

DİLİRÜBA BEYZA DEMİREL

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2025



(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**PROSTAT KANSERİNDE EKSOZOMAL MİRNA
MOLEKÜLLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DİLİRÜBA BEYZA DEMİREL

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. ŞEREF BUĞRA TUNÇER**

**TEMEL ONKOLOJİ A.B.D
KANSER GENETİĞİ BİLİM DALI**

İSTANBUL-2025

BEYAN

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

Dilruba Beyza DEMİREL

AÇIKLAMA:

Kişisel Verileri Koruma Kurulu'nun 24/09/2020 tarihli ve 2020/722 sayılı toplantısında “Açık Erişim Sisteminde ıslak imzalı evrakların yayımlanması uygulamasının ilgili kişilere ait ıslak imzalı belgeleri içermeyecek şekilde güncellenmesi” Kararı üzerine tezlerde kişisel verilerin olmadan yüklenmesi uygulamasına başlanmıştır.

İTHAF

Desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen yol arkadaşım, sevgili eşime ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi Rektörü ve Onkoloji Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. Osman Bülent ZÜLFİKAR'a ve Temel Onkoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hatice Bilge BECERİR'e;

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kanseri Genetiği Programı'nda yapmış olduğum yüksek lisans dönemi boyunca değerli bilgi birikimi, rehberliği ve teşvik edici tutumuyla bana yol gösteren, göstermiş olduğu sabır, ilgi ve destekle, bu çalışmayı tamamlamamda büyük bir motivasyon kaynağı olan, karşılaştığım zorluklarda çözüm odaklılığı ve güler yüzüyle de her zaman yanımda olan, danışman hocam Doç. Dr. Şeref Buğra TUNÇER'e;

Prostat kanserli hasta grubunu toplamamda yardımcı olan başta Prof. Mehmet Öner ŞANLI, olmak üzere tüm Üroloji Bölümü asistan ve hemşirelerine;

Tezim ile ilgili istatistiksel analizleri gerçekleştirmemde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Özge PASİN'e;

Kanser Genetiği Bilim Dalı'nda görev yapan, yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Dr. Zübeyde YALNIZ KAYIM ve değerli teknisyenlerimiz Türkan ŞEN FERADOĞLU ile Arzu BURNUVA'ya; yüksek lisans eğitimim boyunca beraber çalışmaktan keyif aldığım, desteklerini esirgemeyen değerli dönem arkadaşlarıma;

Akademik ve sosyal hayatımda desteğini esirgemeyen ve bana olan güvenini hiç kaybetmeyen, bu zorlu yolculuğu kolaylaştıran en büyük güç kaynağım Batuhan DEMİREL'e; bu yolda birlikte yürüdüğümüz, her zaman yanımda olan ve beni motive eden, cesaretlendiren sevgili arkadaşım Sena KARAGÖL'e;

Bu çalışmayı gerçekleştirme sürecinde her zaman sevgiyle yanımda olan, bana duydukları inanç ve sağladıkları destekle, bugünlere ulaşmamda en önemli etkenlerden biri olan, sabrı, anlayışı ve manevi desteklerini hiç eksik etmeyen değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2023-39749

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Kanser Genetiği Programında Yüksek Lisans öğrencisi DİLRÜBA BEYZA DEMİREL tarafından Doç. Dr. Şeref Buğra TUNÇER'in danışmanlığında hazırlanan “**Prostat Kanseri**nde Eksozomal miRNA Moleküllerinin Araştırılması” başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 30/06/2025 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Doç. Dr. Özge PASİN
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Hamidiye Tıp Fakültesi
Biyoistatistik Anabilim Dalı

Jüri-Danışman

Doç. Dr. Şeref Buğra TUNÇER
İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü
Temel Onkoloji Anabilim Dalı
Kanser Genetiği Bilim Dalı

Jüri

Dr. Öğr. Üyesi Şule KARAMAN
İstanbul Üniversitesi
Onkoloji Enstitüsü
Klinik Onkoloji Anabilim Dalı

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	ii
İTHAF.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xii
ÖZET	xv
ABSTRACT.....	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. PROSTAT KANSERİ	3
2.1.1. Epidemiyoloji.....	3
2.1.2. Risk Faktörleri.....	4
2.1.3. Patogeneze	5
2.1.4. PKa'nın Patofizyolojisi	6
2.1.4.1. Androjen Reseptörü	7
2.1.4.2. Genetik ve Epigenetik Değişiklikler	11
2.1.4.3. Tümör Mikroçevresi.....	16
2.1.5. PKa'da Evreleme ve Prognoz	19
2.1.6. PKa'nın Teşhis Ve Tedavisi	27
2.2. KANSERDE EKSOZOMLARIN YÜKSELEN ROLÜ.....	35
2.2.1. Eksozom Biyolojisi	35
2.2.2. Kanser ve Eksozomlar	40
2.3. MikroRNA: MEKANİZMALAR VE İŞLEVLER.....	43
2.3.1. MikroRNA Biyolojisi Temelleri.....	43
2.3.2. Kanserde miRNA.....	45
2.4. KANSERDE EKSOZOMAL miRNA'LAR	47
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	55
3.1. Gereç	55

3.1.1. Materyal	55
3.1.2. Kimyasallar ve Malzemeler	56
3.1.3. Kullanılan Cihazlar	56
3.1.4. İstatistiksel Analiz.....	56
3.2. Deney Yöntemleri.....	57
3.2.1. İdrar Örneklerinin Hazırlanması	57
3.2.2. İdrar Örneklerinden Eksozomların İzolasyonu	57
3.2.3. Eksozomlardan miRNA İzolasyonu.....	58
3.2.4. miRNA'ların Saflık ve Konsantrasyon Analizleri	59
3.2.5. cDNA Sentezi	59
3.2.6. Dijital Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	60
4. BULGULAR.....	65
4.1. miRNA Saflık Ölçümü	66
4.2. miRNA Ekspresyon Bulguları	66
4.3. ROC Analizleri	69
4.4. Klinik Özelliklere Göre miRNA Ekspresyonlarının Karşılaştırılması	72
4.4.1. Tümör Evresine Göre miRNA Düzeyleri	72
4.4.2. Primer/Metastatik Kanser Duruma Göre miRNA Düzeyleri	73
4.4.3. Aile Öyküsüne Göre miRNA Düzeyleri	73
4.4.4. Sigara Kullanımına Göre miRNA Düzeyleri	73
4.4.5. Alkol Kullanımına Göre miRNA Düzeyleri	74
4.5. Korelasyon Analizleri	74
4.6. Lojistik Regresyon Analizi	76
4.6.1. miR-1226-3p ve miR-3662 Kombinasyonu.....	76
4.6.2. miR-1226-3p ve miR-4436a Kombinasyonu.....	77
4.6.3. miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a Kombinasyonu.....	79
5. TARTIŞMA	81
KAYNAKLAR	94
FORMLAR	123
ETİK KURUL KARARI	129
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	130

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Somatik PKa’da Kritik Onkogenler ve Tümör Baskılayıcı Genlerin Listesi (Ertunç ve Tuna, 2022)	14
Tablo 2-2: PKa’nın TNM Kriterlerine Göre Evre ve Açıklamaları (<i>PKa Evreleri (TNM Evrelemesi)</i> , n.d.)	23
Tablo 2-3: PKa için Evre Gruplarının Sınıflandırılması ve Tanımları (Türk Tıbbi Onkoloji Derneği, n.d.)	25
Tablo 2-4: PKa’da Düşük, Orta ve Yüksek Risk Kategorilerine Ait Klinik-Patolojik Kriterler (Başaran ve ark., 2014)	27
Tablo 2-5: PKa Hastalarından Elde Edilen Farklı Biyosıvıllardaki Eksozomal miRNA Profilleri ve Klinik İşlevleri (Akoto ve Saini, 2021; Ying ve ark., 2023)	52
Tablo 3-1: İnklüzyon ve Eksklüzyon Kriterleri	55
Tablo 3-2: Ters transkripsiyon reaksiyon bileşenleri	59
Tablo 3-3: Ters transkripsiyon reaksiyonu sıcaklık protokolü	60
Tablo 3-4: Dijital PZR için reaksiyon bileşenleri	62
Tablo 3-5: Dijital PZR reaksiyonu döngü koşulları.....	62
Tablo 4-1: Çalışma Grubunun Demografik, Klinik ve Bağımlılık Verilerine Göre Dağılımı	65
Tablo 4-2: Prostat Kanseri Hastalar ve Sağlıklı Bireylerde miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a Gen Ekspresyonlarına Ait Tanımlayıcı İstatistiksel Değerler	66
Tablo 4-3: miRNA'lara Ait ROC Analizi Sonuçları	69
Tablo 4-4: miRNA’lar Arasındaki Spearman Korelasyon Katsayıları	75
Tablo 4-5: miR-1226-3p ve miR-3662’ye Ait Lojistik Regresyon Analizi Sonuçları ...	77
Tablo 4-6: miR-1226-3p ve miR-4436a’ya Ait Lojistik Regresyon Analizi Sonuçları ..	77
Tablo 4-7: Lojistik Regresyon Modeline Ait ROC Eğrisi Altında Kalan Alan (AUC) Değeri.....	78
Tablo 4-8: miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a’ya Ait Lojistik Regresyon Analizi Sonuçları	79
Tablo 4-9: miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a Kombinasyonuna Ait ROC Eğrisi Altında Kalan Alan (AUC) Değeri	80

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: 2022 Yılında Erkeklerde Prostat Kanseri Vakalarının Bölgelere Göre Dağılımı (IARC, 2022) (GLOBOCAN) (<i>Global Cancer Observatory</i> , n.d.).....	3
Şekil 2-2: PKa Risk Faktörleri / <i>Mindmeister.com ile oluşturuldu (Mind Mapping Software: Mind Maps</i> , n.d.)	5
Şekil 2-3: Prostat Dokusunda Normal, PIN, Lokalize ve Metastatik Kanser Evrelerinin Histolojik Görünümleri (Erzurumlu, 2021)	6
Şekil 2-4: X Kromozomu Üzerinde Androjen Reseptörünün Genetik Düzeni ve Protein Domainleri (Erdoğan, n.d.)	8
Şekil 2-5: Androjen Reseptörünün Ligand Bağlanmasından DNA Üzerinde Transkripsiyon Başlatmasına Kadar Geçirdiği Aşamalar (Erzurumlu, 2021).....	9
Şekil 2-6: Androjen Reseptörüne Yönelik Farklı Hücresel Sinyal Yollarının Etkileşimleri (Erzurumlu, 2021)	11
Şekil 2-7: Tümör Hücreleri ile Çevrelerindeki Destekleyici Hücre ve Faktörler Arasındaki Etkileşimlerin Şematik Gösterimi (Hanahan ve Weinberg, 2011).....	16
Şekil 2-8: MDSC'nin Baskılayıcı Rolü (Sanaei ve ark., 2020).....	18
Şekil 2-9: Sağlıklı ve Tümörlü Prostataın Yan Görünüm Anatomik Karşılaştırması (Önal, n.d.)	19
Şekil 2-10: Sağlıklı ve Patolojik PSA Salınım Süreçlerinin Karşılaştırmalı Görünümü (Atuğ, 2018).....	20
Şekil 2-11: PKa'ya Ait Gleason Derecelendirme Desenleri ve Özellikleri (Epstein ve ark., 2005; Özdoğan, 2021)	22
Şekil 2-12: PKa'da Klinik Evrelerin Temel Anatomik Yayılım Görünümleri (Özdoğan, 2021)	26
Şekil 2-13: PKa'da Tanı Yöntemleri Şematik Gösterimi (Türk Tıbbi Onkoloji Derneği, n.d.)	27
Şekil 2-14: PKa'da Erken Tarama ve Tanı Süreçlerini Gösteren Akış Diyagramı (Başaran ve ark., 2014)	29
Şekil 2-15: Prostat Tümör Tedavisinde Yüksek Yoğunluklu Odaklanmış Ultrasonun Çalışma Prensipleri (Gülbüz ve Yurdakul, 2020).....	31
Şekil 2-16: Prostat Tümöründe Kriyoterapi ile Doku Dondurma Yönteminin Şematik Gösterimi (Gülbüz ve Yurdakul, 2020).....	31

Şekil 2-17: Çeşitli Örneklerde İzole Edilen Eksozomların Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) Görünümleri (Jeppesen ve ark., 2019)	36
Şekil 2-18: Hücre İçinde Eksozom Oluşum Sürecinin Şematik Gösterimi (Bozkurt, 2018).....	37
Şekil 2-19: Eksozomların Moleküler Bileşimi ve Membran Yapısı (Meldolesi, 2018; Kalluri ve LeBleu, 2020)	38
Şekil 2-20: Eksozomların Hedef Hücrelere Transferine İlişkin Alım ve Etkileşim Mekanizmaları (Bozkurt, 2018).....	39
Şekil 2-21: Tümör Hücrelerinden Salınan Eksozomların Kansere Hücreleri ve Mikroçevre Üzerindeki Etkileri (Bozkurt, 2018)	41
Şekil 2-22: Hücre İçinde miRNA Biyogenezi Aşamalarının Şematik Akışı (Gülfem Albayrak ve ark., 2022)	44
Şekil 2-23: Dolaşımdaki miRNA Analizinin Kanserde Tanı ve Prognostik Amaçlı Klinik Uygulama Potansiyelleri (Chakraborty ve ark., 2023)	46
Şekil 2-24: Hücreden Eksozomlar Yoluyla miRNA'nın Paketlenme ve Salınım Mekanizmaları (Yu ve ark., 2016).....	47
Şekil 2-25: Eksozomlarda miRNA Yüklenmesi Mekanizması I (Ingenito ve ark., 2019)	48
Şekil 2-26: Eksozomlarda miRNA Yüklenmesi Mekanizması II (Wani ve ark., 2020)	50
Şekil 3-1: Örnek Deney Düzeni.....	63
Şekil 4-1: Prostat Kanseri Hastalarında ve Sağlıklı Kontrollerde miR-1226-3p Kopya Sayısı Dağılımları	67
Şekil 4-2: Prostat Kanseri Hastalarında ve Sağlıklı Kontrollerde miR-3662 Kopya Sayısı Dağılımları	68
Şekil 4-3: Prostat Kanseri Hastalarında ve Sağlıklı Kontrollerde miR-4436a Kopya Sayısı Dağılımları	68
Şekil 4-4: miR-1226-3p için Prostat Kanseri Hastalar ve Sağlıklı Kontroller Arasında ROC Eğrisi.....	70
Şekil 4-5: miR-3662 için Prostat Kanseri Hastalar ve Sağlıklı Kontroller Arasında ROC Analiz Eğrisi	71
Şekil 4-6: miR-4436a için Prostat Kanseri Hastalar ve Sağlıklı Kontroller Arasında ROC Analiz Eğrisi	72

Şekil 4-7: Prostat Kanserli Hasta Grubunda miR-1226-3p ve miR-4436a Ekspresyon Düzeyleri Arasındaki Korelasyon Grafiği	76
Şekil 4-8: miR-1226-3p ve miR-4436a'nın Kombinasyonlarının Hasta ve Kontrol Grubu ROC Analiz Eğrisi.....	78
Şekil 4-9: miR-1226-3p, mir-3662 ve miR-4436a'nın Kombinasyonlarının Hasta ve Kontrol Grubu ROC Analiz Eğrisi	79



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Semboller

$\geq$	: Büyük eşit	∞	: Sonsuz	%	: Yüzde
$\leq$	: Küçük eşit	$^{\circ}\text{C}$	: Derece Celsius	μL	: Mikrolitre
=	: Eşittir	$\times \text{g}$	: Yerçekimi ivmesi birimi		
mL	: Mililitre	rpm	: Dakikadaki devir sayısı		

Kısaltmalar

Ago2	: Argonat 2
ADT	: Androjen Eksikliği Tedavisi
ALIX	: Apoptoz İle İlişkili Gen 2-Etkileşimli Protein X
AYE	: Androjen Yanıt Elemanları
AR	: Androjen Reseptörü
ARv7	: AR Varyant 7
AUC	: Anlamlı Tanısal Performans
BPA	: Bisfenol A
BPH	: Benign Prostat Hiperplazisi
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
KBF	: Kanserle Bağlantılı Fibroblastlar
circRNA	: Dairesel RNA
KDPK	: Kastrasyona Dirençli Prostat Kanseri
ctDNA	: Tümör DNA'sı
dPZR	: Dijital Polimeraz Zincir Reaksiyonu
DHT	: Dihidrotestosteron
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DRM	: Dijital Rektal Muayene
HDM	: Hücre Dışı Matriks
EMT	: Epitelyal-Mezenkimal Geçişi
ESCRT	: Endozomal Sınıflandırma İçin Gerekli Taşıma Kompleksi
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü

GA	: Güven Aralığı
GWAS	: Genomik Geniş Çaplı İlişkilendirme Araştırmaları
HIFU	: Yüksek Yoğunluklu Odaklanmış Ultrason
IL-6	: İnterlökin-6
IL-8	: İnterlökin-8
ILV	: Lümen İçi Veziküller
lncRNA	: Uzun Kodlamayan RNA
M-MDSC	: Monositik Miyeloid Kökenli Baskılayıcı Hücreler
MDSC	: Miyeloid Kökenli Baskılayıcı Hücreler
MHC	: Majör Histokompatibilite Kompleksi
MMP	: Matrix Metalloproteinazlar
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
mKDPK	: Metastatik Kastrasyon Dirençli Prostat Kanseri
mRNA	: Mesajcı RNA
MpMRG	: Multiparametrik Manyetik Rezonans Görüntüleme
NPC	: Nazofarenks Karsinomu
Nt	: Nükleotit
OR	: Risk Oranı
PAP	: Prostat Asit Fosfataz
PKa	: Prostat Kanseri
PDCD4	: Programlanmış Hücre Ölümü Proteini 4
PIN	: Prostatik İntraepitelyal Neoplazi
PMN	: Pre-Metastatik Niş
PMN-MDSC	: Polimorfonükleer Miyeloid Kökenli Baskılayıcı Hücreler
pre-miRNA	: Öncül miRNA
pri-miRNA	: Primer miRNA
PS	: Fosfatidilserin
PSA	: Prostat Spesifik Antijen
PSCA	: Prostat Kök Hücre Antijeni
PSMA	: Prostat Spesifik Membran Antijeni

PSMA-PET	: Prostat Spesifik Membran Antijen Pozitron Emisyon Tomografisi
RBP	: RNA Bağlayıcı Protein
RNA	: Ribo Nükleik Asit
RISC	: RNA-İndükleyici Sessizlik Kompleksi
ROC	: Alıcı İşletim Karakteristik Eğrisi
RNS	: Reaktif Azot Bileşenleri
ROS	: Reaktif Oksijen Bileşenleri
sEV	: Tümör Kaynaklı Küçük Eksozomlar
SNP	: Tek Nükleotid Polimorfizmi
SM	: Sfingomiyelin
STEAP1	: Prostat-1'in Altı Transmembran Epitel Antijeni
TGF-β	: Transforme Edici Büyüme Faktör Beta
TMÇ	: Tümör Mikroçevresi
TRUS	: Transrektal Ultrason
TSG101	: Tümör Duyarlılık Geni 101
VPT	: Vasküler Hedefli Otodinamik Terapi

ÖZET

DEMİREL, D.B. Prostat Kanseriinde Eksozomal miRNA Moleküllerinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Onkoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul (2025).

Prostat kanseri, erkeklerde sık görülen ve ölüm riski yüksek olan ciddi bir hastalıktır. Standart tanı prosedürlerinin (PSA ölçümü, transrektal biyopsi vb.) invaziv doğası, yanlış pozitif/negatif sonuç riski ve düşük özgüllük gibi sınırlamaları nedeniyle, erken teşhis ve takip için yeni, hassas ve invaziv olmayan biyolojik belirteçlere ihtiyaç vardır. Eksozomlar, taşıdıkları çeşitli moleküller sayesinde hücreler arası iletişimi sağlayan küçük kesecikler olup, tanı ve tedavi süreçlerinde büyük bir potansiyel taşırlar. MikroRNA'lar ise gen ifadesini düzenleyerek kanser oluşumunda kilit rol oynayan moleküller olup, hastalığın teşhisi ve tedavisi için değerli bilgiler sunar. Bu nedenle, eksozomların içinde taşınan mikroRNA'lar, kanser tanı ve tedavisinde önemli biyobelirteçler olarak kabul edilmektedir.

Çalışmamızda, prostat kanseri tanısı almış 30 hasta ile 20 sağlıklı bireyin idrar örneklerinden izole edilen eksozomlarında, miRNA-1250, miRNA-1226-3p, miRNA-3662 ve miRNA-4436a ekspresyon düzeyleri karşılaştırılmış, bu mikroRNA'ların hastalık tanısında potansiyel biyobelirteç olarak kullanılma olasılığını değerlendirilmiştir. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, miRNA-1250'nin ekspresyonunun tamamen baskılandığı, miRNA-1226-3p ve miRNA-4436a'nın ekspresyon düzeylerinin ise prostat kanseri grubunda, sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı derecede tanısal güce sahip olduğu tespit edilmiştir. miRNA-3662'nin tanısal performansı da anlamlı bulunmuştur, ancak tanısal gücünün miRNA-1226-3p ve miRNA-4436a'ya göre daha düşük olduğu görülmüştür. Yapılan korelasyon analizleri, miRNA-1226-3p ile miRNA-4436a arasında güçlü bir pozitif ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgu, söz konusu iki mikroRNA'nın birlikte kullanılabileceğini ve ortak bir tanı potansiyeli taşıdığını desteklemektedir. Elde edilen bulgular, eksozomal mikroRNA'ların prostat kanseri tanısında biyobelirteç olarak kullanılma potansiyelini ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayabileceğini göstermekle birlikte, bu sonuçların daha kapsamlı fonksiyonel çalışmalarla doğrulanması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Prostat kanseri, eksozom, biyobelirteç, miRNA-1250, miRNA-1226-3p, miRNA-3662, miRNA-4436a

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2023-39749

ABSTRACT

DEMİREL, D.B. Investigation of Exosomal miRNA Molecules in Prostate Cancer. İstanbul University, Institute of Health Science, Basic Oncology Department. Master Thesis. İstanbul (2025).

Prostate cancer is a serious disease with high prevalence and mortality in men. Due to the invasive nature, risk of false-positive/false-negative results, and low specificity of standard diagnostic procedures (such as PSA testing and transrectal biopsy), there is a pressing need for new, sensitive, and non-invasive biological markers for early diagnosis and monitoring. Exosomes are small vesicles that mediate intercellular communication by carrying various molecules, and they hold great potential in diagnostic and therapeutic processes. MicroRNAs, which regulate gene expression and play a key role in cancer development, offer valuable insights for the diagnosis and treatment of diseases. Therefore, microRNAs encapsulated in exosomes are considered important biomarkers in cancer diagnosis and therapy.

