, prostate, adenocarcinoma

KAYNAKLAR

1. WHO. Pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital organs. Lyon: IARC Press; 2004.
2. Kanser araştırma United Kingdom [internet] (Erişim Tarihi 10.10.2014) <http://www.cancerresearchuk.org>
3. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu kanser Daire Başkanlığı [internet]. (Erişim Tarihi 10.10.2014) <http://kanser.gov.tr/daire-faaliyetleri/kanser-kayitciligi>
4. Cook PJ, Doll R, Fellingham SA. A mathematical model for the age distribution of cancer in man. Int J Cancer 1969;4:93-112.
5. Bostwick DG. Urologic surgical pathology. Second ed. Edinburgh: Elsevier Mosby, 2008.
6. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran Pathologic basis of disease. Seventh ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005;1015-18.
7. Darryl Carter JKG. Sternberg's diagnostic surgical pathology. Fourth ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004:2083-2132
8. Moore, Keith L. Persaud, T. V. N. and Torchia, Mark G. Before We Are Born, Essentials of Embryology and Birth Defects. 7th edition, Elsevier Saunders, 2008
9. Mc Neal JE. Histology for pathologists. Second ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997:997-1018.
10. Rosai J. Rosai and Ackerman's surgical pathology. Tenth ed. St. Louis: Elsevier Mosby, 2011.
11. Arıncı K. Anatomi.3. Baskı ed. Elhan A, editor. Ankara: Güneş Kitabevi, 2001:334-6.
12. Mc Neal JE. Normal and pathologic anatomy of the prostate. Urology 1981;17(3):11-6

13. Konishi N, Shimada K, Ishida E, Nakamura M. Molecular pathology of prostate cancer. *Pathol Int* 2005;55(9):531-9.
14. Sato K, Qian, Sezak JM, Lieber MM, Bostwick DB, Bergstarlh EJ et al. Clinical significance of alterations of chromosome 8 in high-grade, advanced, nonmetastatic prostate carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1999;91(18):1574-80.
15. Evangelos M, Alexios T. Molecular pathways in prostate cancer *Nephrourol* 2013;5(3):792-800.
16. Bubendorf L, Kononen J, Koivisto P, Schraml P, Moch H, Gasser TC et al. Survey of gene amplifications during prostate cancer progression by highthroughout fluorescence in situ hybridization on tissue microarrays. *Cancer Res* 1999;59(4):803-6.
17. Gurel B, Iwata T, Koh CM, Yegnasubramanian S, Nelson WG, De Marzo AM. Molecular alterations in prostate cancer as diagnostic, prognostic, and therapeutic targets. *Adv Anat Pathol* 2008;15(6):319-31.
18. Rodrigues DN, Butler LM, Estelles DL, Bono JS. Molecular pathology and prostate cancer therapeutics: from biology to bedside. *J Pathol* 2014;232(2):178-84.
19. Zegarra-Moro OL, Schmidt LJ, Huang H, Tindall DJ. Disruption of androgen receptor function inhibits proliferation of androgen-refractory prostate cancer cells. *Cancer Res* 2002;62:1008–13.
20. Reiter RE, Gu Z, Watabe T, Thomas G, Szigeti K, Davis E et al. Prostate stem cell antigen: a cell surface marker overexpressed in prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(4):1735-40.
21. Gu Z, Thomas G, Yamashiro J, Shintaku IP, Dorey F, Raitano A et al. Prostate stem cell antigen (PSCA) expression increases with high gleason score, advanced stage and bone metastasis in prostate cancer. *Oncogene* 2000;19(10):1288-96.
22. Falzarano SM, Zhou M, Carver P, Tsuzuki T, Simmerman K, He H et al. ERG gene rearrangement status in prostate cancer detected by immunohistochemistry. *Virchows Arch* 2011;459(4):441-7.
23. He WW, Sciavolino PJ, Wing J. A novel human prostate-specific, androgen-regulated homeobox gene (NKX3.1) that maps to 8p21, a region frequently deleted in prostate cancer. *Genomics* 1997;43(1):69-77.
24. Bowen C, Bubendorf L, Voeller HJ, Slack R, Willi N, Sauter G et al. Loss of NKX3.1 expression in human prostate cancers correlates with tumor progression. *Cancer Res* 2000;60(21):6111-5.
25. Sun H, Lesche R, Li DM, Liliental J, Zhang H, Gao J et al. PTEN modulates cell cycle progression and cell survival by regulating phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate and Akt/protein kinase B signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 6199–204.
26. Wang S, Parsons R, Ittmann M. Homozygous deletion of the PTEN tumor suppressor gene in a subset of prostate adenocarcinomas. *Clin Cancer Res* 1998;4(3):811-5.