In our study, the expression levels of miRNA-1250, miRNA-1226-3p, miRNA-3662, and miRNA-4436a were compared in urinary exosomes isolated from 30 prostate cancer patients and 20 healthy individuals. The aim was to evaluate the potential use of these microRNAs as diagnostic biomarkers for prostate cancer. According to the statistical analysis results, miRNA-1250 expression was found to be completely suppressed, while miRNA-1226-3p and miRNA-4436a showed significantly higher diagnostic power in the prostate cancer group compared to healthy controls. Although miRNA-3662 also demonstrated statistically significant diagnostic performance, its power was lower than that of miRNA-1226-3p and miRNA-4436a. Correlation analysis revealed a strong positive relationship between miRNA-1226-3p and miRNA-4436a. This finding supports the idea that these two microRNAs could be used in combination and may share a common diagnostic potential. Overall, the findings highlight the potential of exosomal microRNAs as biomarkers in the diagnosis of prostate cancer and their possible contribution to the development of personalized treatment strategies. However, these results need to be validated by more comprehensive functional studies.

Key Words: Prostate cancer, exosome, biomarker, miRNA-1250, miRNA-1226-3p, miRNA-3662, miRNA-4436a

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. TYL-2023-39749

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, yüksek hastalık ve ölüm oranlarıyla küresel anlamda önde gelen halk sağlığı sorunlarından biridir. Erkek popülasyonunda dünya çapında sık görülen bir kanser türü olan prostat kanseri (PKa), bu kapsamda kritik bir sağlık tehdidi oluşturmaktadır (Özdoğan, 2020). Hastalık, heterojen bir yapı sergilediğinden tanı, takip ve tedavi süreçlerini karmaşıktırmaktadır. Mevcut tanı yöntemleri, prostat spesifik antijen (PSA) testinden invaziv biyopsi uygulamalarına kadar düşük özgüllük, sınırlı duyarlılık ve hasta konforunu olumsuz etkileme gibi önemli dezavantajlara sahiptir (Yencilek ve ark., 2018). Bu nedenle, prostat kanserinin erken ve doğru teşhisi için invaziv olmayan, aynı zamanda hastalık seyrinin ve tedavi yanıtının etkin izlenmesini sağlayacak yenilikçi biyobelirteçlere acilen ihtiyaç duyulmaktadır.

Kanser biyolojisindeki gelişmeler, hücreler arası iletişimin kilit taşıyıcıları olarak eksozomların önemini ortaya koymaktadır (Bolkent, 2021). Çeşitli hücreler tarafından salgılanan bu nano boyutlu hücre dışı kesecikler, köken aldıkları hücrelere ait moleküler bileşenleri (proteinler, lipidler, DNA) ve çok sayıda RNA türünü, özellikle mikroRNA'ları (miRNA) taşır. miRNA'lar, gen ifadesini düzenleyen küçük kodlamayan RNA molekülleri olup, başta onkogeneze olmak üzere pek çok patolojik süreçte rol oynarlar. Eksozomların miRNA'ları seçici olarak taşıyıp hücreler arasında aktarabilmesinin keşfi, tümör progresyonu, metastaz ve tümör mikroçevresi gibi kanser mekanizmalarının anlaşılmasında çığır açmıştır (Bozkurt, 2018).

Eksozomal miRNA'lar, vücut sıvılarında yüksek stabilite göstermeleri ve tümörün moleküler imzasını yansıtabilmeleri nedeniyle kanser araştırmalarında umut verici biyobelirteçlerdir (Jeon ve ark., 2020). Prostat kanserinde bu moleküllerin incelenmesi, hastalığın erken teşhisi ve takibinde devrim yaratabilecek yeni tanısal/prognostik biyobelirteçlerin keşfine öncülük edebileceği bildirilmiştir (Hessvik ve ark., 2013). Tez çalışması, bu kritik araştırma alanlarının kesişiminde yer almakta olup; eksozomal miRNA'ların potansiyelinden yararlanarak prostat kanseri yönetimindeki karşılanmamış klinik ihtiyaçları gidermeyi hedeflemektedir.

Bu çalışmanın genel amacı, prostat kanserinde eksozomal miRNA'ların rollerinin kapsamlı analizi ve bu moleküllerin erken tanı, prognoz tahmini ve hastalık takibi gibi alanlarda biyobelirteç potansiyelinin değerlendirilmesidir.

Eksozomal miRNA'lar, eksozomlar içinde korunarak taşınmaları ve kan dolaşımında bile uzun süre stabil kalmaları sayesinde, serum, plazma ve idrar gibi biyolojik sıvılarda tespit edilebilen ideal biyobelirteç adaylarıdır. Araştırmamızın odağında ise dört spesifik eksozomal miRNA bulunmaktadır. miR-1250, miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a'nın prostat kanseri patolojisindeki potansiyel rolleri nedeniyle hastalığın temelindeki moleküler mekanizmaları hedefleyen bir yaklaşımı yansıtmaktadır.

Bu araştırma, birkaç temel hedefe ulaşmayı amaçlamaktadır: öncelikle, prostat kanseri hastalarında eksozomal miRNA ekspresyon profilinin ortaya çıkarılması ve bu miRNA'ların prostat kanserine özgü olabileceğini belirlemek için sağlıklı bireylerle karşılaştırmalar yapılmasıdır. İkincil olarak, belirli eksozomal miRNA'ların, prostat kanseri ile ilgili çeşitli klinik parametrelerle (tümör evresi, primer/metastatik durum, aile öyküsü ve sigara kullanımı) arasında olan korelasyonu değerlendirmek ve böylece hastalığın prognozunu tahmin edebilecek potansiyeli ortaya çıkarmaktır. Üçüncü olarak, tespit edilen eksozomal miRNA'ların prostat kanseri patogeneziindeki biyolojik önemini araştırmayı ve bunların tümör biyolojisindeki rolleri ile terapötik hedefler olarak kullanılabilirliklerini incelemeyi amaçlamaktadır.

Moleküler biyolojik tekniklerden ve analizlerden faydalanarak seçilen eksozomal miRNA'ların prostat kanseri üzerindeki karmaşık etkileşiminin ortaya çıkartılması amaçlanmıştır. Bu miRNA'lar, prostat kanserinde henüz çalışılmamış olup, diğer kanser türlerinde tümör biyolojisiyle ilişkili rolleri ve biyobelirteç potansiyelleri bildirilmiş olmaları nedeniyle seçilmiştir. Eksozomal miR-1250, miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a ekspresyon profillerinin belirlenmesi, hastalığın moleküler mekanizmasının anlaşılmasına olanak tanıyacak, potansiyel olarak prostat kanseri tanı ve tedavilerinde yeni ufuklar açabilecektir. Elde edilen bulgular doğrultusunda, araştırma onkoloji alanına önemli katkılarda bulunmayı ve prostat kanseri tanısı alan hastalar için kişiselleştirilmiş, etkili ve invaziv olmayan yönetim stratejileri sunma umudunu taşımaktadır.

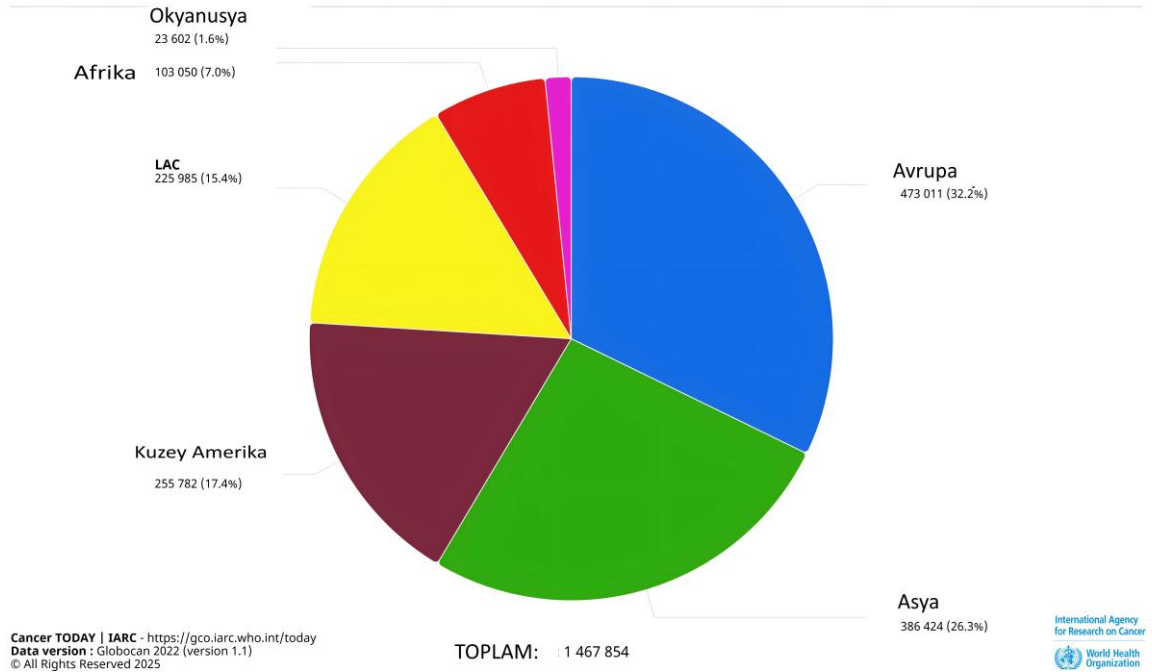
2. GENEL BİLGİLER

2.1. PROSTAT KANSERİ

2.1.1. Epidemiyoloji

Prostat kanseri, erkeklerde en sık görülen kanserler arasında akciğer ve kolorektal kanserlerinden sonra üçüncü sırada yer alır. GLOBOCAN 2022 verilerine göre dünya genelinde yaklaşık 1.47 milyon yeni prostat kanseri vakası tespit edilmiş ve bu hastalıktan 397.000 ölüm kaydedilmiştir. Prostat kanserinin görülme sıklığı bölgelere göre önemli farklılıklar gösterir. Avrupa %32,2 ile en yüksek vaka oranına sahiptir. Asya %26,3 ile ikinci sırada yer alırken, Kuzey Amerika %17,4, Latin Amerika ve Karayipler %15,4, Afrika ise %7,0 oranındadır (IARC, 2022) (*Global Cancer Observatory*, n.d.). Özellikle Avustralya/Yeni Zelanda, Kuzey Amerika, Batı ve Kuzey Avrupa gibi gelişmiş bölgelerde prostat kanseri görülme sıklığı daha yüksektir (Culp ve ark., 2020). Bu veriler, prostat kanserinde erken tanı ve tedavinin önemini açıkça ortaya koymaktadır (Şekil 2-1).

Mutlak sayılar, İnsidans, Erkekler, 2022
Prostat



Şekil 2-1: 2022 Yılında Erkeklerde Prostat Kanseri Vakalarının Bölgelere Göre Dağılımı
(IARC, 2022) (GLOBOCAN) (*Global Cancer Observatory*, n.d.)

Erkeklerde yaşam boyu PKa yakalanma riski oldukça yüksektir. Bu kanser türü özellikle yüksek gelirli ülkelerde daha sık görülmektedir. Hastalığın oluşumunda genetik yatkınlık, çevresel faktörler ve yaşam tarzı alışkanlıkları gibi etkenler rol oynamaktadır. Ancak bu faktörlerin kesin etkilerini anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (Torre ve ark., 2015; Bray ve ark., 2018; Bergengren ve ark., 2023).

2.1.2. Risk Faktörleri

PKa gelişiminde yaş, ırk veya etnik köken, genetik yatkınlık, ailedeki hastalık geçmişi, yaşam biçimi ve çevresel etmenler önemli risk faktörleridir. (Gandaglia ve ark., 2021). Yaş, PKa riskini arttıran en önemli unsurlardan biridir ve yaş ilerledikçe risk artmaktadır. Afrika kökenli Amerikalı erkeklerde PKa'nın daha yaygın ve ölüm oranlarının daha yüksek olması etnik ve genetik faktörlerin önemini vurgulamaktadır. Ayrıca, birinci derece akrabalarında PKa bulunan kişilerde hastalığa yakalanma riski daha yüksektir (Adjakly ve ark., 2015; Pernar ve ark., 2018). Genetik açıdan özellikle *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *CHEK2* ve *PALB2* gibi genlerdeki fonksiyon kaybına yol açan mutasyonların, hastalığın oluşumuyla ilişkili olduğu bilinmektedir (Berenguer ve ark., 2023).

Çalışmalar PKa gelişiminde obezite, sedanter yaşam tarzı ve kötü beslenme alışkanlıklarının riski arttırdığını; düzenli egzersiz ve akdeniz tipi beslenme tarzının azalan riskle ilişkili olduğunu göstermektedir (Gong ve ark., 2006; Benke ve ark., 2018; Pernar ve ark., 2018). Antioksidan, likopen ve fitoöstrojen yönünden zengin beslenme tarzının riski azaltabileceği belirtilmiştir. Buna karşın tütün ürünleri kullanımı PKa'da mortalite oranlarını yükseltmektedir (Aune ve ark., 2015).

Çevresel etmenler de PKa gelişiminde önemli rol oynar. Özellikle sanayide kullanılan kimyasallar, radyasyon (Parent ve Siemiatycki, 2001), Bisfenol A (BPA) bileşikleri, (Adjakly ve ark., 2015; Salamanca-Fernández ve ark., 2021) ve tarım ilaçları (Adjakly ve ark., 2015; Pardo ve ark., 2020) PKa ile ilişkili bulunmuştur (Şekil 2-2).



Şekil 2-2: PKa Risk Faktörleri / *Mindmeister.com ile oluşturuldu (Mind Mapping Software: Mind Maps, n.d.)*

2.1.3. Patogenez

PKa gelişiminde birçok moleküler ve hücrel mekanizma etkin rol oynamaktadır. Günümüzde, PKa'nın gelişiminde kritik öneme sahip olduğu düşünülen mekanizmalar arasında androjen reseptörü (AR), DNA onarım mekanizmalarındaki bozukluklar, epigenetik değişimler ve tümör mikroçevresi bulunmaktadır (Shen ve Abate-Shen, 2010; Wasim ve ark., 2022).

PKa adenokarsinomlarının %95'i prostatın periferik bölgelerindeki epitel hücrelerinden köken alır (Wasim ve ark., 2022). Hastalığın gelişim süreci, AR'in aktive olmasıyla başlar; Androjenlerin AR ile etkileşimleri, kanser hücrelerinin büyümesine yardımcı olan genlerin aktif hale gelmesine yol açar (Shen ve Abate-Shen, 2010; Wasim ve ark., 2022).

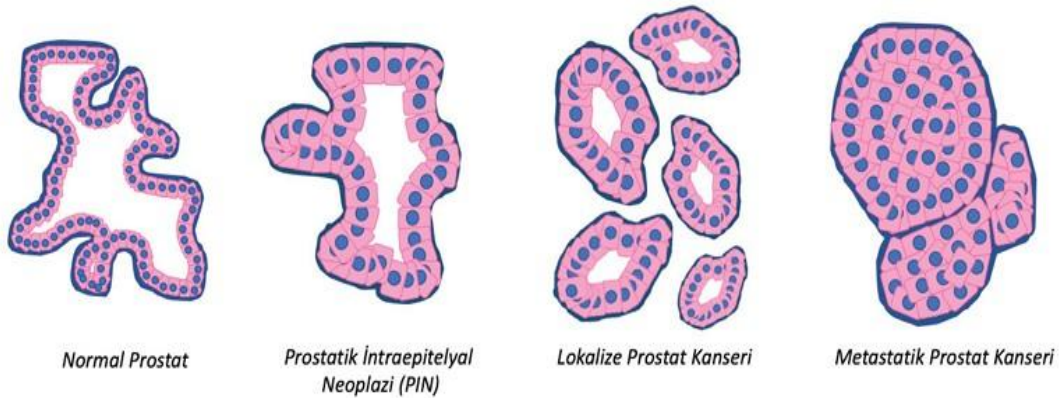
DNA tamirinde görev alan *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinde fonksiyon kaybına yol açan mutasyonların, agresif tümörlerin gelişimi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Castro ve ark., 2013; White ve ark., 2022). DNA metilasyonları ve histon değişiklikleri gibi epigenetik mekanizmalar tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna veya onkogenlerin aşırı aktivasyonuna yol açarak hastalığın patogeneze katkı sağlar (Wasim ve ark., 2022). Tümör mikroçevresinin (TMÇ), inflamatuvar hücreler, büyüme faktörleri ve sitokinler yoluyla tümörün büyümesi ve yayılmasında önemli olduğu

çalışmalarla gösterilmiştir (Wasim ve ark., 2022). *TMPRSS2-ERG* füzyonları ise tedaviye cevap açısından önemlidir (Stopsack ve ark., 2023).

2.1.4. PKa'nın Patofizyolojisi

Prostat, pelvis bölgesinde bulunur kas-iskelet dokusuyla sarıdır ve salgı yapma görevi olan bir organdır (McNeal, 1988; J. Zhang ve ark., 2019). İçinden geçen üretra ve ejakulatuar kanallar vasıtasıyla, idrar iletimini ve meni salgılanması görevlerini yerine getirir (E. H. Wu ve De Cicco, 2025). Prostat bezindeki küçük, tübüloalveolar bezler, salgıdan sorumlu hücrelerden oluşmaktadır (Miotti ve ark., 2018). Bu hücrelerde meydana gelen genetik değişimler veya çevresel faktörlerin etkisi PKa gelişimi açısından önemlidir (Attard ve ark., 2016).

PKa çoğunlukla prostatın dış bölgelerinde gelişir ve bez içinde sınırlı kaldığında lokal PKa olarak adlandırılır (McNeal, 1981). Ancak kemik, lenf bezleri ve beyin gibi uzak organ metastazları nedeniyle daha agresif formlara dönüşebilir (Gandaglia ve ark., 2015). Histolojik açıdan, PKa normal dokuya göre prostatik intraepitelyal neoplaziye (PIN) dönüşüm gösterirken hastalık ilerledikçe lokal ve metastatik evrede belirgin fenotipik değişiklikler sergiler (Bostwick ve Cheng, 2012; Erzurumlu, 2021) (Şekil 2-3).



Şekil 2-3: Prostat Dokusunda Normal, PIN, Lokalize ve Metastatik Kanser Evrelerinin Histolojik Görünümleri (Erzurumlu, 2021)

PKa'nın gelişim aşamaları üç farklı evrede ele alınır (Testa ve ark., 2019).

a) İntraepitelyal neoplazi (prekanseröz aşama):Lüminal hücrelerde artış ve bazal hücrelerin kaybı belirgindir. Androjen baskılayıcı tedaviye yanıt verir (Shen ve Abate-Shen, 2010; Xiao ve ark., 2020).

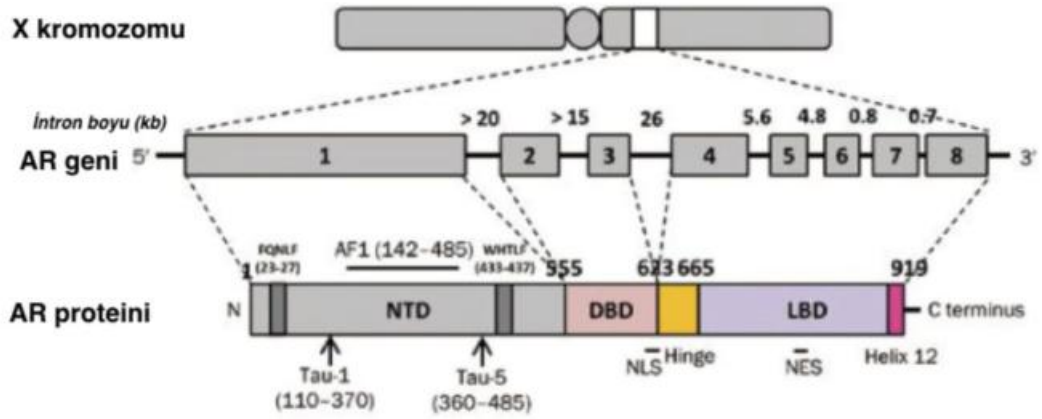
b) Androjenlere bağımlı adenokarsinom oluşumu: Bazal hücrelerin tamamen kaybolduğu ve lüminal hücrelerin ön plana çıktığı aşamadır. Bu aşamada PKa hücreleri, genellikle büyümek ve çoğalmak için androjenlere (testosteron ve dihidrotestosteron) ihtiyaç duyar (Shen ve Abate-Shen, 2010; Chung ve Abboud, 2022). Androjenler, androjen reseptörlerini (AR) aktif hale getirerek hücrelerin gelişimini ve varlığını sürdüren genlerin ifade edilmesini teşvik eder (Heinlein ve Chang, 2004).

c) Androjen bağımsız adenokarsinom (kastrasyona dirençli PKa, KDPK): PKa'nın ileri aşamalarını ifade eder ve kanser hücrelerinin yayılma potansiyeli artar. (Maitland ve Collins, 2008). KDPK, androjen üreten hücrelerin androjene ihtiyaç duymadan yaşamını sürdürme ve çoğalma kabiliyeti kazanması ile karakterizedir (Coutinho ve ark., 2016). Başlangıçta, androjen eksikliği tedavisi (ADT), etkili bir seçenektir (Heinlein ve Chang, 2004; Z. Zhang ve ark., 2015). Ancak kanser hücreleri zamanla tedaviye direnç kazanır. Bu direnç mekanizmaları AR gen mutasyonları, alternatif AR varyantları veya AR üzerinde post-translasyonel modifikasyonlar nedeniyle oluşabilir (Ferraldeschi ve ark., 2015; Ge ve ark., 2020).

2.1.4.1. Androjen Reseptörü

Yapısı ve İşlevi

AR, 110 kDa boyutunda bir nükleer transkripsiyon faktörüdür. Bu gen, X kromozomunun q11-12 bölgesinde bulunur ve toplamda sekiz ekzondan oluşmaktadır (Ferraldeschi ve ark., 2015) (Şekil 2-4). AR, PKa hücrelerinin gelişimi ve yaşaması açısından önemli bir nükleer reseptördür (Heinlein ve Chang, 2004). AR'nin işlevi, farklı koaktivatör ve korepresör proteinler aracılığıyla kontrol edilir. (Dehm ve Tindall, 2006; Shafi ve ark., 2013). Normalde, AR hormon ligandı olmadan sitoplazmada, farklı ısı-şok proteinleri ile birleşik halde bulunmaktadır. Ligand eklendiğinde, AR HSP90'dan ayrılır ve yapısında bir değişim meydana gelir. Bu durum, AR'nin nükleusa geçmesini ve DNA ile etkileşimde bulunmasını mümkün kılar (Shafi ve ark., 2013).