27. Cote RJ, Shi Y, Groshen S, Feng AC, Cordon-Cardo C, Skinner D, et al. Association of p27 Kip1 levels with recurrence and survival in patients with stage C prostate carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1998;90(12):916-20.
28. Guo Y, Sklar GN, Borkowski A, Kyprianou N. Loss of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27(Kip1) protein in human prostate cancer correlates with tumor grade. *Clin Cancer Res* 1997;12(1):2269-74.
29. Bookstein R, MacGrogan D, Hilsenbeck SG, Sharkey F, Allred DC. p53 is mutated in a subset of advanced-stage prostate cancers. *Cancer Res.* 1993;53(14):3369-73.
30. Hughes C, Murphy A, Martin C, Sheils O, O'Leary J. Molecular pathology of prostate cancer. *J Clin Pathol* 2005;58(7):673-84.
31. Konishi N, Hiasa Y, Tsuzuki T. Detection of pRB, p16/CDKN2 and p15INK4B gene alterations with immunohistochemical studies in human prostate carcinomas. *Int J Oncol* 1996;8(1):107-12.
32. Poehlmann A, Roessner A. Importance of DNA damage checkpoints in the pathogenesis of human cancers. *Pathol Res Pract.* 2010;206(9):591-601.
33. Melo J, Toczyski D. A unified view of the DNA-damage checkpoint. *Curr Opin Cell Biol.* 2002;14(2):237-45.
34. Cybulski C, Huzarski T, Górski B, Masojć B, Mierzejewski M, Debniak T et al. A novel founder CHEK2 mutation is associated with increased prostate cancer risk. *Cancer Res* 2004;64(8):2677-9.
35. Venkitaraman AR. Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2. *Cell* 2002;108:171–82.
36. Niida H, Nakanishi M. DNA damage checkpoints in mammals. *Mutagenesis* 2006;21(1):3-9.
37. Reinhardt H.C, Yaffe M.B. Kinases that control the cell cycle in response to DNA damage: Chk1, Chk2, and MK2, *Curr Opin Cell Biol* 2009;21:245–55.
38. Lee JS, Collins KM, Brown AL, Lee CH, Chung JH. hCds1-mediated phosphorylation of BRCA1 regulates the DNA damage response. *Nature* 2000;404:201-4.
39. Bruno T, De Nicola F, Iezzi S, Lecis D, D'Angelo C, Di Padova M, et al. Che-1 phosphorylation by ATM/ATR and Chk2 kinases activates p53 transcription and the G2/M checkpoint. *Cancer Cell* 2006;10(6):473-86.
40. Bartek J, Lukas J, Bartkova J. DNA damage response as an anti-cancer barrier: damage threshold and the concept of conditional haploinsufficiency. *Cell Cycle* 2007;6(19):2344-7.
41. Antoni L, Sodha N, Collins I, Garrett MD. CHEK2 kinase: Cancer susceptibility and cancer therapy-two side of the same coin. *Nat Rev Cancer* 2007;7:925-36.

42. Brisson M, Nguyen T, Vogt A, Yalowich J, Giorgianni A, Tobi D, et al. Discovery and characterization of novel small molecule inhibitors of human Cdc25B dual specificity phosphatase. *Mol Pharmacol* 2004;66(4):824-33.
43. Boutros R, Lobjois V, Ducommun B. CDC25 phosphatases in cancer cells: key players Good targets. *Nat Rev Cancer* 2007;7(7):495-507.
44. Sadhu K, Reed SI, Richardson H, Russell P. Human homolog of fission yeast cdc25 mitotic inducer is predominantly expressed in G2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87(13):5139-43.
45. Galaktionov K, Beach D. Specific activation of cdc25 tyrosine phosphatases by B-type cyclins: evidence for multiple roles of mitotic cyclins. *Cell* 1991;67(6):1181-94.
46. Nagata A, Igarashi M, Jinno S, Suto K, Okayama H. An additional homolog of the fission yeast cdc25+ gene occurs in humans and is highly expressed in some cancer cells. *New Biol* 1991;3(10):959-68.
47. Kristjánssdóttir K, Rudolph J. Cdc25 phosphatases and cancer. *Chem Biol* 2004;11(8):1043-51.
48. Gabrielli BG, Clark JM, McCormack AK, Ellem KA. Hyperphosphorylation of the N-terminal domain of Cdc25 regulates activity toward cyclin B1/Cdc2 but not cyclin A/Cdk2. *J Biol Chem* 1997;272(45):28607-14.
49. Wu S, Wolgemuth DJ. The distinct and developmentally regulated patterns of expression of members of the mouse Cdc25 gene family suggest differential functions during gametogenesis. *Dev Biol* 1995;170:195–206.
50. Wickramasinghe D, Becker S, Ernst MK, Resnick JL, Centanni JM, Tessarollo L, et al. Two CDC25 homologues are differentially expressed during mouse development. *Development* 1995;121:2047–56.
51. Kiyokawa H, Ray D. In vivo roles of CDC25 phosphatases: biological insight into the anti-cancer therapeutic targets. *Anticancer Agents Med Chem* 2008;8(8):832-6.
52. Lincoln AJ, Wickramasinghe D, Stein P, Schultz RM, Palko ME, De Miguel MP, et al. Cdc25b phosphatase is required for resumption of meiosis during oocyte maturation. *Nat Genet* 2002;30: 446–9.
53. Bulavin DV, Higashimoto Y, Popoff IJ, Gaarde WA, Basrur V, Potapova O, et al. Initiation of a G2/M checkpoint after ultraviolet radiation requires p38 kinase. *Nature* 2001;411(6833):102-7.
54. Reinhardt HC, Aslanian AS, Lees JA, Yaffe MB. p53-deficient cells rely on ATM- and ATR-mediated checkpoint signaling through the p38MAPK/MK2 pathway for survival after DNA damage. *Cancer Cell* 2007;11(2):175-89.
55. Galaktionov, K. Chen, X. Beach, D. Cdc25 cellcycle phosphatase as a target of c-myc. *Nature* 1996;382:511–7.