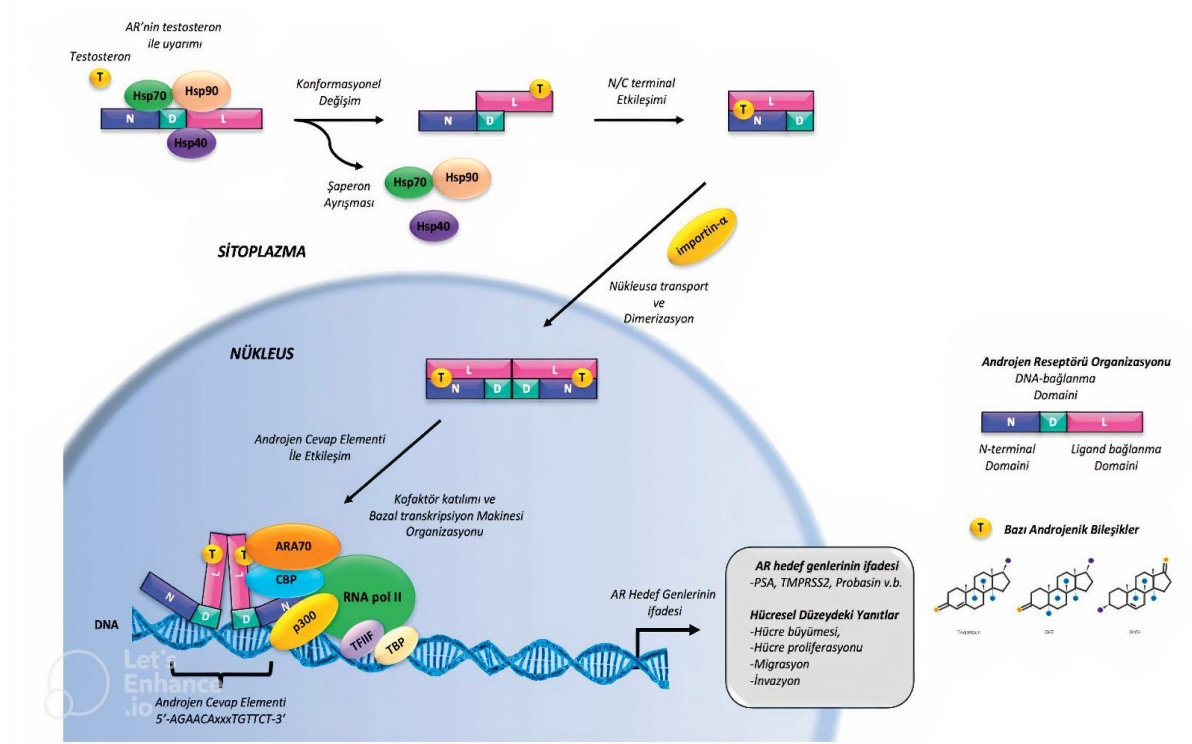
Şekil 2-4: X Kromozomu Üzerinde Androjen Reseptörünün Genetik Düzeni ve Protein Domainleri (Erdoğan, n.d.)

AR'nin Aktivasyonu

AR yolu, PKa'nın oluşumunda ve seyrinde önemli bir işlev üstlenir. Normal şartlar altında, bu yolun düzgün işlemesi, prostat dokusunun sağlıklı bir şekilde gelişmesi ve işlevlerinin sürdürülebilmesi için elzemdir. Fakat, bu yolda meydana gelen aşırı aktivasyon ya da düzensizlik, PKa gibi farklı hastalıkların gelişimine yol açabilir (Lamb ve ark., 2014; Ferraldeschi ve ark., 2015; Ge ve ark., 2020).

AR'nin etkinleşmesi, erkeklik hormonları olarak adlandırılan androjenler (testosteron ve dihidrotestosteron [DHT]) aracılığıyla gerçekleşir. Bu hormonlar, kan akışı ile hücrelere taşınır ve hücre içine nüfuz eder. Hormonlar AR ile etkileşime girdiğinde, AR proteininde bir yapı değişikliği oluşur. Bu durum, reseptörün aktif hale gelmesini ve nükleer yerleşim sinyalinin ortaya çıkmasını sağlar. Aktif hale gelen AR, ısı-şok proteinleri ile ilişkisini kaybeder, bu da AR'nin daha etkin bir şekilde çalışmasına imkan tanır. Aktif durumdaki AR, hücre sitoplazmasından çekirdek kısmına taşınır. Bu geçiş, nükleer por kompleksi aracılığıyla olur ve AR'nin DNA'ya ulaşımını mümkün kılar. Çekirdeğe giden AR, androjen yanıt elemanları (AYE'ler) adı verilen belirli DNA dizilerine bağlanır. Bu bağlanma işlemi genellikle reseptörün DNA bağlanma yüzeyi aracılığıyla gerçekleşir. DNA ile etkileşime girdikten sonra AR, çeşitli koaktivatörlerin çekilmesini sağlayarak gen ifadesini başlatır. Bu koaktivatörler, belirli genlerin transkripsiyonunun başlangıcını sağlamak için genel transkripsiyon faktörleri ve RNA polimeraz II ile bir araya gelir. Aktive edilen genler, hücrelerin büyümesi, farklılaşması

ve hayatta kalması gibi önemli süreçleri destekleyen proteinleri üretir. AR'ye çeşitli post-translasyonel değişiklikler (fosforilasyon, asetilasyon, sumoylasyon) uygulanabilir. Bu değişiklikler, AR'nin aktivitesini, stabilitesini ve hücre içindeki konumunu etkileyerek reseptörün işlevselliğini düzenler (Lamb ve ark., 2014; Ferraldeschi ve ark., 2015) (Şekil 2-5).



Şekil 2-5: Androjen Reseptörünün Ligand Bağlanması ve DNA Üzerinde Transkripsiyon Başlatılmasına Kadar Geçirdiği Aşamalar (Erzurumlu, 2021)

- **AR Gen Amplifikasyonu ve Mutasyonları:** Bazı prostat kanserlerinde AR geninin kopya sayısında artış (amplifikasyon) ya da fonksiyonel etkinliğini değiştiren mutasyonlar tespit edilebilir (Taylor ve ark., 2010). Bu varyasyonlar, AR'nin androjenlere karşı duyarlılığını artırarak daha düşük hormon seviyelerinde bile etkin kalmasını sağlayarak, kanser hücrelerinin sürekli olarak büyümesine yol açar (Eto ve ark., 2022).

- **AR Splice Varyantları:** AR'nin bazı splice varyantları, özellikle ligand bağlama alanı bulunmayan AR varyant 7 (ARv7), androjen bağlanmasına ihtiyaç duymadan AR'nin işlevini devam ettirebilir. Bu durum, tedaviye dirençli hücre

gruplarının ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Bu varyantlar, KDPK gelişiminde önemli rol oynamaktadır (Antonarakis ve ark., 2014).

• **AR Yolağı ve Diğer Sinyal Yollarıyla Etkileşim:** AR, başka sinyal yollarıyla da etkileşimde bulunabilir. Örneğin, PI3K/Akt yolu ile olan etkileşim, AR sinyal iletiminin düzenlenmesine ve kanser hücrelerinin ADT'ye karşı direnç kazanmasına yardımcı olabilir (Carver ve ark., 2011; Kao ve ark., 2025). Bu yolların aynı anda etkinleşmesi, PKa hücrelerinin gelişimini ve varlığını sürdürebilmesini sağlar (Taylor ve ark., 2010).

Alternatif AR Sinyal Yolakları

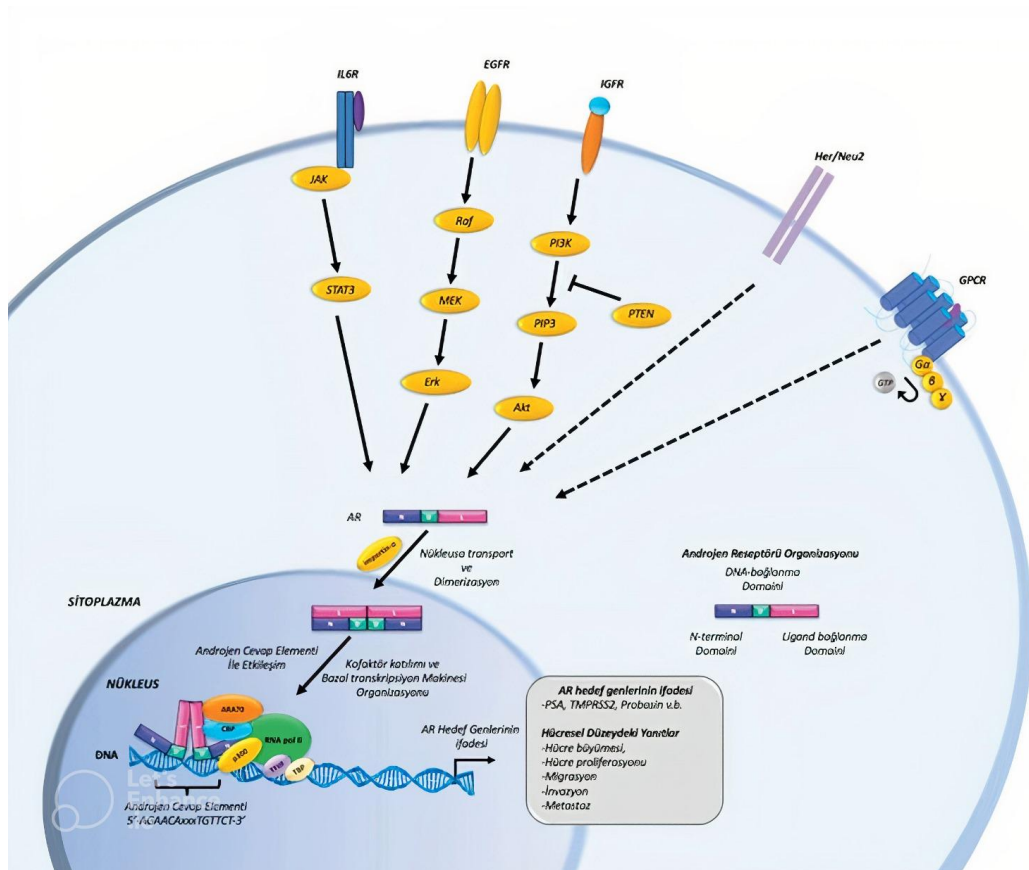
Alternatif AR sinyal yolları, geleneksel AR yolunun dışında, interlökinler, büyüme faktörleri ve kinaz proteinleri aracılığıyla düzenlenen "genomik olmayan" AR sinyal iletimini kapsar (Heinlein ve Chang, 2004; Andreia ve ark., 2011) (Şekil 2-6).

a) İnterlökinler: İnterlökin-6 (IL-6), IL-6 reseptörüne bağlanarak JAK-STAT, MAPK ve PI3K gibi sinyal yollarını devreye sokar (Heinrich ve ark., 2003; Andreia ve ark., 2011). Androjen mevcutken IL-6, PSA ifadesini azaltır; bu hormon bulunmadığında ise uzun süreli uyarım AR ve PSA'nın aktivasyonuna neden olur. İnterlökin-8 (IL-8) ise tümör büyümesine katkıda bulunurken, ifadesinin baskılanması apoptozu artırır ve kemoterapiye yanıtları güçlendirir (Erzurumlu, 2021).

b) Büyüme Faktörleri: Büyüme faktörleri ve tirozin kinaz reseptörleri, PKa'nın gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynar. IGF-1, KGF, HER-2/Neu ve EGF gibi faktörler, AR'yi androjen hormonu olmadan aktive edebilir (Bennett ve ark., 2010; Carouge ve ark., 2024). EGF/EGFR ise KDPK'nin oluşumu ve yayılması ile ilişkili bulunmuştur. MAPK yolağı ve Src gibi kinazlar da AR'yi etkiler (Di Lorenzo ve ark., 2022). IGF-1, AYE içeren promotörleri teşvik ederek androjen benzeri tepkileri tetikler (Culig ve ark., 1994). Transforme edici büyüme faktör beta (TGF- β), normal dokularda epitel hücre büyümesini azaltır. Smad3, AR aktivitesini artırırken; Smad4 bunun tersine olumsuz bir düzenleme yapar (Heinlein ve Chang, 2004).

c) Hücre içi Kinaz Sinyali: Kinaz yolakları, hücre içindeki etkileşimleri düzenleyerek PKa oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. AR, HER-2/neu, GPCR ve PI3K gibi yollarla etkileşim halindedir. AR'nin Ser80, Ser213 ve Tyr534 bölgelerinde gerçekleşen fosforilasyon, düşük androjen seviyelerinde bile işlevini

korumasını sağlar (Bennett ve ark., 2010). Bunun yanı sıra, MAPK, ERK1/2 ve Src yolları da AR'nin aktif kalmasına katkıda bulunur (Erzurumlu, 2021). Nf- κ B, KDPK ve metastatik kanserlerde artarak AR gen ifadesini ve hedef genlerin ifadesini artırır (Nadiminty ve ark., 2013).



Şekil 2-6: Androjen Reseptörüne Yönelik Farklı Hücresel Sinyal Yollarının Etkileşimleri
(Erzurumlu, 2021)

Genetik Değişiklikler

PKa'daki genetik değişiklikler, farklı sinyal yollarını etkileyerek hücrelerin büyüme ve hayatta kalma süreçlerini etkileyebilir. Bu değişikliklerin önemi, belirli genler ve genetik mekanizmaların incelenmesiyle daha iyi ortaya çıkmaktadır. Genetik değişimler, PKa'nın hem karsinogenez hem de progresyon döneminde önemli bir rol oynamaktadır. Karsinogenez sürecinde tümör baskılayıcı genlerin devre dışı kalması ve onkogenlerin aktif hale gelmesi önemli unsurlar arasındadır. Ancak, PKa vakalarının büyük bir kısmı sporadik olup, yalnızca çok az bir bölümü kalıtsal mutasyonlarla ilişkili olan ailesel geçişlerden kaynaklanmaktadır (Attard ve ark., 2016; Rafikova ve ark., 2023).

- **Genetik Belirteçler ve Yatkınlık:** PKa, hem güçlü hem de zayıf etkili genetik varyasyonlarla bağlantılı bir hastalıktır. Nadir görülen ancak yüksek risk taşıyan mutasyonlar ile yaygın görülen düşük riskli genetik farklılıklar prostat karsinogenez sürecini etkileyebilir (Attard ve ark., 2016). *BRCA1* ve *BRCA2* genlerindeki patojenik mutasyonlar hem PKa olasılığını belirgin şekilde yükseltir hem de tedaviye dirençli hastalık ve kötü prognoz ile ilişkilidir (Castro ve ark., 2013; Momozawa ve ark., 2022). Özellikle kalıtsal *BRCA2* mutasyonları, PKa riskini yükseltirken ve daha yüksek Gleason skoruyla da ilişkilidir (Attard ve ark., 2016). Ayrıca *HOXB13* gibi genetik yatkınlık oluşturan genler ile DNA onarımında görev alan genlerde (*ATM*, *CHEK2*, *PALB2*, *RAD51D*, *BRIP1*, *NBS1*) görülen varyasyonlar genomun istikrarının sağlanması ve homolog rekombinasyon gibi önemli tamir mekanizmaları üzerinde olumsuz etki gösterir (Bardis ve ark., 2020). Çoklu genetik lokusların bir arada etkili olduğu, dominant, resesif ve X'e bağlı kalıtım türleriyle tanımlanan genetik yatkınlık, PKa'nın gelişiminde önemli bir unsurdur (Attard ve ark., 2016).
- **Somatik Değişiklikler:** Prostat kanserleri genetik açıdan heterojendir ve bu heterojenitenin büyük bir bölümü somatik mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Bu mutasyonlar, PKa'nın erken evrelerinde sıkça görülür ve hastalığın klinik seyrini etkileyebilir (Gerhauser ve ark., 2018; Rafikova ve ark., 2023). Genomik Geniş Çaplı İlişkilendirme Araştırmaları (GWAS), PKa'nın genetik yapısını anlamada kritik bir işlev üstlenmektedir. Bu araştırmalar, hastalığın risk

faktörleriyle ilgili pek çok tek nükleotid polimorfizmini (SNP) belirlemiş ve bu SNP'lerin gen düzenleme alanlarında yoğunlaştığını ortaya koymuştur (Eeles ve ark., 2013; Tian ve ark., 2021). PKa ile genellikle bağlantılı olan genetik değişiklikler, *TP53*, *PTEN*, *SPOP*, *NKX3-1*, *MAP3K7* genlerindeki mutasyonlar ve *TMPRSS2-ETS* gen füzyonlarını kapsar. Bu değişiklikler, tümörün özelliklerini etkileyerek karsinogeneze yardımcı olabilir (Gerhauser ve ark., 2018; Rafikova ve ark., 2023) (Tablo 2-1).



Tablo 2-1: Somatik PKa’da Kritik Onkogenler ve Tümör Baskılayıcı Genlerin Listesi (Ertunç ve Tuna, 2022)

Gen	Kromozom/Lokus	Fonksiyonu	Tür
<i>PCA3 (DD3)</i>	9q21–22	Bilinmeyen işlevli ncRNA	Onkogen
<i>EZH2</i>	7q35	Histon modifikasyonu ile gen susturma	Onkogen
<i>NKX3-1 (NKX3.1)</i>	8p21	Homeobox geni, epitelyal büyüme ve diferansiyasyonu kontrol eder	Tümör Baskılayıcı
<i>PTEN</i>	10q23	Dual spesifik protein/3-lipid fosfataz	Tümör Baskılayıcı
<i>CDKN1B (p27)</i>	12p11–13	Sikline bağımlı kinaz inhibitörü	Tümör Baskılayıcı
<i>KLF6</i>	10p15	Zn parmak transkripsiyon faktörü	Tümör Baskılayıcı
<i>ERG/ETV1 (ETS family TMPRSS2-ERG)</i>	21q22.3/7p21.2	Androjene duyarlı füzyon proteini	Füzyon onkogen
<i>RB1 (RB)</i>	13q14–1–14–2	Hücre bölünmesini durdurur	Tümör Baskılayıcı
<i>TP53 (p53)</i>	17p13	Hücre döngüsü kontrolü	Tümör Baskılayıcı
<i>CSMD1</i>	8p23 kaybı	CUB ve Sushi multipl domainleri 1	Tümör Baskılayıcı
<i>MAP4K2</i>	11q13.1 kazanımı	Mitojen aktive protein kinaz 2	Onkogen
<i>MEN1</i>	11q13.1 kazanımı	Multipl endokrin neoplazi	Onkogen
<i>SF1</i>	11q13.1 kazanımı	Splicing faktör 1	Onkogen
<i>PPP2R5B</i>	11q13.1 kazanımı	Protein fosfataz 2, düzenleyici unit B form	Onkogen
<i>NAALADASEL</i>	11q13.1 kazanımı	N-asetilmmş-c bağıl asidik dipeptidaz benzeri	Onkogen
<i>EHD1</i>	11q13.1 kazanımı	EH-domain içeren 1	Onkogen
<i>MYC (c-myc, n-myc)</i>	8q24.21 kazanımı	Hücre proliferasyonunda regülatör gen, transkripsiyon faktörü	Proto-Onkogen

Epigenetik Değişiklikler

DNA Metilasyonu

DNA metilasyonu, özellikle CpG adalarının metil grubuyla modifiye edilmesi ve sitozin bazlarına metil gruplarının eklenmesi süreçlerini içerir. Bu mekanizma,

genlerin ifade edilmesini kontrol ederek genellikle ifade düzeylerinin azalmasına yol açar (Jones ve Baylin, 2007; Noë ve ark., 2024). PKa'da, tümör baskılayıcı genlerin promotor bölgelerindeki hipermetilasyon, bu genlerin işlevini kaybetmesine ve kanser hücrelerinin denetimsiz artışına neden olur (Laird, 2003; Peng ve ark., 2023). DNMT1 gibi DNA metiltransferazlar, bu aşamada önemli bir görev üstlenir ve kanser gelişimini destekleyebilir (Yegnasubramanian ve ark., 2004). *GSTP1*, *RASSF1* ve *APC* genlerinde meydana gelen hipermetilasyon, PKa'da karsinogenez ile sıkı bir bağ taşımaktadır (Yegnasubramanian ve ark., 2004; Jerónimo ve ark., 2011).

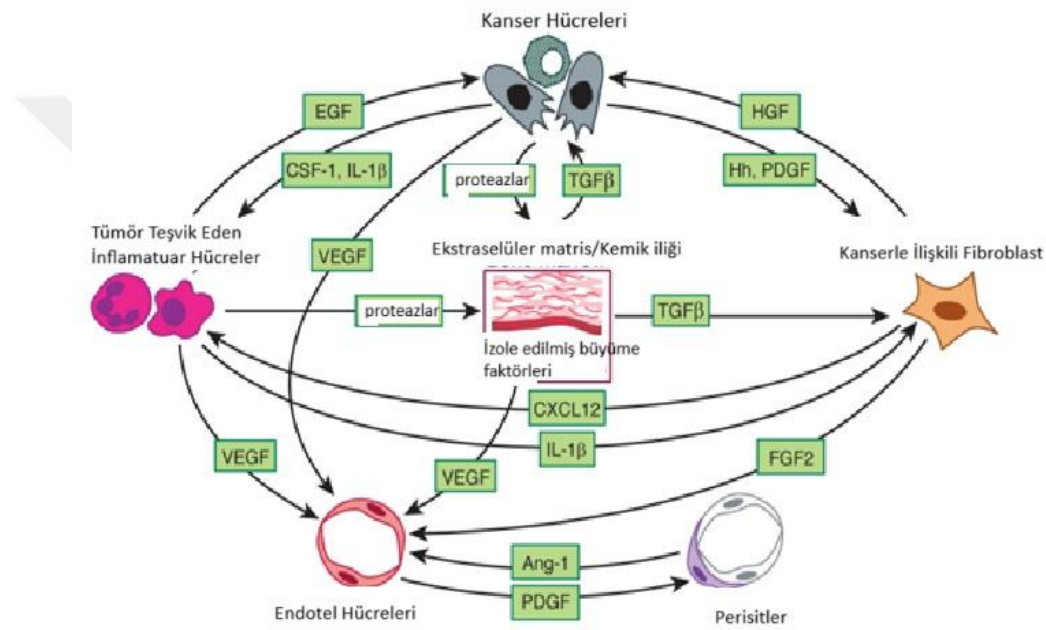
GSTP1, PKa'da en fazla metilasyona uğrayan genlerden birisidir. *GSTP1*'in hipermetilasyon seviyesi, genin ifadesinin kısıtlanmasına ve hücrelerdeki antioksidan savunmanın azalmasına sebep olur. *RASSF1* geninin promotor bölgesindeki hipermetilasyon, bu genin ekspresyonunu engelleyerek hücre döngüsünün düzenleyici yollarını bozabilir ve bu da kontrolsüz hücre bölünmesine yol açar. *APC* geninin metilasyonu ise Wnt sinyal yolunu etkileyerek, hücre gelişimini ve tümör oluşumunu destekleyebilir. DNA metilasyon profilleri, PKa'nın erken teşhisi ve hastalığın progresyonunun değerlendirilmesi açısından potansiyel biyobelirteç adaylarıdır (Wu ve ark., 2015; Ge ve ark., 2020).

Histon Modifikasyonları

Epigenetik süreçlerin temelini oluşturan histon modifikasyonları, kromatin yapısını ve genlere ulaşılabilirliği değiştirerek gen ifadesinin düzenlenmesinde önemli bir rol üstlenir (Bannister ve Kouzarides, 2011). Histon asetilasyonu ve deasetilasyonu gibi işlemler, genlerin aktif ya da pasif olma durumlarını kontrol ederken, histon metilasyonu gibi epigenetik değişiklikler, genlerin açılıp kapanma mekanizması üzerinden etki eder. Bu değişikliklerin yanı sıra, histon fosforilasyonu ve ubiquitinlenme de DNA hasarı yanıtı ve proteinlerin stabilitesi gibi hücresel olayları düzenleyerek kanser hücrelerinin davranışlarını etkileyebilir (Sugiura ve ark., 2021). PKa'da, bu değişikliklerin her biri hastalığın ilerlemesi ve tedaviye verilen yanıtlar açısından önem taşımaktadır. Bu değişiklikler, özellikle androjen reseptörü gibi önemli sinyal yollarının düzenlenmesi üzerinde etkili olabilir ve tedaviye karşı direnç gösteren kanser türlerinin ortaya çıkmasına katkıda bulunabilirler (Wu ve ark., 2015; Ge ve ark., 2020; Sugiura ve ark., 2021).

2.1.4.3. Tümör Mikroçevresi

TMÇ, PKa'nın gelişim ve ilerlemesine yardımcı olan çeşitli hücre türlerini barındırır. Bu hücreler arasında makrofajlar, tümöre göç eden T hücreleri, mezenkimal kök hücreler, miyeloid kökenli baskılayıcı hücreler (MDSC'ler) ve kanserle ilişkili fibroblastlar yer alır. Bu hücreler, tümör hücreleriyle etkileşim kurarak kanserin büyümesine, metastazına ve tedaviye karşı direnç gelişimine katkı sağlar. (Nair ve ark., 2020; Kang ve ark., 2022) (Şekil 2-7).



Şekil 2-7: Tümör Hücreleri ile Çevrelerindeki Destekleyici Hücre ve Faktörler Arasındaki Etkileşimlerin Şematik Gösterimi (Hanahan ve Weinberg, 2011)

Ekstraselüler Matriks

Hücre dışı matriks (HDM), prostat tümörü çevresinin kritik bir ögesidir ve PKa'nın gelişiminde önemli bir etkiye sahiptir. HDM'nin yapısı ve yeniden şekillenmesi, kanser hücrelerinin hareketlerini önemli ölçüde etkiler; bu değişiklikler tümörün ilerlemesini engelleyebilir ya da destekleyebilir (Stewart ve ark., 2004; Caley ve ark., 2016).

Kolajen ve laminin gibi HDM'nin temel unsurları, kanser hücrelerinin hareketini ve yayılmasını teşvik ederek PKa'nın gelişimine yardımcı olur (Graf ve ark., 2021).

Bunun yanında matrix metalloproteinazlar (MMP'ler) ve katepsinler gibi proteazların fazla üretilmesi, HDM'yi bozarak hücrelerin yayılmasını kolaylaştırır (Chay ve ark., 2002). İntegrinlerin ($\alpha\beta4$) değişiklik gösteren ifade düzeyleri, metastatik kapasiteyi yükseltir (Cong ve ark., 2024). E-kadherin kaybı ve N-kadherin artışı da hücre göçünü destekler (Bussemakers ve ark., 2000; Lee ve ark., 2024). PKa'nın ortaya çıkmasında büyüme faktörleri ile sitokinlerin etkisi oldukça fazladır. TGF- β , ekstrasellüler matriksin yıkımını ve hücrelerin hareketini teşvik ederken; kemik mikroçevresinde fibroblast büyüme faktörü (FGF), PKa hücrelerinin kemikteki metastazını destekler (Festuccia ve ark., 1999; Stewart ve ark., 2004; Mohammad ve Akhund, 2024).

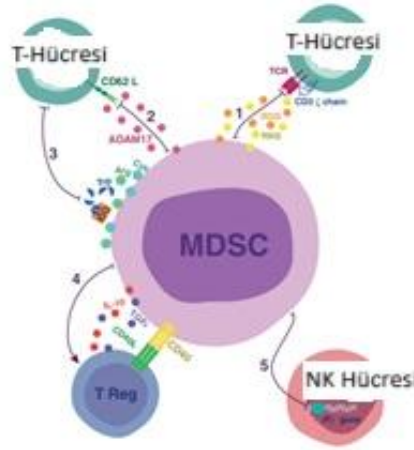
Fibroblastlar

Fibroblastlar, TMÇ'de önemli bir işlev üstlenerek PKa'nın ilerlemesine yardımcı olur. Kansere bağlantılı fibroblastlar (KBF), PKa çevresinde tümör gelişimi, kan damarlarının oluşumu, bağışıklık sisteminin baskılanması, metastaz ve tedaviye direnç konularında etki gösterir (Kalluri, 2016). KBF'ler, çeşitli hücre türlerinden meydana gelebilir. Bölgesel fibroblastlar, mezenkimal hücreler veya kemik iliğinden kaynaklanan hücrelerden oluşabilirler; ayrıca epitel veya endotel hücrelerinin mezenkimal dönüşümü ile de ortaya çıkabilirler (Quail ve Joyce, 2013). TGF- β , Hedgehog, Notch ve PI3K/AKT sinyal yolları KBF oluşumunu destekler (Owen ve ark., 2022).

KBF'ler, kolajen, fibronektin ve laminin gibi ekstrasellüler matriks bileşenlerini üreterek matriksi yeniden şekillendirir, bu da tümörlerin yayılmasını kolaylaştırır. Ürettikleri sitokinler ve kemokinler aracılığıyla bağışıklık sistemini zayıflatır, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi faktörlerle kan damarlarının oluşumunu destekler ve metastaz için uygun bir ortam oluşturur (Özdemir ve ark., 2014; Kalluri, 2016; Owen ve ark., 2022).

Bağışıklık Hücreleri

PKa'nın gelişiminde, tümör çevresindeki bağışıklık hücreleri bağışıklık tepkisini engelleyerek tümör oluşumunu teşvik eder (Gajewski ve ark., 2013). Makrofajlar ve düzenleyici T hücreleri, tümörle savaşan etkili bağışıklık yanıtlarını zayıflatır (Sharma ve ark., 2017). Ayrıca MDSC'ler, olgunlaşmamış miyeloid hücrelerden oluşarak bağışıklık sistemini kısıtlar ve tümörlerin büyümesini destekler (Kumar ve ark., 2016) (Şekil 2-8).



Şekil 2-8: MDSC'nin Baskılayıcı Rolü (Sanaei ve ark., 2020)

(1) T hücre reseptörü (TCR) ile etkileşim yoluyla T hücre aktivitesinin baskılanması, (2) T hücrelerinin göçü ve yuvalanmasının engellenmesi, (3) kritik amino asitlerin tüketilmesi, (4) düzenleyici T hücrelerinin oluşumunun uyarılması ve (5) doğal öldürücü (NK) hücre aktivitesinin inhibe edilmesi (Sanaei ve ark., 2020).

PKa'da bulunan MDSC'ler, miyeloid kök hücrelerden gelişir ve polimorfonükleer (PMN-MDSC) ve monositik (M-MDSC) olmak üzere iki ana gruba ayrılır (Gabrilovich ve Nagaraj, 2009; Kobayashi ve ark., 2024). Özellikle PMN-MDSC'ler PKa'da baskındır ve çeşitli belirteç ve fonksiyonlara sahiptir. MDSC'ler, reaktif oksijen ve azot bileşenleri (ROS ve RNS) üreterek T hücrelerinin aktivitesini engeller, CCL2 düzeylerini değiştirerek T hücrelerinin hareketini kısıtlar ve NK hücrelerini baskılar (Veglia ve ark., 2018; Sanaei ve ark., 2020).

IL-6 ve IL-1 β gibi sitokinler, JAK/STAT3 yolunu etkinleştirerek MDSC'lerin bağışıklık inhibe edici etkilerini güçlendirir. CCL2 ve CCL22 kemokinleri, MDSC'leri tümör bölgesine çekerken; CXCL9 ve CXCL10 kemokinlerinin azalması, sitotoksik T hücrelerinin tepkilerini zayıflatır (Gabrilovich ve Nagaraj, 2009; Sanaei ve ark., 2020).

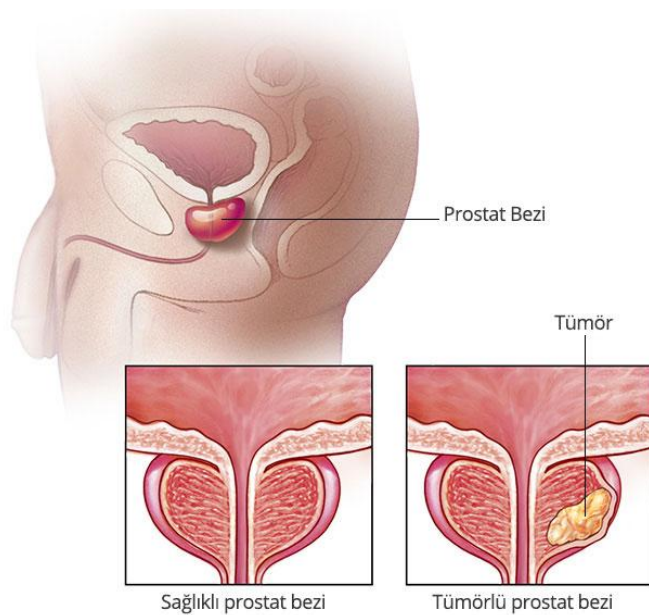
Endotel Hücreleri

Endotel hücreleri, tümör hücrelerine oksijen ve besin maddesi temin eder; bu durum anjiyogenez yoluyla gerçekleşir. Ayrıca metastaz ve ilaç direncinin artışına katkı sağlar (Hanahan ve Weinberg, 2011; Ji ve ark., 2023).

Tümör hücreleri tarafından salınan VEGF ve CCL5 gibi faktörler, endotel hücrelerinin çoğalmasını teşvik eder ve endotel hücrelerindeki AR ifadesini azaltarak metastatik riskin artmasına yol açar (Ji ve ark., 2023). *FOXA1* geninin varlığı, endotel büyüme faktörlerinin ifadesini teşvik ederek anjiyogeneze katkıda bulunur. Purinergik P2Y2 reseptörü uyarıldığında, ICAM-1 ve VCAM-1'in serbest kalmasını artırarak, tümör hücrelerinin endotel tabakasına tutunmalarını kolaylaştırır (Cardoso ve ark., 2022). Ayrıca, endotel hücreleri tarafından salınan FGF2, mTOR yolunu harekete geçirerek kemoterapiye karşı direnci artırır. Yüksek seviyelerde bulunan ATP taşıyıcıları, ilaçların hücre dışına atılmasına yol açar (Hida ve ark., 2017; Zhou ve ark., 2020).

2.1.5. PKa'da Evreleme ve Prognoz

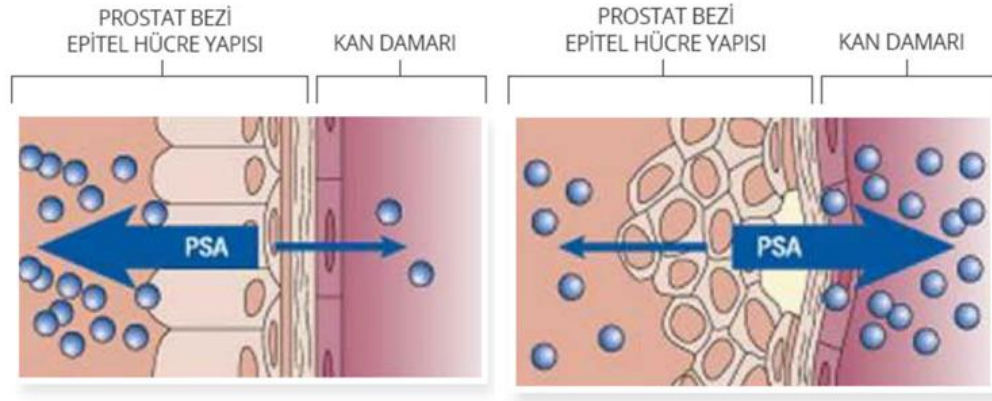
Evreleme ve prognoz değerlendirmesi, hastalığın yönetimi ve tedavi planlamasında önemlidir (Shariat ve ark., 2008; Bray ve ark., 2018). Kanserin evresi, tedavi yöntemlerini ve sağkalımı belirleyen temel unsurlardan biridir. (Türkoğlu ve ark., 2014). Görselde, sağlıklı bir prostat bezi ile tümörlü bir prostat bezinin yapısal farklılıkları gösterilmiştir; bu farklılıklar, hastalığın tanı ve evreleme süreçlerinde önemli bir rol oynar (Şekil 2-9).



Şekil 2-9: Sağlıklı ve Tümörlü Prostatın Yan Görünüm Anatomik Karşılaştırması (Önal, n.d.)

PSA ve PKa

PKa'nın tarama, tanı ve tedavisi için önemli bir biyolojik gösterge olan PSA, prostat hücreleri tarafından üretilen bir glikoproteindir. PSA, genelde meni içerisinde yer alır; ancak kan dolaşımında da bulunabilir (Matshela ve ark., 2014). Sağlıklı bir prostat dokusunda, epitel hücreleri birbirine sıkı bir şekilde bağlıdır. Bu yapı, prostatta üretilen PSA moleküllerinin kan damarlarına geçişini önemli ölçüde kısıtlar. Bu nedenle, normal şartlar altında kandaki PSA seviyesi düşük kalır ve belirgin bir artış göstermez. PKa oluştuğunda, prostat bezindeki epitel hücre yapısı bozulur. Bu hasar, PSA moleküllerinin bozulan bariyerden kan damarlarına sızmasına olanak tanır ve böylece kandaki PSA seviyeleri yükselir (Atuğ, 2018) (Şekil 2-10). Bu durum, kanser, benign prostat hiperplazisi (BPH) veya inflamasyon gibi durumlarla ilişkilendirilir (Adhyam ve Gupta, 2012; Sekhoacha ve ark., 2022).



Şekil 2-10: Sağlıklı ve Patolojik PSA Salınım Süreçlerinin Karşılaştırmalı Görünümü (Atuğ, 2018)

PSA testi, PKa'nın erken teşhisi için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir, ancak sadece PSA seviyelerine bakarak kesin bir tanı koymak mümkün değildir. Bununla birlikte, PSA sadece prostat bezine aittir ama PKa'ye özgü değildir; bu nedenle yüksek PSA değerleri, PKa'nın yanı sıra BPH veya prostat iltihabı gibi zararsız durumları da gösterebilir. PKa olmayan bireylerde de yüksek PSA seviyelerine rastlanabilir. Bu durum gereksiz biyopsilere yol açabilir (Gjertson ve Albertsen, 2011; Adhyam ve Gupta, 2012).

PKa evrelemesi, PSA seviyeleri ile sıkı bir bağlantı içindedir. Çeşitli çalışmalar, PSA'nın artışı ve ileri evre kanser ilişkisini ortaya koymaktadır. Ancak PSA seviyesi tek başına patolojik evrelemenin belirlenmesinde yeterli değildir. PSA düzeylerinin klinik evre ve Gleason skoru ile birlikte değerlendirilmesi, patolojik evre tahminlerinin doğruluğunu artırmaktadır (Ruckle ve ark., 1994; Altwaijry ve ark., 2018).

PSA seviyeleri, radikal prostatektomi veya radyoterapi sonrasında hastalığın tekrar etme durumunu takip etmek için önemli bir göstergedir. Cerrahiden sonra PSA'nın neredeyse sıfıra düşmesi beklenirken, sıfırdan yüksek bir PSA değeri, kalan prostat dokusunun mevcut olabileceğini gösterir. Tedavi sonrası PSA seviyelerindeki artış, hastalığın ilerlediğine işaret edebilir. Diğer yandan, androjen baskılama tedavisi sonrasında PSA düzeylerinin azalması genellikle daha iyi bir prognoz ile ilişkilidir (Ruckle ve ark., 1994; Tanegashima ve ark., 2024).

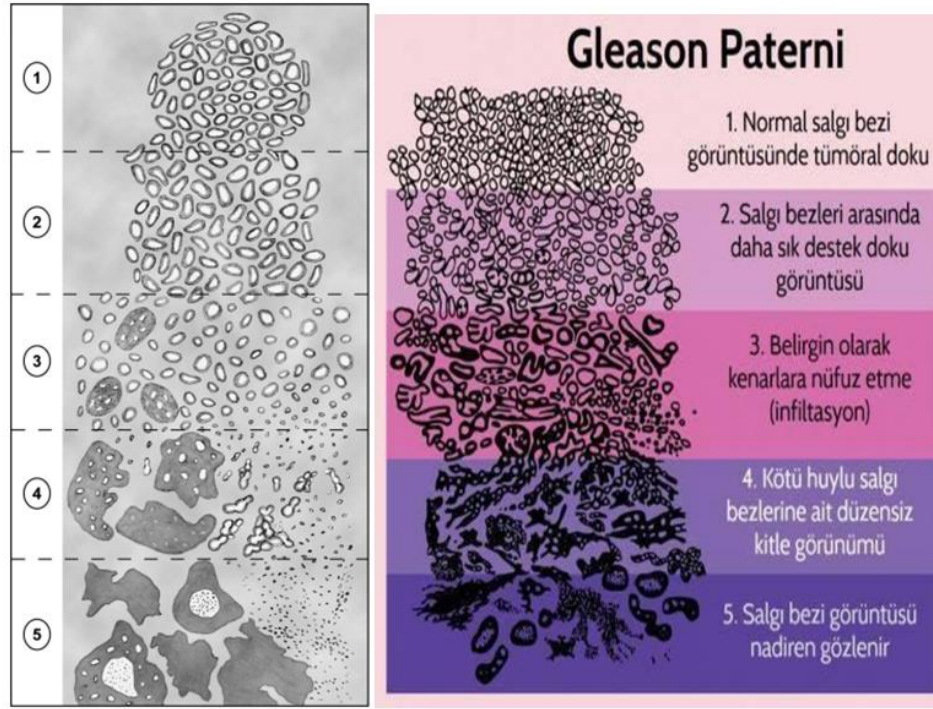
PSA'nın tanıdaki hassasiyet ve özgüllüğünü artırmak için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler arasında PSA yoğunluğu (serum PSA seviyesinin prostat hacmine oranı), serbest PSA yüzdesi ve PSA hızı gibi kriterler bulunmaktadır. Serbest PSA oranı %15'in altında olan kişilerde PKa riski artarken, %25'in üzerinde bir değer bu riski önemli ölçüde düşürmektedir. Ayrıca, PSA seviyeleri yaşla birlikte arttığından, yaşa özel PSA referans aralıkları kullanılarak ileri yaştaki erkeklerde gereksiz biyopsilerin azaltılması, genç erkeklerde ise PKa tanısında duyarlılığın artırılması sağlanmaktadır (Catalona ve ark., 1998; Gjertson ve Albertsen, 2011).

Gleason Skoru

Gleason skoru, PKa histopatolojisi açısından önemli bir tahmin aracıdır. 1966 yılında Donald F. Gleason tarafından oluşturulan bu sistem, tümörün yapısına dayalı bir sınıflama yöntemi olarak geliştirilmiştir. Gleason'un yenilikçi yöntemi, en yaygın iki histolojik şeklin toplamını bir skor olarak sunarak, kanserin derecelendirilmesine önemli bir katkı sağlamıştır (Epstein ve ark., 2005) (Şekil 2-11).

Gleason skoru, PKa hücrelerinin normal hücrelerden ne ölçüde farklılık gösterdiğini ve kanserin ne hızla büyüüp yayıldığını değerlendiren bir tekniktir. Prostat biyopsisinde elde edilen doku, bir patolog tarafından mikroskop altında incelenerek 1'den 5'e kadar bir puanlama sistemiyle değerlendirilir. Tümör dokusunda en belirgin iki patern belirlenir ve bu paternlerin toplamı Gleason skorunu meydana getirir. Skor, 2 ile

10 arasında değişiklik gösterir; düşük skora sahip kanserler yavaş ilerleyen türlerdir, yüksek skora sahip olanlar ise hızlı yayılan ve daha agresif olanlardır. Gleason skoru, en yaygın görülen patern ile ikinci en yaygın olanın puanlarının toplamıyla belirlenir. Eğer örnekte yalnızca iki patern mevcutsa, bu paternlerin puanları toplanarak Gleason skoru elde edilir. Sadece tek bir patern varsa, o paternin puanı ikiyle çarpılarak sonuca ulaşılır. Üç farklı paternin bulunduğu durumlarda ise, en yaygın patern ile en yüksek puanlı paternin puanları birleştirilir. Örneğin, birincil patern skoru 2, ikincil patern skoru 3 ve bazı hücreler 4. paternde ise, Gleason skoru $2+4=6$ olarak belirlenir. (*Gleason Skoru Nedir? Ne İşe Yarar?* - Prostat Biyopsisi, 2019; Özdoğan, 2021).



Şekil 2-11: PKa'ya Ait Gleason Derecelendirme Desenleri ve Özellikleri (Epstein ve ark., 2005; Özdoğan, 2021)

PKa'da Evreleme

Biyopsi ile PKa tespit edildiğinde, tümörün agresiflik düzeyini belirlemek ve başlangıç bölgesinde sınırlı kalıp (lokalize tümör) kalmadığını, uzak bölgelere yayılım gösterip göstermediğini saptamak için ek testler uygulanmalıdır. PKa genellikle TNM sistemi aracılığıyla evrelenmektedir. TNM sistemi, tümörün prostat içindeki boyutunu

ve prostat kapsülünü geçip geçmediğini, yani lokal yayılımı (T), bölgedeki lenf düğümlerinin etkilenip etkilenmediğini (N) ve tümörün uzaktaki organlara yayılıp yayılmadığını, yani metastazın varlığını (M) analiz eder (*PKa Nedir? Nedenleri, Belirtileri ve Tedavisi*, n.d.; Türk Tıbbi Onkoloji Derneği, n.d.) (Tablo 2-2). Buna ek olarak, Gleason skoru ile PSA seviyeleri, kanserin derecesi ve yayılma durumu hakkında daha kapsamlı bilgiler sunmak amacıyla bu yapıya eklenmiştir (Ruckle ve ark., 1994).

Tablo 2-2: PKa'nın TNM Kriterlerine Göre Evre ve Açıklamaları (*PKa Evreleri (TNM Evrelemesi)*, n.d.)

T= Primer tümör
T1a= Kanserın çıkarılan dokunun %5'inden daha azını etkilemiştir.
T1b= Kanserın çıkarılan dokunun %5 veya daha fazlasını etkilemiştir.
T1c= Kanser genellikle biyopsiyle, örneğin yüksek PSA seviyesine bağılı olarak tespit edilmiştir.
T2a= Kanser, prostat bezinin bir tarafının yalnızca yarısında bulunur.
T2b= Kanser, prostatın bir tarafının yarısından fazlasını etkiler, ancak diğerk tarafa geçmez.
T2c= Kanser, prostatın her iki tarafında da bulunur, ancak hala prostat bezinin içindedir.
T3a= Kanser, prostat kapsülünü kırmıştır.
T3b= Kanser, sperm taşıyan tüplere (seminal veziküller) yayılmıştır.
T4= Kanser, rektum, mesane veya pelvik duvar gibi yakındaki diğerk organlara yayılmıştır.
N= Bölgesel lenf düğümleri
N0= Yakındaki lenf düğümlerinde kanser hücrelerinin bulunmadığını ifade eder.
N1= Prostat çevresindeki lenf düğümlerinde kanser hücrelerinin varlığını gösterir.
M= Uzak metastaz
M0= Kanserın vücudun diğerk bölgelerine metastaz yapmadığını ifade eder.
M1a= Kanser hücrelerinin pelvis dışındaki lenf düğümlerinde bulunduğunu ifade eder.
M1b= Kanser hücrelerinin kemiklere yayıldığını gösterir.
M1c= Kanser hücrelerinin vücudun diğerk organlarına veya bölgelerine metastaz yaptığını belirtir.