56. Ben-Yosef T, Yanuka O, Halle D, Benvenisty N. Involvement of Myc targets in c-myc and N-myc induced human tumors. *Oncogene* 1998;17(2):165-71.
57. Hernández S, Hernández L, Beà S, Cazorla M, Fernández PL, Nadal A et al. CDC25 cell cycle-activating phosphatases and c-myc expression in human nonhodgkin's lymphomas. *Cancer Res* 1998;58(8):1762-7.
58. Sasaki H, Yukiue H, Kobayashi Y, Tanahashi M, Moriyama S, Nakashima Y et al. Expression of the cdc25B gene as a prognosis marker in non-small cell lung cancer. *Cancer Lett* 2001;173(2):187-92.
59. Sato Y, Sasaki H, Kondo S, Fukai I, Kiriya M, Yamakawa Y et al. Expression of the cdc25B mRNA correlated with that of N-myc in neuroblastoma. *Jpn J Clin Oncol* 2001;31(9):428-31.
60. Saha A, Lu J, Morizur L, Upadhyay SK, Aj MP, Robertson ES. E2F1 mediated apoptosis induced by the DNA damage response is blocked by EBV nuclear antigen 3C in lymphoblastoid cells. *PLoS Pathog* 2012;8(3):1002573.
61. Vigo E, Müller H, Prosperini E, Hateboer G, Cartwright P, Moroni MC et al. CDC25A phosphatase is a target of E2F and is required for efficient E2F-induced S phase. *Mol Cell Biol* 1999;19(9):6379-95.
62. Wu L, Goodwin EC, Naeger LK, Vigo E, Galaktionov K, Helin K et al. E2F-Rb complexes assemble and inhibit cdc25A transcription in cervical carcinoma cells following repression of human papillomavirus oncogene expression. *Mol Cell Biol* 2000;20(19):7059-67.
63. Spitkovsky D, Jansen-Dürr P, Karsenti E, Hoffman I. S-phase induction by adenovirus E1A requires activation of cdc25a tyrosine phosphatase. *Oncogene* 1996;12(12):2549-54.
64. Donzelli M, Squatrito M, Ganoth D, Hershko A, Pagano M, Draetta GF. Dual mode of degradation of Cdc25 A phosphatase. *EMBO J* 2002;21(18):4875-84.
65. Busino L, Donzelli M, Chiesa M, Guardavaccaro D, Ganoth D, Dorrello NV et al. Degradation of Cdc25A by beta-TrCP during S phase and in response to DNA damage *Nature* 2003;426(6962):87-91.
66. Uchida S, Watanabe N, Kudo Y, Yoshioka K, Matsunaga T, Ishizaka Y et al. SCF β (TrCP) mediates stress-activated MAPK-induced Cdc25B degradation. *J Cell Sci* 2011;124(16):2816-25.
67. Gerstein AV, Almeida TA, Zhao G, Chess E, Shih IeM, Buhler K et al. APC/CTNNB1 (beta-catenin) pathway alterations in human prostate cancers. *Genes Chromosomes Cancer* 2002;34(1):9-16.
68. He N, Li C, Zhang X, Sheng T, Chi S, Chen K et al. Regulation of lung cancer cell growth and invasiveness by beta-TRCP. *Mol Carcinog* 2005;42(1):18-28.
69. Kim CJ, Song JH, Cho YG, Kim YS, Kim SY, Nam SW et al. Somatic mutations of the beta-TrCP gene in gastric cancer. *APMIS* 2007;115(2):127-33.