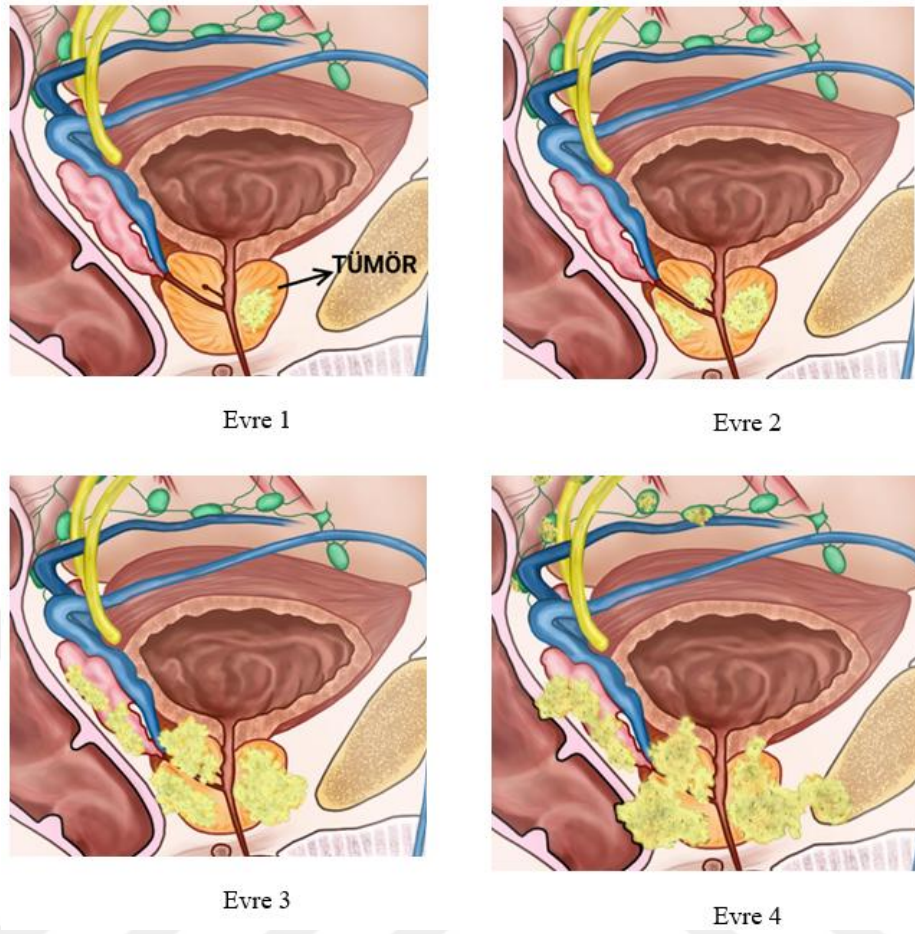
PKa, I ile IV arasında ana evrelere ayrılır ve bazı evreler alt gruplara (örneğin, A, B) bölünür. Daha düşük evre numaraları, kanserin daha az dağıldığını gösterir (Türk Tıbbi Onkoloji Derneği, n.d.).

PKa evreleme sistemi, bu hastalığın ne kadar yayıldığını tespit etmek açısından oldukça önemlidir. PKa'nın evreleri anatomik olarak Şekil 2-12'de gösterilmektedir, Tablo 2-3 ise her bir evre için kapsamlı klinik tanımlar sunmaktadır.



Tablo 2-3: PKa için Evre Gruplarının Sınıflandırılması ve Tanımları (Türk Tıbbi Onkoloji Derneği, n.d.)

Evre	Evre Grubu	Evre Tanımlaması
I	cT1, N0, M0 Grade Grup 1 Gleason skoru ≤ 6 PSA < 10	Prostat kanserinin erken evresinde, tümör genellikle küçüktür ve prostatla sınırlıdır. Tümör, dijital rektal muayene (DRE) veya transrektal ultrason gibi bir görüntüleme testi sırasında tespit edilemeyecek kadar küçük olabilir ve genellikle prostatın sadece bir tarafında yer alır. Prostatın rezeksiyonu sırasında veya yüksek PSA değeri nedeniyle yapılan iğne biyopsisi ile tespit edilebilir (cT1). Gleason skoru ve PSA seviyeleri düşüktür, lenf nodlarına [N0] ya da diğer organlara yayılım görülmez [M0].
	cT2a, N0, M0 Grade Grup 1 Gleason skoru ≤ 6 PSA < 10	Tümör, dijital rektal muayene veya transrektal ultrason ile tespit edilir ve prostatın yalnızca bir tarafının (sol/sağ) yarısını ya da daha azını etkiler (cT2a). Gleason skoru ve PSA seviyeleri düşüktür, lenf nodlarına [N0] ya da diğer organlara yayılım görülmez [M0].
	pT2, N0, M0 Grade Grup 1 Gleason skoru ≤ 6 PSA < 10	Prostat cerrahi olarak çıkarılmış olup, tümörün prostatla sınırlı olduğu belirlenmiştir [pT2]. Gleason skoru ve PSA seviyeleri düşüktür, lenf nodlarına [N0] ya da diğer organlara yayılım görülmez [M0].
IIA	cT1, N0, M0 Grade Grup 1 Gleason skoru ≤ 6 $10 \leq \text{PSA} < 20$	Prostat kanserinin erken evresinde, tümör genellikle küçüktür ve prostatla sınırlıdır. Tümör, dijital rektal muayene (DRE) veya transrektal ultrason gibi bir görüntüleme testi sırasında tespit edilemeyecek kadar küçük olabilir ve genellikle prostatın sadece bir tarafında yer alır. Prostatın rezeksiyonu sırasında veya yüksek PSA değeri nedeniyle yapılan iğne biyopsisi ile tespit edilebilir (cT1). Lenf nodlarına [N0] ya da diğer organlara yayılım görülmez [M0]. PSA seviyesi en az 10 olup 20'nin altındadır.
	cT2a ya da pT2, N0, M0 Grade Grup 1 Gleason skoru ≤ 6 $10 \leq \text{PSA} < 20$	Tümör, dijital rektal muayene veya transrektal ultrason ile tespit edilir ve prostatın yalnızca bir tarafının (sol/sağ) yarısını ya da daha azını etkiler (cT2a). Prostat cerrahi olarak çıkarılmış olup, tümörün prostatla sınırlı olduğu belirlenmiştir [pT2]. Lenf nodlarına [N0] ya da diğer organlara yayılım görülmez [M0]. PSA seviyesi en az 10 olup 20'nin altındadır.
	cT2b ya da cT2c, N0, M0 Grade Grup 1 Gleason skoru ≤ 6 PSA < 20	Tümör, dijital rektal muayene veya transrektal ultrason ile tespit edilmiş olup, prostatın bir tarafının yarısından fazlasını (cT2b) ya da her iki tarafını (cT2c) etkilemektedir. Lenf nodlarına [N0] ya da diğer organlara yayılım görülmez [M0]. PSA seviyesi 20'nin altındadır.
IIB	T1 ya da T2, N0, M0 Grade Grup 2 Gleason skor $3+4=7$ PSA < 20	Kanser prostatın dışına yayılmamış olup, dijital rektal muayene ile tespit edilebilir veya transrektal ultrason ile görüntülenebilir (T1 veya T2). Lenf nodlarına [N0] ya da diğer organlara yayılım görülmez [M0]. PSA seviyesi 20'nin altındadır.
IIC	T1 ya da T2, N0, M0 Grade Grup 3 veya 4 Gleason skor $4+3=7$ veya 8 PSA < 20	Kanser prostatın dışına yayılmamış olup, dijital rektal muayene ile tespit edilebilir veya transrektal ultrason ile görüntülenebilir (T1 veya T2). Lenf nodlarına [N0] ya da diğer organlara yayılım görülmez [M0]. PSA seviyesi 20'nin altındadır.
IIIA	T1 veya T2, N0, M0 Grade Grup 1 veya 4 Gleason score ≤ 8 PSA ≥ 20	Kanser prostatın dışına yayılmamış olup, dijital rektal muayene ile tespit edilebilir veya transrektal ultrason ile görüntülenebilir (T1 veya T2). Lenf nodlarına [N0] ya da diğer organlara yayılım görülmez [M0]. PSA seviyesi 20 veya daha yüksektir.
IIIB	T3 ya da T4, N0, M0 Grade Grup 1 ile 4 arasında Gleason score ≤ 8 PSA herhangi bir değer	Tümör prostat kapsülünü aşarak çevre dokulara yayılmıştır. Kanser, meni üreten seminal vezikülleri (sperm kesesi), prostatın yakınında bulunan üretral sfinkter (idrarı kontrol etmeye yardımcı olan kas), rektum, mesane veya pelvis duvarı [T4] gibi diğer dokuları tutabilir. Ancak lenf nodlarına [N0] ya da diğer organlara yayılım görülmez [M0]. PSA seviyesi herhangi bir düzeyde olabilir.
IIIC	Herhangi bir T, N0, M0 Grade Grup 5 Gleason skor 9 ya da 10 Herhangi bir PSA	Kanser, prostat dışına ve çevredeki dokulara doğru yayılma gösterebilir (herhangi bir T evresi). Lenf nodlarına [N0] ya da diğer organlara yayılım görülmez [M0]. PSA seviyesi herhangi bir düzeyde olabilir.
IVA	Herhangi bir T, N1, M0 Herhangi bir Grade Grup Herhangi bir PSA	Kanser, prostat dışına ve çevredeki dokulara doğru yayılma gösterebilir (herhangi bir T evresi). Kanser, çevredeki lenf düğümlerine yayılmıştır (N1), ancak vücudun diğer bölgelerine metastaz yapmamıştır (M0). PSA seviyesi herhangi bir düzeyde olabilir.
IVB	Herhangi bir T, herhangi bir N, M1 Herhangi bir Grade Grup Herhangi bir PSA	Kanser, prostat dışına ve çevredeki dokulara doğru yayılma gösterebilir (herhangi bir T evresi). Kanser, yakındaki lenf düğümlerine (N) ve uzak lenf düğümleri, kemik, karaciğer veya diğer organlara metastaz yapmış olabilir (M1). PSA seviyesi herhangi bir düzeyde olabilir.



Şekil 2-12: PKa’da Klinik Evrelerin Temel Anatomik Yayılım Görünümleri (Özdoğan, 2021)

Risk Grupları

Kanserin yayılma durumunu belirlemek ve hastaya uygun bir tedavi planı oluşturmak amacıyla evreleme işlemi gerçekleştirilir. Risk grupları, T evresi, PSA seviyesi ve Gleason skoru esas alınarak tespit edilir. PKa risk sınıflandırması için, basit ve kolay uygulanabilir olması sebebiyle D’Amico sisteminin tercih edilmesi önerilir (Tablo 2-4). PKa’da orta ve yüksek risk grupları klinik açıdan büyük bir öneme sahiptir. Düşük riskli hastalar için görüntüleme testlerine genellikle ihtiyaç duyulmaz. Ancak, orta risk grubunda PSA <10 ng/ml veya birincil Gleason skoru 4 olduğunda kemik sintigrafisi, bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yapılması önerilir. Yüksek risk grubundaki hastalarda ise bu görüntüleme testlerinin uygulanması zorunludur (Başaran ve ark., 2014).

Tablo 2-4: PKa’da Düşük, Orta ve Yüksek Risk Kategorilerine Ait Klinik-Patolojik Kriterler
(Başaran ve ark., 2014)

	Düşük Risk	Orta risk	Yüksek risk	
Tamam	PSA<10 ng/ml ve Gleason skoru <7 ve cT1-2a	PSA 10-20 ng/ml veya Gleason skoru 7 veya cT2b	PSA >20 ng/ml veya Gleason skoru >7 veya cT2c	Tüm PSA düzeyleri Tüm Gleason skorları cT3-4 veya cN+
Lokalize				Lokal ileri

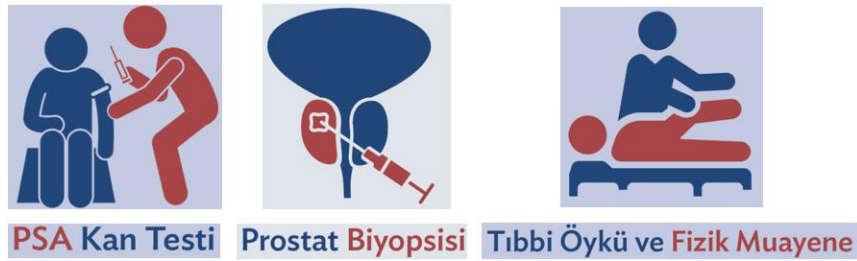
2.1.6. PKa’nın Teşhis Ve Tedavisi

Teşhis Yöntemleri

PKa genellikle PSA kan testi, dijital rektal muayene (DRM) ve prostat biyopsisi gibi invaziv ve invaziv olmayan yöntemlerle saptanır (Adamaki ve Zoumpourlis, 2021; Türk Tıbbi Onkoloji Derneği, n.d.). Erken evre prostat kanserleri genellikle belirti göstermezken, daha ileri aşamalarda meydana gelen belirtiler tanının hızlı bir şekilde konulmasına yardımcı olabilir (Türk Tıbbi Onkoloji Derneği, n.d.).

Eğer tarama testleri ya da belirtiler PKa’ye işaret ediyorsa, kesin teşhis için ilave testler gerçekleştirilmelidir. PKa’nın kesin teşhisi, yalnızca prostat biyopsisi ile mümkündür (Türk Tıbbi Onkoloji Derneği, n.d.).

PKa teşhisi için tıbbi geçmiş, fiziksel muayene, PSA testi ve biyopsi gibi yöntemler, hastalığın erken aşamada belirlenmesi ve doğru bir tanı konulabilmesi açısından önemli yöntemlerdir (Şekil 2-13).



Şekil 2-13: PKa’da Tanı Yöntemleri Şematik Gösterimi (Türk Tıbbi Onkoloji Derneği, n.d.)

Tıbbi Öykü Ve Fiziksel Muayene: PKa tanısındaki ilk aşama, hastanın tıbbi öyküsünün alınması ve fiziksel muayenedir. Ailesel PKa öyküsünü değerlendirerek risk faktörlerini inceler. PKa şüphesi varsa DRM yapılır. Gerekli durumlarda, daha detaylı

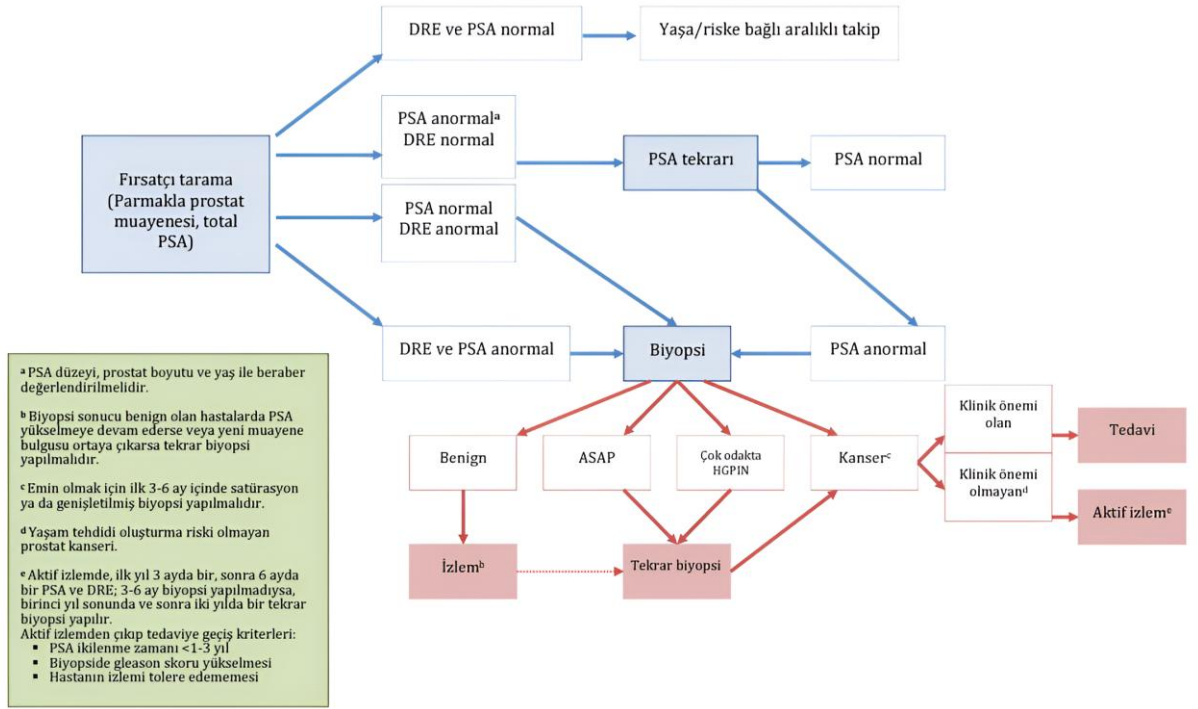
inceleme için BT ya da kemik taraması gibi ek görüntüleme yöntemleri önerilebilir (Türk Tıbbi Onkoloji Derneği, n.d.).

PSA Kan Testi: Prostat hücreleri tarafından üretilen bir protein olup, hem sağlıklı hem de kanserli hücrelerden elde edilir. Genellikle meni içinde yer alır, fakat kandaki seviyesinin ölçülmesi PKa tespiti için kullanılır. Kandaki PSA miktarı ng/mL olarak ölçülür ve bu seviye yükseldikçe kanser olasılığı da artar. Ancak, kesin bir sınır değeri mevcut değildir (Türk Tıbbi Onkoloji Derneği, n.d.). Çoğunlukla 4 ng/mL ve daha yüksek değerler için ek testler tavsiye edilirken, bazı uzmanlar 2.5–3 ng/mL gibi daha az seviyelerde de inceleme yapmaktadır (Babb ve ark., 2014; Türk Tıbbi Onkoloji Derneği, n.d.).

Prostat Biyopsisi: PSA testi, DRM veya diğer testlerden sonra gerekliyse prostat biyopsisi önerilir (Türk Tıbbi Onkoloji Derneği, n.d.). Bu işlem sırasında, prostat bezinden küçük doku örnekleri alınır (Suzuki ve ark., 2007). En yaygın yöntem çekirdek iğne biyopsisidir ve genelde bir ürolog tarafından uygulanır. Biyopsi, transrektal ultrason (TRUS), MRG veya bunların kombinasyonu eşliğinde gerçekleştirilir. Biyopsi sonuçları pozitif, negatif veya şüpheli olarak raporlanır. ((Litwin ve Tan, 2017, Türk Tıbbi Onkoloji Derneği, n.d.).

PKa'nın teşhis sürecine ilişkin aşamalar, Şekil 2-14'te sunulmuştur. Bu şema tarama yöntemlerinden biyopsi ve sonuçlarına kadar teşhis sürecini adım adım açıklamaktadır.

Yeni Nesil Tanı Araçları: PKa'nın erken teşhisini ve risk sınıflandırmasını iyileştirmek için son dönemde çeşitli yeni biyobelirteçler ve görüntüleme teknolojileri geliştirilmiştir. Multiparametrik manyetik rezonans görüntüleme (mpMRG) ve prostat-spesifik membran antijen pozitron emisyon tomografisi (PSMA-PET), prostat lezyonlarının daha doğru belirlenmesini sağlayarak biyopsi ihtiyacını önemli ölçüde azaltmıştır (Weinreb ve ark., 2016; Kasivisvanathan ve ark., 2018). Bununla birlikte, sıvı biyopsi teknikleri; dolaşımdaki tümör hücreleri, tümör DNA'sı (ctDNA) ve tümör kaynaklı küçük eksozomlar (sEV) üzerinde yapılan analizlerle kanserin erken tespiti ve seyrinin izlenmesi açısından umut vadeden alternatifler olarak öne çıkmaktadır (Chaffer ve Weinberg, 2011; Fitts ve ark., 2019).



Şekil 2-14: PKa'da Erken Tarama ve Tanı Süreçlerini Gösteren Akış Diyagramı (Başaran ve ark., 2014)

Tedavi Yöntemleri

Tedavi yöntemleri, hastanın yaşı, tümör evresi, hastalığın yayılımı ve tedavi sürecinin potansiyel yan etkileri gibi etkenlere göre seçilir. Yaşlı, ciddi sağlık sorunları olan ya da yavaş ilerleyen kanser durumlarında dikkatli izleme veya aktif gözetim tercih edilebilirken, genç ve sağlıklı bireyler tedaviye daha açık olabilir. Cerrahi müdahale, radyoterapi ve brakiterapi, erken evre hastalarda benzer başarı oranlarına sahiptir; ancak her birinin kendi riskleri ve avantajları bulunur. Son yıllarda robotik cerrahi ve proton ışını gibi yeni tedavi yaklaşımları kullanılmaya başlanmış ve bu sayede tedavi seçenekleri genişlemiştir. Fakat bu yeni tedaviler sadece bazı merkezlerde uygulanabilmektedir ve uzun vadeli etkileri henüz tamamen anlaşılamamıştır. Tedavi seçimi, hastanın özel ihtiyaç ve tercihleri doğrultusunda şekillendirilmelidir, çünkü her birey tedaviye farklı tepkiler verebilir (Türk Tıbbi Onkoloji Derneği -, n.d.).

Konservatif Tedavi

PKa için aktif takip ve gözlem, iki ana koruyucu yöntemdir. Aktif takip, düşük riskli PKa tanısı almış ve 10 yıldan fazla yaşam süresi bekleyen genç hastalarda tercih edilir. Bu yöntem, düzenli PSA testleri, prostat biyopsileri ve görüntüleme işlemleri ile kanserin gelişimini zamanında tespit etmeyi amaçlar. Gözlem yaklaşımı ise genellikle 10 yıldan daha kısa yaşam beklentisi olan hastalar için tercih edilir ve tedavinin yan etkilerini azaltmayı hedefler. Bu yöntemde, tedavi genellikle belirtiler belirdiğinde destekleyici bir biçimde gerçekleştirilir (Baran ve Burlükkara, 2020).

Radikal Prostatektomi

Prostat, seminal kesecikler ve çevresindeki dokuların cerrahi olarak alınması işlemidir. Bu işlem açık, laparoskopik ya da robotik teknikler kullanılarak gerçekleştirilir. Genellikle 10 yıldan fazla yaşam süresi beklentisi olan hastalar için uygun görülmektedir (Baran ve Burlükkara, 2020; Türk Tıbbi Onkoloji Derneği -, n.d.).

Radyoterapi

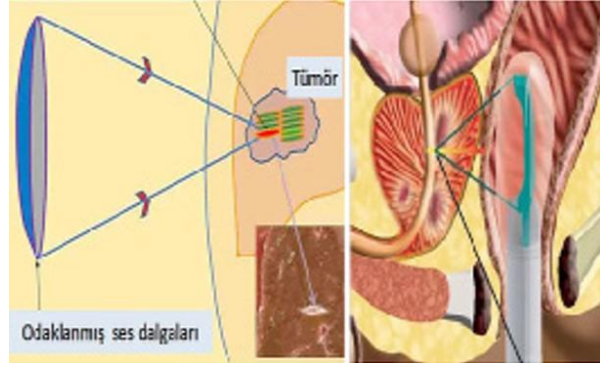
PKa tedavisinde yaygın olarak uygulanan bu teknik, kanser hücrelerini yok etmek için yüksek enerjili ışıklardan yararlanır. Genellikle, hastalığın erken aşamalarında ve düşük dereceli tümörlerde ilk tercih edilen tedavi seçeneği olarak uygulanır. Cerrahinin elde ettiği başarı oranlarına yakın bir performansa sahiptir ve ileri aşamalarda hormon tedavisi ile birlikte veya nüks durumlarında da tercih edilmektedir (Baran ve Burlükkara, 2020; Türk Tıbbi Onkoloji Derneği -, n.d.).

- **Brakiterapi (iç ışınlama):** Radyoaktif maddeler, TRUS yardımıyla doğrudan prostat bölgesine yerleştirilmektedir. Bu yöntem daha az müdahaleci bir yaklaşımdır, iyileşme süreci hızlıdır ve maliyetleri de oldukça düşüktür (Baran ve Burlükkara, 2020).
- **Eksternal Radyoterapi (dışarıdan ışınlama):** Radyasyon tedavisi dışarıdan yapılır ve haftada 5 gün hastanede uygulanır (Ekici, 2021).

Yüksek Yoğunluklu Odaklanmış Ultrason (HIFU)

HIFU tekniği, bir transdüser kullanılarak yüksek yoğunlukta ultrason dalgalarının belirli bir doku katmanına odaklanması suretiyle uygulanır. Bu süreç,

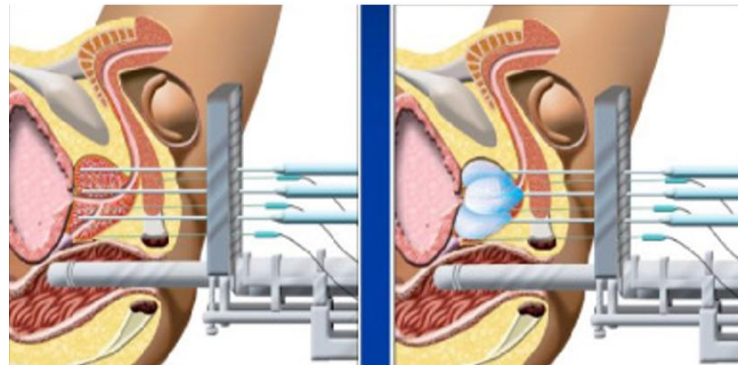
odaklanan alanlarda birkaç saniye içinde 65°-100°C arasında ani bir ısı artışı meydana getirerek koagülasyon nekrozunu tetikler (Gürbüz ve Yurdakul, 2020) (Şekil 2-15).



Şekil 2-15: Prostat Tümör Tedavisinde Yüksek Yoğunluklu Odaklanmış Ultrasonun Çalışma Prensibi (Gürbüz ve Yurdakul, 2020)

Kriyoterapi

Kriyoterapi, prostat dokusunun aşırı soğukla yok edilmesi prensibine dayanarak -20°C ile -40°C arasında yer alan düşük sıcaklıklarla kanser hücrelerini ortadan kaldırır. Bu teknik, hücre hasarı ve kriyojenik damar yaralanmaları yoluyla tümör dokusunu etkisiz hale getirir. Günümüz cihazları, argon gazı ile doku soğutmasını gerçekleştirip ardından helyum gazı ile çözme etkisi oluşturarak iki aşamada yeterli hücresel, fiziksel ve biyokimyasal yok etme işlemi sağlar (Gürbüz ve Yurdakul, 2020) (Şekil 2-16).



Şekil 2-16: Prostat Tümöründe Kriyoterapi ile Doku Dondurma Yönteminin Şematik Gösterimi (Gürbüz ve Yurdakul, 2020)

Vasküler Hedefli Otodinamik Terapi (VPT)

Fotodinamik tedavi, ışııkla etkileşime giren özel bir molekülün (fotosensitizer) oksijenle etkileşerek yanma tepkimesi oluşturması temelinde çalışır. Bu yöntem, kanser hücrelerinde yıkıcı sonuçlar doğurur (Gürbüz ve Yurdakul, 2020).

Hormon Tedavileri

Hormon tedavisi, androjenleri azaltmaya yönelik bir yaklaşımdır ve PKa hücrelerinin gelişimini teşvik eden androjen hormonlarının etkisini durdurmayı hedefler. Bu tedavi yöntemleri, androjen üretimini azaltan veya kanda androjen seviyelerini düşüren ilaçları içerir. Ayrıca, androjen reseptörlerini doğrudan bloke ederek kanser hücrelerinin büyümesini yavaşlatan veya yayılımını durduran hormonal tedaviler de bu kapsamda yer alır. Testosteron ve DHT gibi androjenler genellikle testisler tarafından üretilir, fakat adrenal bezler ve kanser hücreleri de belirli miktarda androjen üretebilir (Desai ve ark., 2021; Türk Tıbbi Onkoloji Derneği -, n.d.).

- Orşiektomi (cerrahi hadım): Testislerin cerrahi yolla alınması, testosteron üretiminin sona ermesine neden olur (Türk Tıbbi Onkoloji Derneği -, n.d.).
- LHRH agonistleri/antagonistleri: Hipofiz glandını etkileyerek testosteron üretimini azaltır. Löprolid, goserelin (enjeksiyon yoluyla); degareliks (cilt altına uygulama) en yaygın kullanılan ilaçlardır (Türk Tıbbi Onkoloji Derneği -, n.d.).
- Adrenal baskılayıcılar: Ketokonazol ve abirateron, adrenal bezler ve tümör hücreleri tarafından üretilen androjenlerin oluşumunu durdurur. Abirateron, steroidlerle birlikte kullanılmalı ve tedavi süresince düzenli muayeneler yapılması gereklidir (Türk Tıbbi Onkoloji Derneği -, n.d.).
- AR Blokajı: Testosteron ve DHT'nin AR ile etkileşimini engeller.
Eski jenerasyon: Bicalutamid, flutamid, nilutamid
Yeni jenerasyon: Enzalutamid, apalutamid, darolutamid – daha güçlü ve etkili alternatiflerdir (Desai ve ark., 2021).

Kemoterapi

Kemoterapi; kanser tedavisinde, ilaçların intravenöz (damar içi) veya ağız yoluyla alınarak vücuttaki kan akışıyla tümör hücrelerine ulaşması prensibine dayanır. PKa'da de, bu ilaçlar kandan tümöre taşınarak hücre bölünmesini durdurmayı veya yavaşlatmayı hedefler. PKa, prostat bezinin dışına yayıldığında ve hormon tedavisinin etkisi kalmadığında uygulanan bir yöntemdir. Araştırmalar, hormon tedavisi ile birlikte kemoterapinin yararlı olabileceğini ortaya koymuştur, fakat kemoterapi genellikle erken evre PKa'da standart bir tedavi yöntemi olarak kabul edilmez. PKa'da kullanılan kemoterapi ilaçları arasında kabazitaksel, dosetaksel, östramustin ve sisplatin-etoposid bulunmaktadır (Mizokami ve ark., 2017; Türk Tıbbi Onkoloji Derneği -, n.d.).

İmmünoterapi

İmmünoterapi, bağışıklık sistemini kanser hücrelerini tanıyıp ortadan kaldırması için harekete geçiren bir tedavi yöntemidir. Birçok kanser tipinde faydalı olsa da, PKa'da sınırlı bir başarı elde edilmiştir. Bu durum, PKa'nın düşük PD-L1 ifadesi ve baskılayıcı TME sebebiyle "immünolojik olarak soğuk" bir tümör olmasından kaynaklanmaktadır (Maselli ve ark., 2023).

Aşılar

PKa'yi önlemek için geliştirilen aşılar, bağışıklık sisteminin tümöre özgü antijenlere tepki göstermesini sağlamak amacıyla DNA, RNA veya peptit içeren formüller kullanır. Bu aşılar özellikle prostat asit fosfataz (PAP), PSA, prostat spesifik membran antijeni (PSMA), prostat kök hücre antijeni (PSCA) ve prostat-1'in altı transmembran epitel antijeni (STEAP1) gibi tümörlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunan antijenleri hedef almaktadır (Sridaran ve ark., 2023).

- **DNA Bazlı Aşılar:** Dairesel plazmidler aracılığıyla antijenleri sunar, T hücrelerini tetikler (Sridaran ve ark., 2023).
- **RNA Aşıları:** Mesajcı RNA (mRNA) aşıları, DNA aşılarına göre pek çok avantaj sunmaktadır. Bu avantajlardan bazıları, iyi bir şekilde tolere edilmeleri, onkogenik risk taşımamaları, majör histokompatibilite kompleksi (MHC) haplotipinden bağımsız olarak yüksek spesifiklik ve bağışıklık tepkisi özellikleri göstermeleri ve aktivasyonları için çekirdeğe girme zorunluğunun bulunmaması sayılabilir. Bu aşılar, PSA, PSMA ve

diğer tümör antijenlerini hedef alarak bağışıklık tepkileri oluşturur (Kübler ve ark., 2015; Pardi ve ark., 2018; Vishweshwaraiah ve Dokholyan, 2022).

- **Diğer Nükleik Asit Aşıları:** Nanoyapılar ve DNA birleşim sistemleri kullanılarak CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin tepkileri güçlendirilir (Chudley ve ark., 2012; Qin ve ark., 2020).
- **Adenoviral Aşılar:** Adenovirüs genomunu kullanarak, bu viral DNA'nın hücrelerin genomuna entegre olmadan bağışıklık tepkisi oluşturmalarını sağlar ve böylece genetik güvenlik açısından da avantaj sunar (Gabitzsch ve Jones, 2012).
- **Dendritik Hücre Aşıları:** Sipuleucel-T, PAP ve GM-CSF kombinasyonu ile geliştirilmiş, onaylı bir aşıdır; metastatik kastrasyon dirençli PKa'da (mKDPK) yaşam süresini uzatır (Kantoff ve ark., 2010).
- **Kişiselleştirilmiş Aşılar:** Hastaya özel olarak belirlenen peptitlerle bağışıklık cevabı en iyi hale getirilir (Madan ve Gulley, 2016).

CAR-T Hücre Tedavisi

CAR T hücreleri, tümörlere özel antijen reseptörleri aracılığıyla hedef hücreleri tanımlayıp ortadan kaldırır (Dai ve ark., 2016). Bu hücreler, antijenleri tanıyan yüzey kısmı, bu kısmı hücre zarına bağlayan ve taşıyan bağlantı bölgesi ve iç kısımda sinyal iletimini ve destekleyici molekülleri barındıran sinyal bölgesinden oluşur (Mazinani ve Rahbarizadeh, 2022). PKa için, PSMA, PSCA ve EpCAM gibi antijenleri hedefleyen CAR T tedavi yöntemleri geliştirilmiştir. PSMA CAR T tedavisi, klinik çalışmalarda PSA seviyelerini önemli ölçüde düşürmüş olsa da, ciddi yan etkilerle karşılaşılmıştır. Diğer yandan, $\gamma\delta$ T hücreleri ve CAR ile donatılmış NK hücreleri gibi yeni immünoterapiler de umut verici seçenekler arasında yer almaktadır. CAR T tedavisinin başarı oranı; antijen seçimi, T hücrelerinin dayanıklılığı ve kombinasyon tedavileri gibi etkenlere bağlıdır. Ancak, antijen kaçığı, pro-enflamatuvar yanıtlar ve tümör mikroçevresindeki engeller, bu tedavinin etkinliğini tehdit eden sorunlar arasında bulunmaktadır (Sridaran ve ark., 2023).

Hedefe Yönelik Tedavi

BRCA1 ve BRCA2 gibi DNA tamir proteinlerinde hasar yaşayan ve hastalığın yeniden oluşma olasılığı yüksek olan kişilerde, DNA tamir mekanizması yetersiz kalabilir. Bu durumda hücreler, PARP adı verilen bir alternatif onarım yöntemi ile hayatta kalabilmektedir. Fakat, Veliparib, Olaparib ve Niraparib gibi PARP inhibitörleri bu yolu engelleyerek hasar görmüş genetik materyalin yok olmasına neden olur ve böylece hasarın giderilmesini sağlar (Türk Tıbbi Onkoloji Derneği -, n.d.).

Kemiklere Metastaz Yapmış PKa'nın Tedavisi

PKa sıklıkla ilk olarak kemiklere yayılır. Bu durum, ağrı, kemik kırıkları, ve yüksek kalsiyum seviyelerine yol açabilir. Tedavinin temel amacı, kanserin kemiklere geçişini engellemek ya da bu yayılımı yavaşlatmaktır. Bisfosfonatlar, kemik dokusunu parçalayan osteoklast adı verilen hücrelerin faaliyetini yavaşlatarak bu süreci etkiler. Bu ilaçlar, kemik metastazlarına bağlı ağrıyı azaltmak, yüksek kalsiyum düzeylerini normale döndürmek, kanserin kemiklerdeki yayılımını yavaşlatmak ve kırıkları engellemek amacıyla kullanılır. Ayrıca, hormon tedavisi alan hastaların kemiklerini güçlendirmeye yönelik etkileri de bulunmaktadır. Zoledronik asit ve Denosumab, PKa tedavisinde en yaygın olarak tercih edilen bisfosfonatlar arasında bulunmaktadır (Türk Tıbbi Onkoloji Derneği -, n.d.).

Radyoaktif Maddeler ile Tedavi

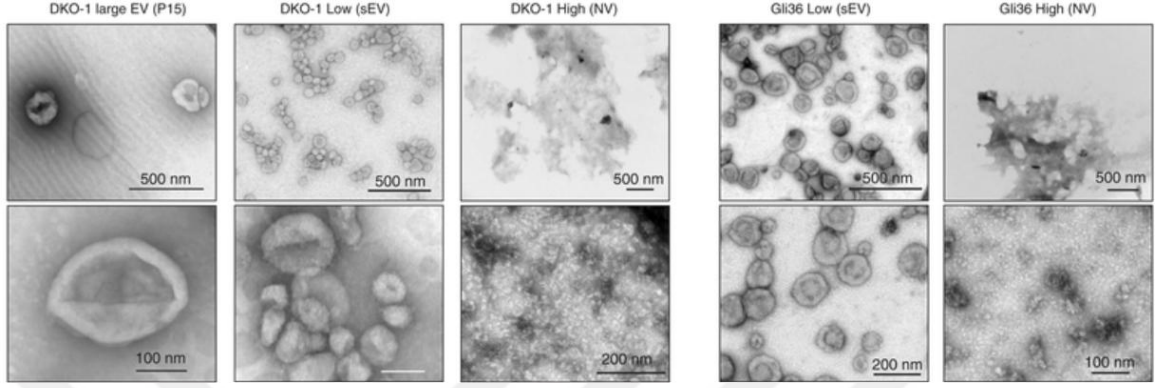
Radyoaktif olarak işlev gören maddeler, özellikle kemik ve lenf bezlerinin etkilendiği ileri düzey PKa hastalarında tercih edilmektedir. Bu tedavi yöntemleri arasında Radyoaktif 223, Lutesyum-177 ve Aktinyum-225 bulunmaktadır. Bu yöntemlerden bazıları onaylanmışken, diğerleri hâlâ deneme aşamasındadır (Türk Tıbbi Onkoloji Derneği -, n.d.).

2.2. KANSERDE EKSOZOMLARIN YÜKSELEN ROLÜ

2.2.1. Eksozom Biyolojisi

Eksozomlar, 30 ile 100 nanometre arasında değişen çaplara sahip olan nano boyutlu veziküllerdir ve bu yapılar, proteinler, lipidler, nükleik asitler, amino asitler ve metabolitler gibi pek çok farklı molekül barındırır (Şekil 2-17). Tüm hücre çeşitleri tarafından üretilen eksozomlar, kan, idrar, tükürük ve beyin omurilik sıvısı gibi çeşitli biyolojik sıvılarda yer alabilir. Eksozomların içerikleri, kaynak aldıkları hücrelerin

özelliklerini yansıtarak hücresel durumlar ve hastalık süreçleri hakkında bilgi verme olanağı sunar (Mashouri ve ark., 2019; Zhang ve ark., 2019; Kalluri ve LeBleu, 2020).



Şekil 2-17: Çeşitli Örneklerde İzole Edilen Eksozomların Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) Görünümleri (Jeppesen ve ark., 2019)

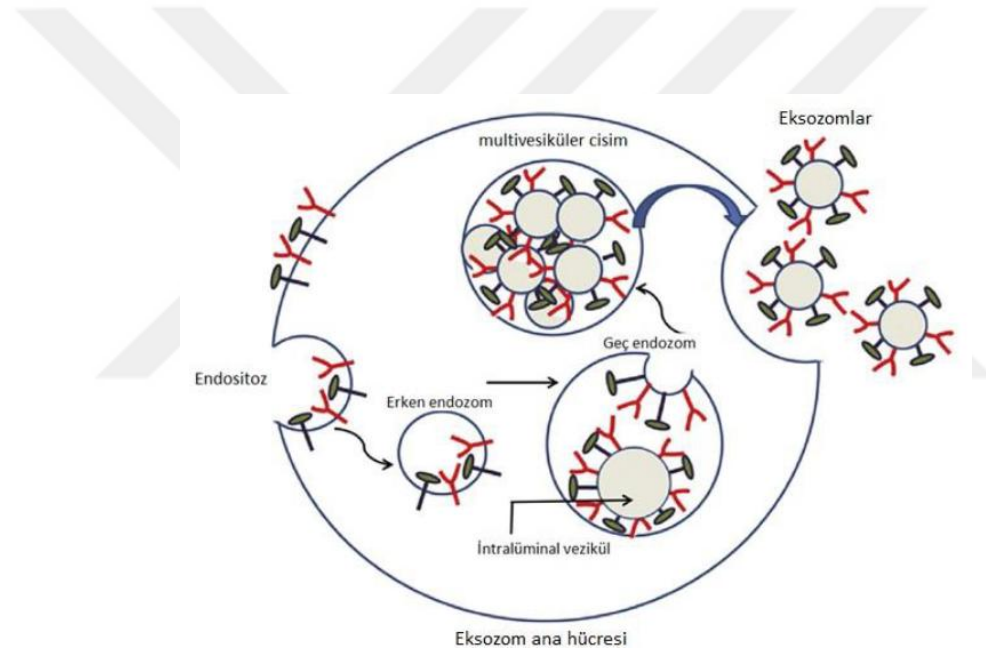
Eksozomların Biyogenezi ve Bileşimi

Eksozomlar, hücresel kargonun ayrıştırılması ve endositoz yolunu kapsayan karmaşık bir süreç aracılığıyla meydana gelir. Bu süreçte eksozomlar, endositoz sisteminin bir bileşeni olan çok sayıda vezikülü bulunan cisimciklerin (MVB) içerisindeki lümen içi veziküller (ILV) biçiminde ortaya çıkar (Meldolesi, 2018; Kalluri ve LeBleu, 2020).

Eksozomların meydana gelmesi, hücre içindeki maddelerin dikkatlice seçilip paketlenildiği karmaşık bir süreçtir. Bu olay, plazma zarından alınan moleküllerin erken endozomlar biçiminde hücreye aktarılmasıyla başlar. Olgunlaşma sürecinde bu endozomlar, MVB'ye dönüşerek içlerinde ILV olarak bilinen hedeflenmiş yapılar arasında içerik biriktirirler. Bu aşamada, proteinler ve RNA gibi farklı moleküller, belirli zar alanlarında bir araya gelir. MVB içinde toplanan bu maddeler, endozomal sınıflandırma için gerekli taşıma (ESCRT) kompleksi benzeri protein yapıları tarafından teşhis edilerek ILV'ye yönlendirilir. ESCRT sistemi, zarın içe doğru çıkıntı yapmasını sağlayarak ILV'nin oluşumuna yardımcı olur. SCRT, bağımsız yollar üzerinde seramid gibi lipid depolarında yoğunlaşan moleküllerin ILV oluşumuna yardımcı olmasına katkıda bulunur. ILV oluşumu tamamlandığında, MVB'ler iki farklı yoldan devam edebilir: ya lizozomlarla birleşip içeriklerini parçalayıp yok eder ya da plazma zarıyla

bir araya gelerek eksozomları hücre dışına bırakır Bu salım aşaması, Rab27 gibi GTPazlar aracılığıyla yönetilir ve eksozomlar, alıcı hücrelere ulaşarak biyolojik sinyalleri iletir (Meldolesi, 2018; Kalluri ve LeBleu, 2020) (Şekil 2-18).

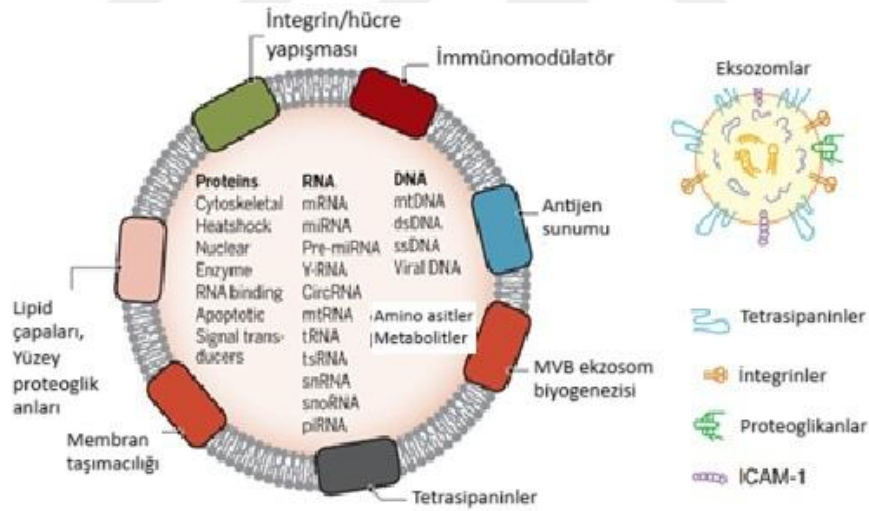
Eksozomların ortaya çıkması ve yayılmasında rol oynayan temel proteinler arasında Rab adlı Ras ile bağlantılı GTPaz, Sytenin-1, *TSG101* (tümör duyarlılık geni 101), apoptoz ile ilişkili gen 2-etkileşimli protein X (ALIX), sindekan-1, ESCRT proteinleri, fosfolipidler, tetraspaninler, seramidler, sfingomiyelinazlar ve SNARE (çözünür N-etilmaleimide duyarlı faktör (NSF) bağlanma proteini reseptörü) kompleks proteinleri bulunmaktadır (Ciardiello ve ark., 2016; Bebelman ve ark., 2018; Mathieu ve ark., 2019).