70. Bartek J, Lukas J. Chk1 and Chk2 kinases in checkpoint control and cancer. *Cancer Cell* 2003;3(5):421-9.
71. Tort F, Hernández S, Beà S, Camacho E, Fernández V, Esteller M et al. Checkpoint kinase 1 (CHK1) protein and mRNA expression is downregulated in aggressive variants of human lymphoid neoplasms. *Leukemia* 2005;19(1):112-7.
72. Galaktionov K, Lee AK, Eckstein J, Draetta G, Meckler J, Loda M et al. CDC25 phosphatases as potential human oncogenes. *Science* 1995;269(5230):1575-7.
73. Ray D, Terao Y, Fuhrken PG, Ma ZQ, DeMayo FJ, Christov K et al. Eregulated CDC25A expression promotes mammary tumorigenesis with genomic instability. *Cancer Res* 2007;67(3):984-91.
74. Karlsson C, Katich S, Hagting A, Hoffmann I, Pines J. Cdc25B and Cdc25C differ markedly in their properties as initiators of mitosis. *J Cell Biol* 1999;146(3):573-84.
75. Sexl V, Diehl JA, Sherr CJ, Ashmun R, Beach D, Roussel MF. A rate limiting function of cdc25A for S phase entry inversely correlates with tyrosine dephosphorylation of Cdk2. *Oncogene* 1999;18(3):573-82.
76. Millar JB, Blevitt J, Gerace L, Sadhu K, Featherstone C, Russell P. p55CDC25 is a nuclear protein required for the initiation of mitosis in human cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88(23):10500-4.
77. Hoffmann I, Draetta G, Karsenti E. Activation of the phosphatase activity of human cdc25A by a cdk2-cyclin E dependent phosphorylation at the G1/S transition. *EMBO J* 1994;13(18):4302-10.
78. Falck J, Mailand N, Syljuåsen RG, Bartek J, Lukas J. The ATM-Chk2-Cdc25A checkpoint pathway guards against radioresistant DNA synthesis. *Nature* 2001;410(6830):842-7.
79. Lindfors K, Halttunen T, Huotari P, Nupponen N, Vihinen M, Visakorpi T et al. Identification of novel transcription factor-like gene from human intestinal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;276(2):660-6.
80. Page G, Lödige I, Kögel D, Scheidtmann KH. AATF, a novel transcription factor that interacts with Dlk/ZIP kinase and interferes with apoptosis. *FEBS Lett* 1999;462(1-2):187-91.
81. Sharma M. Apoptosis-antagonizing transcription factor (AATF) gene silencing: Role in induction of apoptosis and down-regulation of estrogen receptor in breast cancer cells. *Biotechnol Lett* 2013;35(10):1561-70.
82. Fanciulli M, Bruno T, Di Padova M, De Angelis R, Iezzi S, Iacobini C et al. Identification of a novel partner of RNA polymerase II subunit 11, che-1, which interacts with and affects the growth suppression function of rb. *FASEB J* 2000;14(7):904-12.
83. Kaul D, Mehrotra A. Functional characterization of AATF transcriptome in human leukemic cells. *Mol Cell Biochem* 2007;297(1-2):215-20.

84. Di Padova M, Bruno T, De Nicola F, Iezzi S, D'Angelo C, Gallo R et al. Che-1 arrests human colon carcinoma cell proliferation by displacing HDAC1 from the p21WAF1/CIP1 promoter. *J Biol Chem* 2003;278(38):36496-504.
85. Girard F, Strausfeld U, Cavadore JC, Russell P, Fernandez A, Lamb NJ. Cdc25 is a nuclear protein expressed constitutively throughout the cell cycle in nontransformed mammalian cells. *J Cell Biol* 1992;118(4):785-94.
86. Leisser C, Rosenberger G, Maier S, Fuhrmann G, Grusch M, Strasser S et al. Subcellular localisation of Cdc25A determines cell fate. *Cell Death Differ* 2004;11(1):80-9.
87. Singh L, Pushker N, Sen S, Singh MK, Bakhshi S, Chawla BK. Expression of CDC25A and CDC25B phosphatase proteins in human retinoblastoma and its correlation with clinicopathological parameters. *Br J Ophthalmol* 2014 Oct 17. doi: 10.1136/bjophthalmol-2014-305830.
88. Ito Y, Yoshida H, Matsuzuka F, Matsuura N, Nakamura Y, Nakamine H, Kakudo K, Kuma K, Miyauchi A. Cdc25A and cdc25B expression in malignant lymphoma of the thyroid: correlation with histological subtypes and cell proliferation. *Int J Mol Med* 2004;13(3):431-5.
89. Ito Y, Yoshida H, Nakano K, Kobayashi K, Yokozawa T, Hirai K et al. Expression of cdc25A and cdc25B proteins in thyroid neoplasms. *Br J Cancer* 2002;86(12):1909-13.
90. Wang Z, Trope CG, Flørenes VA, Suo Z, Nesland JM, Holm R. Overexpression of CDC25B, CDC25C and phospho-CDC25C (Ser216) in vulvar squamous cell carcinomas are associated with malignant features and aggressive cancer phenotypes. *BMC Cancer* 2010;10:233.
91. Nishioka K, Doki Y, Shiozaki H, Yamamoto H, Tamura S, Yasuda T et al. Clinical significance of CDC25A and CDC25B expression in squamous cell carcinomas of the oesophagus. *Br J Cancer* 2001;85(3):412-21.
92. Xing X, Chen J, Chen M. Expression of CDC25 phosphatases in human gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2008;53(4):949-53.
93. Xu X, Yamamoto H, Sakon M, Yasui M, Ngan CY, Fukunaga H et al. Overexpression of CDC25A phosphatase is associated with hypergrowth activity and poor prognosis of human hepatocellular carcinomas. *Clin Cancer Res* 2003;9(5):1764-72.
94. Ngan ES, Hashimoto Y, Ma ZQ, Tsai MJ, Tsai SY. Overexpression of Cdc25B, an androgen receptor coactivator, in prostate cancer. *Oncogene* 2003;22(5):734-9.
95. He B, Minges JT, Lee LW, Wilson EM. The FXXLF motif mediates androgen receptor-specific interactions with coregulators. *J Biol Chem* 2002;277(12):10226-35.
96. Chiu YT, Han HY, Leung SC, Yuen HF, Chau CW, Guo Z et al. CDC25A functions as a novel Ar corepressor in prostate cancer cells. *J Mol Biol* 2009;385(2):446-56.