Şekil 2-18: Hücre İçinde Eksozom Oluşum Sürecinin Şematik Gösterimi (Bozkurt, 2018)

Eksozomların moleküler yapısı, biyogenez süreçleri sayesinde oluşur ve hücre içindeki diğer yollarla bağlantı kurar. Bu yapılar, aldıkları hücrelerin özelliklerini ve yükleme mekanizmalarını yansıtarak, nükleik asitler, proteinler, lipidler ve diğer biyomolekülleri taşır. Eksozomların dış yüzeyleri, hücrelerin içeri girmesini, yapışmasını ve reseptör iletişimini kolaylaştıran tetraspaninler (CD63, CD81, CD82, CD9), birleşim proteinleri, iskelet elemanları (aktin, tubulin), bağışıklık tepkisi, antijen sunumu ile stres direnci sağlayan Hsc70 ve Hsc90 gibi ısı şok proteinleri açısından yoğundur (Şekil 2-19). Eksozom zarlarını oluşturan lipidlerden bazıları

şunlardır: lyosbisfosfatidik asit (LBPA), fosfatidilkolin, fosfatidilserin (PS), kolesterol, sfingomiyelin (SM) ve seramid. Bu lipidler, eksozomların biyolojik koşullarda dayanıklılığını sürdürmesine katkıda bulunur. Eksozomlar, mRNA'lar, miRNA'lar, uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA'lar) ve dairesel RNA'lar (circRNA'lar) gibi farklı nükleik asitler içerir ve bu moleküller alıcı hücrelerde gen ifadesini değiştirebilir. Özellikle mikroRNA'lar, tüm haritalanabilir RNA okumalarının %42'sinden fazlasını temsil edecek şekilde geniş bir şekilde mevcuttur ve anjiyogenez ile tümör gelişimi gibi sinyalizasyon süreçlerinde önemli işlevler üstlenir. Ayrıca eksozomlar, enzimler, sitokinler, büyüme faktörleri ve metabolik bileşikler gibi farklı biyomoleküller de barındırır. Taşınan yük, kaynak aldıkları hücrenin tipine ve onun fizyolojik durumuna bağlı olarak farklılıklar gösterir. Bu içerikler, eksozomların hücreler arası etkileşimdeki fonksiyonlarını ve hastalık süreçlerindeki olası uygulama alanlarını kavramada kritik bir öneme sahiptir (Mashouri ve ark., 2019; Zhang ve ark., 2019; Kalluri ve LeBleu, 2020).

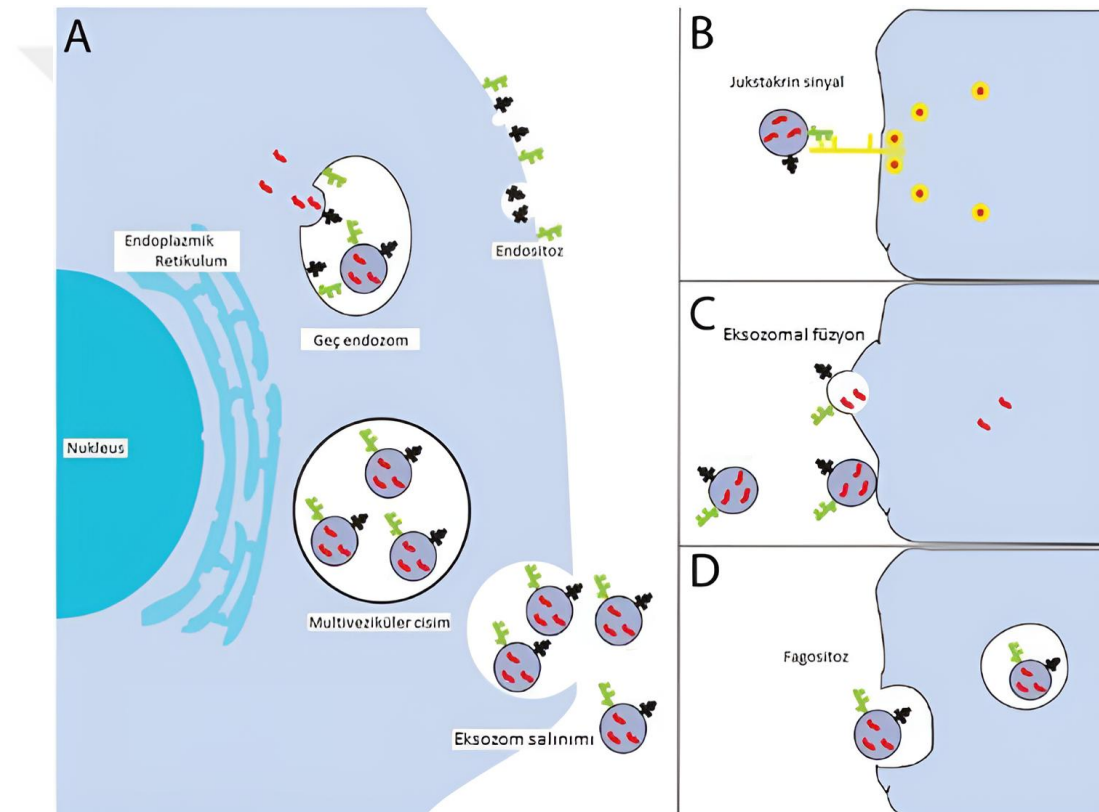


Şekil 2-19: Eksozomların Moleküler Bileşimi ve Membran Yapısı (Meldolesi, 2018; Kalluri ve LeBleu, 2020)

İletişimde Eksozomların Rolü ve Biyolojik Önemi

Eksozomlar, hücreler arasında iletişimi sağlamak için kritik bir rol oynar ve taşıdıkları biyolojik olarak aktif molekülleri alıcı hücelere ulaştırarak bu süreci desteklerler. Üzerlerinde yer alan ligand ve proteinler, belli hücreleri hedef almalarına

yardımcı olur. Eksozomlar, alıcı hücreler tarafından çeşitli mekanizmalarla alınabilir. Bunlar arasında, eksozomların yüzeyindeki ligandların hedef hücredeki reseptörlerle etkileşime geçmesi, adezyon molekülleri yardımıyla hücre zarı ile birleşmesi ve içerdiklerini doğrudan iletebilmesi bulunur. Ayrıca, eksozomlar hücre içine fagositoz yöntemiyle alınabilir veya reseptör aracılığıyla endositoz süreci ile hücre içine girebilir. Bu süreçler, eksozomların hücreler arası iletişimdeki önemli işlevini pekiştirir (Bozkurt, 2018; Gurunathan ve ark., 2019; Mashouri ve ark., 2019; Kalluri ve LeBleu, 2020; Zhang ve ark., 2019) (Şekil 2-20).



Şekil 2-20: Eksozomların Hedef Hücrelere Transferine İlişkin Alım ve Etkileşim Mekanizmaları (Bozkurt, 2018)

Eksozomlar, alıcı hücrelerin fenotipini taşıdıkları nükleik asitler, proteinler ve metabolitler aracılığıyla etkileyebilir. Özellikle onkogenik hücrelerden kaynaklanan eksozomlar, invazyonu artırıcı moleküller ve kanserle ilişkili miRNA'lar barındırabilir. Bu durum, hedef hücrelerin davranışını değiştirerek tümör gelişimine katkıda bulunabilir. Eksozomlar aynı zamanda bağışıklık sisteminde de önemli roller üstlenir.

Taşıdıkları MHC proteinleri aracılığıyla doğrudan T-hücrelerini aktive edebilir veya antijen sunan hücrelerin işlevini düzenleyebilirler. Bu süreçler, inflamasyonun kontrol edilmesiyle bağlantılıdır. Eksozomlar, inflamasyon sürecini kontrol eden inflamatuvar sitokin ve kemokinleri taşıyarak, inflamasyonu artırıcı ya da baskılayıcı etkiler gösterebilir. Bu özellikleri kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi durumlarda belirleyici olabilir. Eksozomlar, zararlı mikroorganizmaların yayılmasını destekleyebilir veya belirli viral RNA taşımaları yoluyla virüslerin etkisini artırabilir. Bunun yanı sıra, TMÇ'yi değiştirerek tümör gelişimini, metastazı ve kemoterapiye olan direnci artırabilir. Eksozomlar, bağışıklık sisteminden kaçış sağlayan proteinler barındırarak tümörlerin hayatta kalmasına yardımcı olur ve hücrelerin yapışma, hareket etme ve invazyon süreçlerini destekleyerek metastaza yardımcı olur. Eksozomlar, hücrelerin programlanmış ölümü olan apoptozu üzerinde de etkilidir. Kanser hücreleri tarafından serbest bırakılan eksozomlar, bağışıklık hücrelerinde apoptozu tetikleyen FasL ve TRAIL gibi proteinleri içerebilir ve böylece tümörlerin bağışıklık sistemi tepkisinden kaçmasına destek olabilir. Ayrıca, eksozomlar kanser hücrelerinde apoptozu engelleyerek tümör hücrelerinin hayatta kalmasına yardımcı olabilirler (Gurunathan ve ark., 2019; Mashouri ve ark., 2019; Zhang ve ark., 2019; Kalluri ve LeBleu, 2020).

Eksozomlar, hücreler arası iletişimde önemli bir işlev üstlenen, proteinler, yağlar ve genetik bilgiler taşıma ve aktarma yetenekleri ile dikkat çeker. Moleküler yapılarının analiz edilmesi, hem normal fizyolojik koşullarda hem de hastalık süreçlerinde işlevlerini ve patogenezdaki rollerinin kavranmasına yardımcı olur. Bu özellikler, eksozomların hem tanı göstergeleri hem de tedavi edici moleküller olarak olası fayda alanlarını göstermektedir (Gurunathan ve ark., 2019; Mashouri ve ark., 2019; Zhang ve ark., 2019; Kalluri ve LeBleu, 2020).

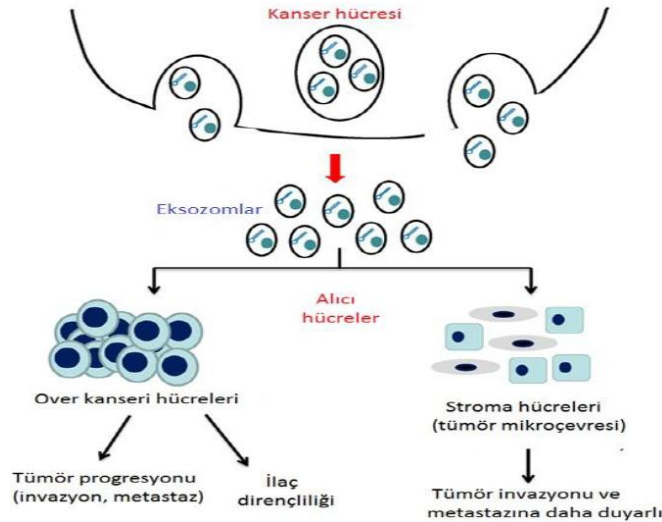
2.2.2. Kanser ve Eksozomlar

Eksozomlar, kanser hücreleri arasında iletişimi sağlayan önemli moleküllerdir. Kanser gelişimi, metastazı ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde önemli görevler üstlenirler. Kanser hücreleri, sağlıklı hücelere göre daha fazla sayıda eksozom üretir. Bu eksozomlar, kanser hücrelerine özel proteinlerle etkileşime girebilen ligand moleküllerini içerir. Böylece, kaynak hücelere benzer olan (homotopik) ya da farklı hücre türlerine ait (heterotopik) tümör dokularını hedef alır. Kanser hücrelerinden

kaynaklanan eksozomlar, lokal ve uzak çevreleri değiştirerek tümör gelişimini ve metastaz sürecini teşvik eder (Zhang ve ark., 2019; Kok ve Yu, 2020; Shao ve ark., 2020).

Eksozomların Tümör Gelişimindeki Rolü

Kanser hücrelerinden kaynaklanan eksozomlar, içerdikleri proteinler, DNA'lar, RNA'lar ve metabolitler sayesinde hedef hücrelerin işlevlerini değiştirir ve tümör çevresini düzenler (Şekil 2-21). Glioma hücreleri, eksozomlar aracılığıyla EGFRvIII reseptörünü hedef hücrelere ileterek AKT yolunu harekete geçirir ve bu hücrelerin büyüme kabiliyetini yükseltir. Meme kanseri hücreleri tarafından üretilen eksozomlar, PD-L1 proteinini diğer kanser hücrelerine ileterek bağışıklık sisteminden uzak durmalarına yardımcı olur. Kanser hücreleri tarafından salınan eksozomlar, stromal hücreleri tümör için destekleyici bir ortam oluşturmaya yöneltirken, kanser hücreleri de bu stromal hücrelerden gelen eksozomları alarak proliferasyon ve invazyon yeteneklerini geliştirir. Örneğin, meme kanseri stromal hücreleri, RIG-1 sinyal yolunu aktive eden *RN7SL1* RNA'sını barındıran eksozomları üreterek inflamatuvar yanıtı ve tümör gelişimini başlatır. Kanserle ilişkili fibroblastlardan gelen eksozomlar, ADAM10 proteinleri aracılığıyla kanser hücrelerinin hareketliliğini artırırken, Notch sinyali sayesinde kök hücre özelliklerini korumalarına destek sağlar (L. Zhang ve Yu, 2019).



Şekil 2-21: Tümör Hücrelerinden Salınan Eksozomların Kanser Hücreleri ve Mikroçevre Üzerindeki Etkileri (Bozkurt, 2018)

Eksozomlar ve Metastaz

Eksozomlar, metastaz sürecinde önemli bir işlev üstlenir. İçerdikleri proteinler ve mikroRNA'lar sayesinde epitelyal-mezenkimal geçişi (EMT) teşvik eder, hücre hareketliliğini ve istilasını kolaylaştırır. Bu şekilde, kanser hücrelerinin uzak organlara yayılması daha da kolay hale gelir. Pre-metastatik niş (PMN) oluşumunda eksozomlar, uzak organlarda tümör hücreleri için uygun bir ortam oluşturur. Endotelyal geçirgenliği yükselterek ekstrasvazasyonu kolaylaştırır, adezyon moleküllerini etkileyerek hücre yapısını bozar (Wortzel ve ark., 2019).

Ayrıca fibroblastları harekete geçirerek matris proteinlerinin ve büyüme faktörlerinin sentezini teşvik eder; bu sayede tümör hücrelerinin yeni çevreye uyum sağlamasını destekler. Eksozomlar, bağışıklık tepkisini azaltarak kanser hücrelerinin yaşamını sürdürebilmesini ve yayılmasını kolaylaştırır. Myeloid kökenli bağışıklık inhibe edici hücrelerin ortamda hareket etmesini artırır. Sonuç olarak, eksozomlar, içerdikleri RNA ve proteinler sayesinde hedef hücrelerde sinyal yollarını harekete geçirerek metastatik gelişmeye uygun bir çevre yaratır (Wortzel ve ark., 2019).

Eksozomlar ve Bağışıklık Düzenlemesi

Tümörden kaynaklanan eksozomlar, immün sistemi inhibe ederek tümör hücrelerinin bağışıklık sisteminden kaçmalarına olanak tanır. T hücresi aktivitelerini düşürür, düzenleyici T hücrelerinin üretimini teşvik eder ve genel bağışıklık tepkisini zayıflatır (L. Zhang ve Yu, 2019; Kok ve Yu, 2020).

Eksozomlar ve Biyobelirteç Gelişimi

Kanser hücrelerinin ürettiği eksozomlar, kanserin biyolojisini anlamak ve biyobelirteçlerin geliştirilmesi aşamasında kritik bir öneme sahiptir. Kanser hücrelerine özgü proteinler, genetik materyaller ve diğer biyomolekülleri içerdikleri için, belirli kanser türleriyle ilgili bilgiler sunarlar. Bu özellik, eksozomları kanser tanısı ve hastalık seyrinin prognozu için potansiyel bir biyobelirteç haline getirir (Kok ve Yu, 2020).

Eksozomların her bir tümör türüne özel genetik bileşenleri, teşhis ve tedavi aşamalarında büyük bir fırsat sunar. Kanser hücreleri tarafından serbest bırakılan eksozomlar, proteinler, RNA, DNA ve lipidler gibi biyomolekülleri barındırır ve bu bileşikler kanserin türüne göre değişiklik gösterir. Örneğin, pankreas kanserine bağlı olarak oluşan eksozomlar, *KRAS* ile *TP53* genlerinde bulunan değişiklikleri içerebilir.

Bu değişikliklerin eksozomlar yoluyla taşınması, kanser hücrelerinin genetik yapısını yansıtarak sıvı biyopsi yöntemleriyle belirlenebilir ve çeşitli kanser türlerini ayırt etmede yardımcı olabilir (Kok ve Yu, 2020).

Eksozomlar, kanserle bağlantılı çeşitli biyobelirteçleri taşıyabilme yetenekleri sayesinde tanı ve tedavi aşamalarında önemli bir işlev üstlenir. Bu biyobelirteçlerin niceliksel ve niteliksel incelemeleri, hastalığın ilerleme düzeyinin belirlenmesine imkan sağlayarak tedaviye zamanında müdahale yapılmasını kolaylaştırır. Eksozomların biyobelirteç olarak faydaları, kanserin erken tanısı ve tedaviye verilen cevabın takibini mümkün kılmaktadır. Bunun yanı sıra, eksozomların ilaç taşıma işlevi, tedavi süreçlerinde yeni imkanlar sunmakta ve hem tanı hem de tedavi amaçları için eşsiz bir araç olarak dikkat çekmektedir (Kok ve Yu, 2020).

Eksozomlar, tümör hücreleri arasında iletişim kurarak tümör oluşumu, metastaz ve bağışıklık sisteminin dengesinde önemli bir işlev üstlenir. Bu nitelikleri sayesinde, eksozomlar kanser tedavisi ve tanısında umut verici potansiyel hedefler olarak öne çıkar (L. Zhang ve Yu, 2019).

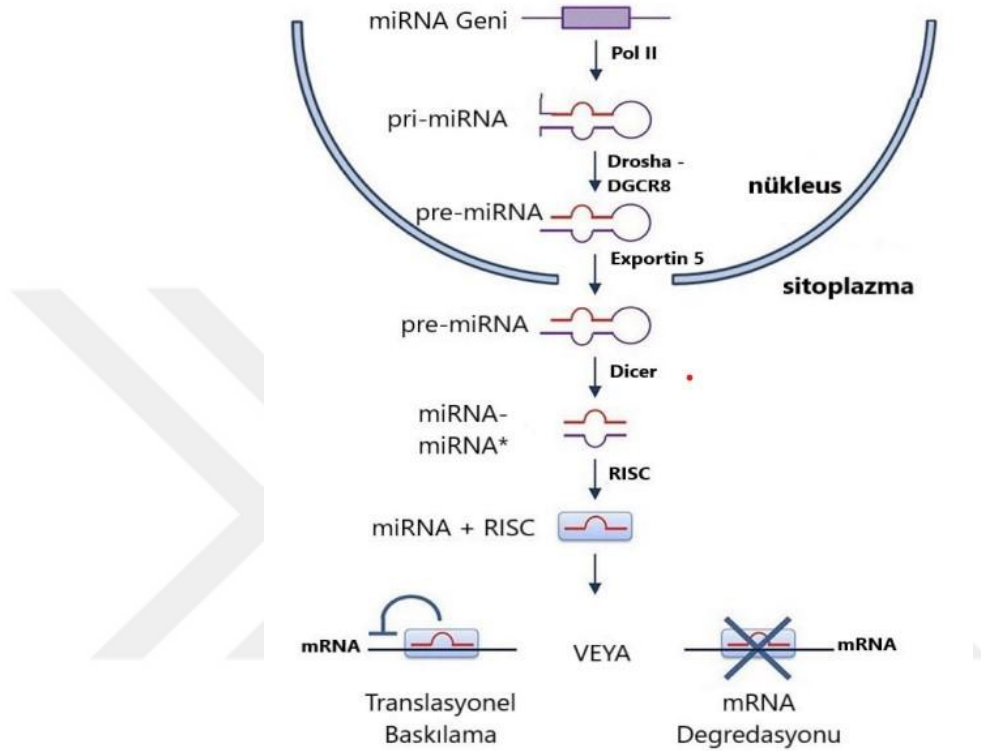
2.3. MikroRNA: MEKANİZMALAR VE İŞLEVLER

2.3.1. MikroRNA Biyolojisi Temelleri

miRNA'lar, genlerin ifade edilmesini posttranskripsiyonel aşamada yönlendiren ufak, kodlamayan RNA bileşenleridir. Sayısız mRNA'yı hedefleme yetenekleri, hücrel işlevlerin çeşitli yönlerini denetlemelerine imkan tanır (O'Carroll ve Schaefer, 2013).

miRNA'ların biyogenezi, karmaşık ve dikkatle düzenlenen bir süreçtir. İlk aşamada, genellikle intronlarda veya bağımsız bölgelerde yer alan miRNA genleri, RNA polimeraz II aracılığıyla transkribe edilir. Bu süreç sonunda, saç tokası şeklinde bir kök-ilmek yapısı taşıyan uzun öncül RNA molekülleri, primer miRNA (pri-miRNA) olarak bilinir. Pri-miRNA, nükleusta RNA'yı kesen Drosha enzimi ve DGCR8 proteini tarafından tanınarak parçalanır. Bu işlem neticesinde, yaklaşık 70-100 nükleotid boyutunda bir öncül miRNA (pre-miRNA) meydana gelir. Pre-miRNA, Exportin-5 protein kompleksi tarafından sitoplazmaya taşınır. Sitoplazmada, Dicer enzimi devreye girerek pre-miRNA'yı yaklaşık 22 nükleotid uzunluğunda olgun bir miRNA'ya dönüştürür. Olgun miRNA, Argonaut proteinleri ile bir araya gelerek RNA-indükleyici

sessizlik kompleksi (RISC) olarak bilinen bir yapı meydana getirir. RISC, hedef mRNA'lara tutunarak onların translasyonu üzerinde engelleyici bir etki yaratır veya doğrudan yok edilmesini sağlar (Michlewski ve Cáceres, 2019) (Şekil 2-22).



Şekil 2-22: Hücre İçinde miRNA Biyogenezi Aşamalarının Şematik Akışı (Gülfem Albayrak ve ark., 2022)

miRNA'lar, hücresel aktivitelerin kontrolünde önemli bir rol oynayan ve gen ifadelerini transkripsiyon sonrası aşamada düzenleyen küçük RNA molekülleridir. Biyogenezi ve işlevleri, gen düzenlemesinde ve hücresel dengenin sağlanmasında kritik öneme sahiptir. Bu süreçlerdeki bozulmalar, çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabilir (Mendell ve Olson, 2012; Lekka ve Hall, 2018).

miRNA'lar, birçok biyolojik süreçte ve hastalıkların işleyişinde önemli işlevler yürütür. Hücrelerin farklılaşması, embriyonik gelişim, metabolizma, organların oluşumu ve programlı hücre ölümü gibi temel süreçlerin kontrolünde rol oynarlar (Ha ve Kim, 2014). miRNA'lar, hastalıkların gelişiminde de kritik bir görev üstlenir. Bilhassa kanser ve kronik hepatit C gibi enfeksiyonlarda miRNA'ların tedavi edici gücü ön plana

çıkılmaktadır (Beg ve ark., 2017; Van der Ree ve ark., 2017; Petrovic ve Ergun, 2018). Bu moleküller, hücreler arasında taşınarak hedef hücrelerde gen ekspresyonunu düzenleyebilir ve bu yolla hastalık ilerleyişine müdahale edebilir. Ayrıca, miRNA'lar doku homeostazını koruyarak hücresel stabiliteyi sürdürme konusunda önemli işlev görürler (Saliminejad ve ark., 2019).

miRNA'lar, hem genlerin ifadesini hem de epigenetik süreçleri etkileyen iki yönlü bir rol üstlenen epigenetik düzenleyicilerdir. DNA metilasyonunu içeren epigenetik değişikliklerin hedefi olabilirken, DNA metiltransferazları gibi epigenetik düzenleyicilerin faaliyetlerini de yönlendirebilirler. Bu özellik, miRNA'ların gen düzenleme ağları içindeki büyük etkilerini ve karmaşık işlevlerini açığa çıkarır. miRNA'ların gen kontrolü, hücre içi iletişim yolları ve hücreler arası bilgi transferindeki rolleri, bu moleküllerin biyolojik olaylardaki önemli yerini ve tıbbi tanı/tedavi uygulamalarındaki potansiyel kullanım alanlarını ön plana çıkarmaktadır. Bu sebeple, miRNA'lar, hem temel bilimlerde hem de hastalıkların teşhis ve tedavisinde önemli bir ilgi alanı oluşturmıştır (Saliminejad ve ark., 2019).