97. Schneider CC, Götz C, Hessenauer A, Günther J, Kartarius S, Montenarh M. Down-regulation of CK2 activity results in a decrease in the level of cdc25C phosphatase in different prostate cancer cell lines. *Mol Cell Biochem* 2011;356(1-2):177-84.
98. Schwindling SL, Noll A, Montenarh M, Götz C. Mutation of a CK2 phosphorylation site in cdc25C impairs importin alpha/beta binding and results in cytoplasmic retention. *Oncogene* 2004;23(23):4155-65.
99. Haanpää M, Reiman M, Nikkilä J, Erkkö H, Pyrkäs K, Winqvist R. Mutation analysis of the AATF gene in breast cancer families. *BMC Cancer* 2009;9: 457.
100. Leister P, Felten A, Chasan AI, Scheidtmann KH. ZIP kinase plays a crucial role in androgen receptor-mediated transcription. *Oncogene* 2008;27(23):3292-300.
101. Page G, Kögel D, Rangnekar V, Scheidtmann KH. Interaction partners of Dlk/ZIP kinase: co-expression of Dlk/ZIP kinase and Par-4 results in cytoplasmic retention and apoptosis. *Oncogene* 1999;18(51):7265-73.

EKLER

Ek 1

T.C. TRAKYAÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-GOKAEK 2014/18	
	PROTOKOL ADI	Normal Prostat ve Prostat Adenokarsinomlarında CHECK-2 Üzerinden Aktive Olan Hücre Döngüsü Düzenleyici Proteinlerden "Cell Division Cycle 25-homolog C" (CDC25C) Cell Division cycle 25-homolog A" (CDC25A) ve "Apoptozis Antagonizing Transcription Factor" (AATF) Proteinlerinin Prostat Karsinogenezi Üzerine Etkileri	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Doç. Dr. Ufuk USTA	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 03/06		Tarih:05.02.2014
	Fakültemiz Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ufuk USTA'nın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenmediği koşullarda gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.		
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-GOKAEK Yönergesi		

ÜYELER

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Üfket VATANSEVER ÖZBEK Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Başkan Yardımcısı	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ Üye	Tıbbi Farmakoloji.	T.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. Biyoistatistik A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Hilmi TOZKIR Üye	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Hasan ÜMİT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Selma Arzu VARDAR Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Sedat ÜSTÜNDAĞ Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Burcu TOKUÇ Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Koray ELTER Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Rugül KÖSE ÇINAR Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağ. ve Has. A.D.	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Recep YAĞIZ Üye	Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları	T.Ü.T.F. K.B.B. Hast. A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Berkan DEMİRAL Üye		T.Ü. İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Avukat Baki KURNAZ Üye		T.Ü. Rektörlüğü	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Recep YAĞIZ
Dekan a.
Dekan Yardımcısı