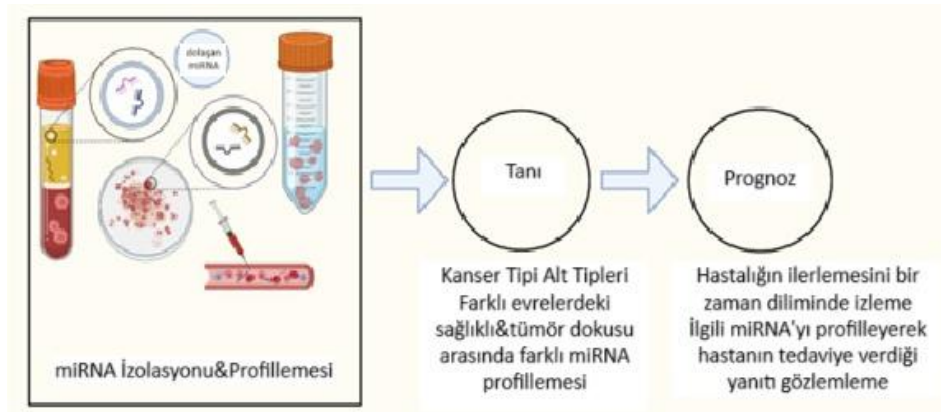
2.3.2. Kanserde miRNA

miRNA'lar, belirli mRNA'ların ifade seviyelerini kontrol ederek hücresel faaliyetler üzerinde önemli bir denetim sağlar. Aşırı ya da yetersiz ifade sergileyen miRNA'lar, hedef mRNA'ların ürünlerini ya azaltabilir ya da artırabilir. Eğer bir miRNA, doğrudan bir onkogen veya tümör baskılayıcı gen üzerinde etkiliyse, bu miRNA'nın kansere yol açma ihtimali vardır. Hedef mRNA'nın moleküler yolaktaki işlevine göre, miRNA'lar onkogenik veya tümör baskılayıcı nitelikler edinebilir. miRNA'ların dengesizliği pek çok kanser türünde yaygın bir durumdur. Normal dokularda protoonkogenlerin translasyonunu inhibe eden böylece onkogen faaliyetlerini azaltan miRNA'lar, tümör baskılayıcı miRNA'lar olarak bilinir. Örneğin, miR-29b ve miR-34s, miR-15a ve miR-16 gibi tümör baskılayıcı miRNA'lar, *Mcl-1* ve *Bcl-2* gibi anti-apoptoz genlerini hedefleyerek normal apoptotik yanıtı sağlar ve tümör gelişimini engellerler (Yong ve Dutta, 2009; Değirmenci ve ark., 2011; Hill ve Tran, 2021).

Tümör baskılayıcı miRNA'ların seviyesinin düşmesi, onkogenlerin düzeyinin yükselmesine neden olarak kanser gelişimini harekete geçirebilir. Diğer yandan, onkogenik miRNA'lar (onkomir'ler) genellikle tümörlerde daha yüksek seviyelerde ifade edilir. Bu miRNA'lar, tümör baskılayıcı genleri hedef alarak hücrelerin kontrolsüz

büyümesine yardımcı olur ve anti-apoptotik özellikleri sayesinde kanserin yayılmasına katkıda bulunur. Örneğin, miR-21, normal hücrelerde miR-122 tarafından baskılanarak hücre proliferasyonunu düzenleyen *PDCD4* (Programlanmış Hücre Ölümü Proteini 4) geninin ekspresyonunu artırır. Ancak miR-122'nin düzenlenmesinin kaybolması durumunda miR-21'in aşırı eksprese edilmesi, *PDCD4* seviyelerinin azalmasına yol açar. Bu durum, hücrelerin kontrolsüz şekilde çoğalmasını ve hayatta kalmasını teşvik ederek kanser fenotipinin oluşumuna katkıda bulunur. Benzer şekilde, miR-107'nin tümör baskılayıcı miRNA let-7'yi bağlayarak baskıladığı ve bu durumun tümör oluşumunu desteklediği gösterilmiştir (Değirmenci ve ark., 2011; Hill ve Tran, 2021).

miRNA'lar, kanser biyolojisinde kritik roller oynayarak farklı tümör tipleri ve alt tipler için "moleküler bir parmak izi" oluşturma potansiyeline sahiptir. Her kanser çeşidi, çoğunlukla tümör baskılama genlerini inhibe eden aşırı aktif onkomiRNA'lar veya onkogenleri hedef alan düşük düzeyde etkili tümör baskılayıcı miRNA'lar gibi özel bir miRNA setine sahiptir. Bu belirli miRNA dizilimleri, kanser hücrelerinde gen ifade biçimini değiştirerek, özel tedavi yöntemlerinin oluşturulmasına imkan sağlar. miRNA'lar, tümör dokusu, kan, plazma veya serum gibi biyolojik örneklerden izole edilebilir ve bu örneklerin profillemesi kanser teşhisi, evrelemesi ve tedavisinde önemli bilgiler sağlar. Bu özellikleri sayesinde miRNA'lar, hem tanı koymada biyolojik gösterge olarak hem de tedavi hedefleri olarak günümüz tıbbında önemli bir potansiyel sunmaktadır (Chakraborty ve ark., 2023) (Şekil 2-23).



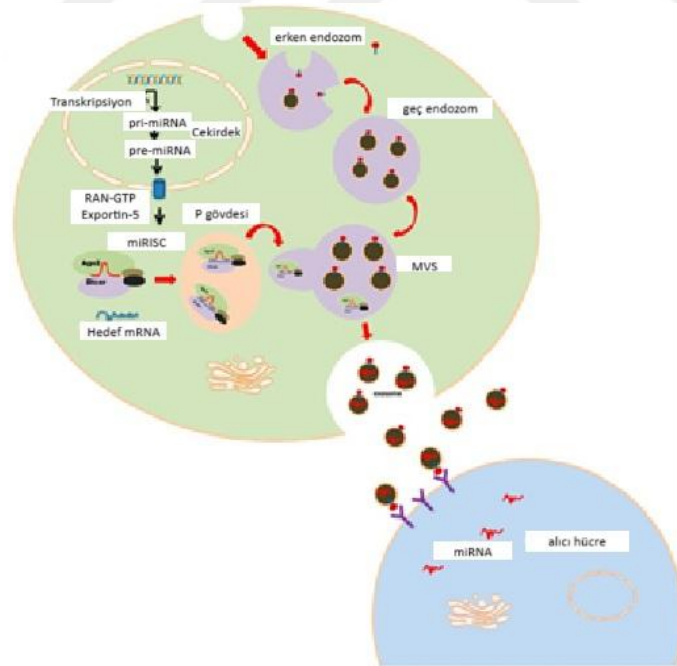
Şekil 2-23: Dolaşımdaki miRNA Analizinin Kanserde Tanı ve Prognoz Amaçlı Klinik Uygulama Potansiyelleri (Chakraborty ve ark., 2023)

2.4. KANSERDE EKSOZOMAL miRNA'LAR

Eksozomal miRNA Biyosentezi ve Salınım Süreçleri

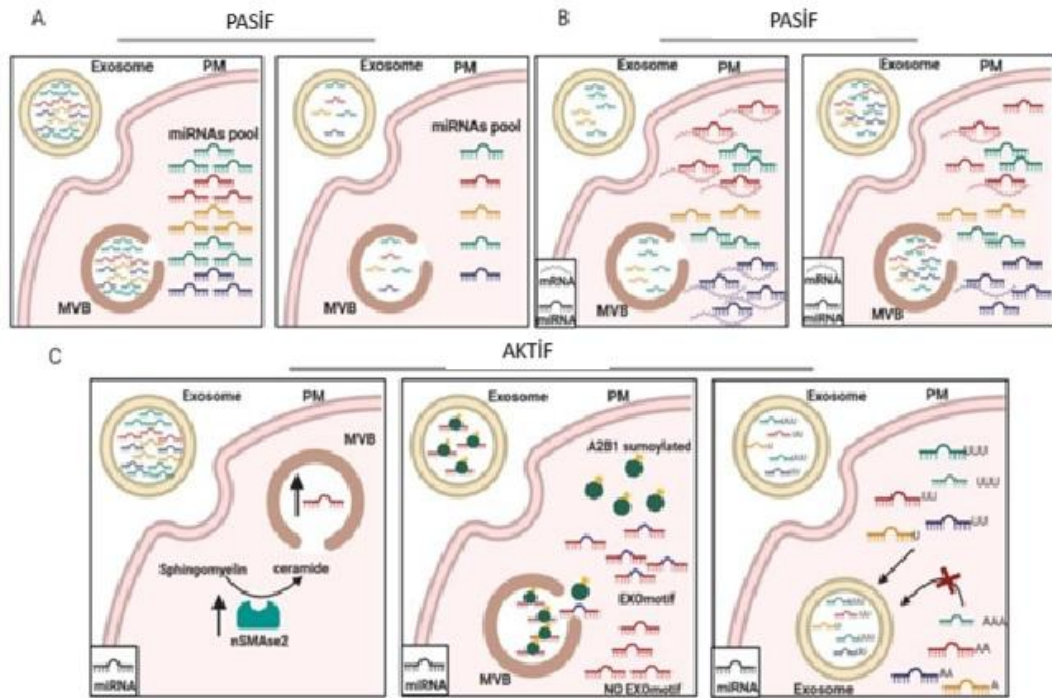
Eksozomlar, kan akışında bulunan nano boyuttaki keseciklerdir ve hücreler arası iletişim ile biyolojik süreçlerin kontrolünde önemli bir işlev üstlenirler. İçlerinde barındırdıkları miRNA'lar sayesinde, eksozomlar olası biyobelirteçler olarak görev yaparlar (Sun ve ark., 2018).

Eksozomlarda miRNA'nın salgılanma süreci şu şekilde gerçekleşir: İlk olarak, pri-miRNA'nın genetik bilgisi transkribe edilerek Drosha enzimi aracılığıyla pre-miRNA formuna dönüştürülür. Daha sonra, Exportin-5 aracılığıyla sitoplazmaya geçen pre-miRNA, burada olgun miRNA formuna dönüşür. Olgun miRNA, sonrasında miRISC kompleksine katılır. P-gövdesi, geç endosomlarla bir araya gelerek miRNA barındıran eksozomları serbest hale getirir. Bu eksozomlar, hedef hücreler tarafından reseptör-ligand ilişkisi aracılığıyla alınır ve hücre içerisinde farklı genlerin ifadelerinin kontrol edilmesine yardımcı olur (Yu ve ark., 2016) (Şekil 2-24).



Şekil 2-24: Hücreden Eksozomlar Yoluyla miRNA'nın Paketlenme ve Salınım Mekanizmaları (Yu ve ark., 2016)

Farklı araştırmalar, miRNA'ların eksozomlara dahil edilme sürecinin hem aktif hem de pasif yollarla gerçekleşebileceğini göstermiştir. Pasif mekanizma, miRNA'ların hücredeki yoğunluğuyla doğru orantılı olarak eksozomlara paketlenmesiyle gerçekleşir; yani mikroRNA'lar, köken hücrelerindeki oranlarına bağlı olarak (Şekil 2-25.A) veya hedef mRNA'ların yoğunluğuna bağlı olarak (Şekil 2-25.B) pasif bir yolla eksozomlara yüklenir. Aktif miRNA yükleme süreçleri, farklı unsurlara bağlı olarak şekillenmektedir (Şekil 2-25.C). Bunlardan biri nSMase2 enzimiyle bağlantılıdır (sol panel); bu enzim, miRNA'ların eksozomlara yüklenmesini sağlar. Ayrıca, miRNA dizisinde yer alan ve sumoylanmış A2B1 proteini tarafından tanınan özel bir EXO motifi sayesinde (orta panel) miRNA'lar etkin bir şekilde eksozomlara paketlenir. Son olarak, miRNA'nın 3' UTR kısmında yer alan ve üridin içeren belirli bir dizinin mevcudiyeti de (sağ panel) miRNA'ların eksozoma yüklenmesini aktif bir biçimde kontrol eder (Ingenito ve ark., 2019).



Şekil 2-25: Eksozomlarda miRNA Yükleme Mekanizması I (Ingenito ve ark., 2019)

Eksozomal miRNA'ların paketlenme aşamalarıyla ilgili bir dizi yöntem mevcuttur ve bu süreci yönlendiren birkaç özel mekanizmanın bulunduğu

gözlemlenmektedir. İlk mekanizma olarak, EXOmotif gibi spesifik dizilere sahip miRNA'ların hnRNPA2B1 gibi RNA bağlayıcı proteinlerle etkileşimde bulunması bu süreçlerden biri olarak öne çıkmaktadır. hnRNPA2B1 proteininin sumoyilasyonu, bu miRNA'ların eksozomlara taşınması açısından hayati bir rol oynamaktadır. İkinci bir mekanizma olarak, SYNCRIP/hnRNPQ benzeri başka bir RNA bağlayan proteinin etkisi altında, belirlenen miRNA'larla etkileşim sağlanarak onların eksozomlara yönlendirilmesi gözlemlenir. Bu aşama, miRNA'ların eksozomlara yüklenmesinde HEXOmotif gibi özgül dizilerin önemini vurgular. Bu diziler sayesinde miRNA'lar Argonat 2 (Ago2) proteiniyle etkileşir ve eksozomlara aktarılır. Ago2, GW-182 gibi proteinlerle beraber miRISC kompleksini oluşturur ve bu kompleks, miRNA'ların hedeflenmesi ve düzenlenmesi süreçlerinde önemli bir işlev üstlenir. GW-182 proteini, multiveziküler cisimlerle bir araya gelerek miRNA'ların eksozomal olarak sıralanmasını kolaylaştırır. A, B ve C olarak adlandırılan eksozomlar, kaynak hücrelerden salındıkları ve belirli miRNA dizileri ile ilişkili proteinler (RBP'ler) ile donatıldıkları için belirli biyolojik rollere sahiptir. Eksozom A, RNA bağlayıcı protein hnRNPA2B1 ile bağlantılı miRNA'ları (EXOmotif içeren) barındırır. Eksozom B ise RNA bağlayıcı protein SYNCRIP/hnRNPQ ile etkileşimde bulunan ve HEXOmotif taşıyan HEXOmRNA'lar içerir. Eksozom C, RNA endüstrisinin önemli bir bileşeni olan Ago2 proteinine bağlı miRNA'ları içermektedir. Bu proteinler ve miRNA'lar, eksozomların hedef hücreler üzerindeki etki şekillerinde ve gen ifade süreçlerinin düzenlenmesinde önemli görevler üstlenir (Wani ve ark., 2020) (Şekil 2-26).

Tümör kaynaklı eksozomal miRNA'ların hücre gelişimi ve farklılaşması üzerindeki etkileri göz önüne alındığında, özellikle nazofarenks karsinomu (NPC) örneğinde tespit edilen durum önemlidir. Bu durumda, eksozomlar aracılığıyla aşırı derecede ifade edilen miR-24-3p, miR-891a, miR106a-5p, miR-20a-5p ve miR1908, hücre büyümesi ve farklılaşma süreçlerini etkileyerek MARK1 sinyal yolunu engellemiş ve bu durum patolojik süreçlerde belirgin değişimlere sebep olmuştur (Ye ve ark., 2014).

Anjiyogenez, tümör hücrelerinin büyümeleri ve yayılmaları için ihtiyaç duydukları kan damarlarını oluşturarak gelişimlerini destekleyen önemli bir süreçtir. Bu aşamada, eksozomal miR-21 gibi belirli miRNA'lar, VEGF gibi önemli sinyal moleküllerinin üretimini artırarak anjiyogenezi teşvik eder ve bu sayede tümörün beslenme ve oksijen gereksinimlerini karşılamak amacıyla yeni damar sistemleri meydana gelir (Y. Liu ve ark., 2016).

Metastaz, kanserin en yıkıcı aşaması olarak görülmektedir ve tümör hücrelerinin ana yerden farklı organlara taşınmasını kapsar. Eksozomal miRNA'lar, bu durumun farklı aşamalarında kritik bir işlev üstlenir. Özellikle, eksozomal miR-105, metastazı artırmak amacıyla endotel hücrelerinde bulunan ZO-1 sıkı bağlantı proteinini hedef almaktadır. Bu etkileşim, tümör hücrelerinin damar bariyerlerini aşarak yeni metastatik hedeflere ulaşmalarını sağlar. Bu mekanizma, akciğer ve beyin gibi uzak organların tümörleşmesini mümkün kılar ve kanserin yayılmasında önemli bir aşamadır (Zhou ve ark., 2014). Ayrıca gerçekleştirilen araştırmalar, miR-21, miR-29a ve miR-122 gibi eksozomal miRNA'ların, kanser metastazında önemli roller üstlendiğini göstermiştir. Bu miRNA'lar, tümör hücrelerinin farklı dokulara dağılmasını kolaylaştırarak hastalığın gelişimini etkileyebilir (Fabbri ve ark., 2013; Fong ve ark., 2015; Liao ve ark., 2016).

Kanser tedavisindeki ilaçlara karşı direnç, tedavinin etkisiz olmasının başlıca sebeplerinden biridir. Eksozomal miRNA'lar, ilaçlara karşı direnç geliştiren mekanizmalarda da rol oynar. Örneğin, eksozomal miR-100-5p'nin az miktarda bulunması, sisplatin gibi kemoterapi ilaçlarına karşı direnç oluşumunu başlatır. Bu miRNA'ların eksozomlar aracılığıyla iletimi, hedef hücrelerde tedaviye yanıtı etkileyebilir ve bu da daha etkili tedavi yöntemlerinin tasarlanması için yeni fırsatlar sağlar (X. Qin ve ark., 2017).

Eksozomların genel biyolojik süreçlerde ve özellikle kanser gelişiminde oynadıkları kritik roller, PKa araştırmalarında eksozomal miRNA'ların giderek önem kazanmasına yol açmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, eksozomal miRNA'ların tümörün ilerleyişi, tedaviye yanıtı ve prognoz ile olan ilişkilerini ortaya koymuştur. Bu genel biyolojik işlevler ışığında, PKa'da eksozomlar ve özellikle taşıdıkları miRNA'lar, özgün biyobelirteçler ve terapötik hedefler olarak giderek daha fazla araştırılmaktadır.

PKa'da Eksozomal miRNA'lar

Geleneksel biyobelirteçlerin eksiklikleri, bilim insanlarını PKa teşhis ve tedavisinde yenilikçi ve doğru tespit ile prognoz sağlayan moleküler hedefler bulmaya yönlendirmiştir. Bu hedefler, agresif ve agresif olmayan PKa'yı ayırt etmede yardımcı olmaktadır (Filella ve Foj, 2018). Bu bağlamda, eksozomal miRNA'lar, son dönemlerde PKa'nın biyolojik süreçlerini kavramada ve tanı yöntemlerini geliştirmede önemli bir unsur olarak dikkat çekmiştir (Preethi ve ark., 2022). Bu moleküller, PKa'nın gelişim ve ilerleme süreçlerini etkileyerek, teşhis ve tedavi yöntemlerine farklı bir perspektif kazandırmaktadır (Chakraborty ve ark., 2023).

Tablo 2-5'te, PKa ile bağlantılı eksozomal miRNA'ların etkileri, biyolojik sıvılardaki mevcudiyetleri ve bu miRNA'ların hastalık teşhisi, prognozu ve tedavi aşamalarındaki işlevleri ayrıntılı bir şekilde açıklanmaktadır. Bu tabloda, çeşitli araştırmalarda belirlenen miRNA'ların işlevleri, ilgili biyolojik süreçler ve klinik uygulamalardaki olası faydaları düzenli bir biçimde aktarılmaktadır.

Tablo 2-5: PKa Hastalarından Elde Edilen Farklı Biyosıvılardaki Eksozomal miRNA Profilleri ve Klinik İşlevleri (Akoto ve Saini, 2021; Ying ve ark., 2023)

Eksozom Kaynağı	Eksozom Bileşenleri	Uygulamalar	PKa'daki Rolü	Referans
Serum	miR-375, miR-141	Teşhis belirteçleri	Tümör ilerlemesini artırır	(Bryant ve ark., 2012)
Plazma	miR-1290, miR-375	Prognostik belirteçler	KDPK'ye ilerlemeye katkıda bulunur	(Huang ve ark., 2015)
İdrar	miR-196a-5p, miR-501-3p, miR34a-5p,	Teşhis belirteçleri	PKa'da aşağı regüle edilir	(Rodríguez ve ark., 2017)

	miR-92a-1-5p, miR-143-3p			
İdrar	miR-574-3p, miR-141-5p, miR-21-5p	Teşhis belirteçleri	PKa'da yukarı regüle edilir	(Samsonov ve ark., 2016)
Serum	miR-1246	Teşhis belirteçleri	PKa'da agresifliği tahmin eder	(Bhagirath ve ark., 2018)
Serum	miR-221	Teşhis belirteçleri	Metastatik PKa'da önemli ölçüde daha yüksektir	(Agaoglu ve ark., 2011)
İdrar	miR-141, miR-21, miR-375	Teşhis belirteçleri	PKa'da yukarı regüle edilir	(Foj ve ark., 2017)
İdrar	miR-2909	Teşhis belirteçleri	PKa'da agresifliği tahmin eder	(Wani ve ark., 2017)
Meni	miR-221-3p, miR-222-3p	Prognostik belirteçler	PKa'nın prognozunu belirler	(Ruiz-Plazas ve ark., 2021)
Meni	miR-342-3p, miR-374b-5p	Prognostik ve Teşhis belirteçler	Yüksek riskli PKa'yı ayırt eder	(Barceló ve ark., 2019)
İdrar	miR-19b	Teşhis belirteçleri	PKa'da yukarı regüle edilir	(Bryzgunova ve ark., 2016)
Plazma	miR-423-3p	Prognostik belirteçler	KDPK'ye ile spesifik bağlantılı	(Guo ve ark., 2021)
İdrar	miR-532-5p	Prognostik belirteçler	Kötü bir prognoz olan BCR ile ilişkilidir	(Kim ve ark., 2021)
Hücre Hatları	miR-425-5p	Prognostik belirteçler	PKa'da yukarı regüle edilir	(Rode ve ark., 2021)
İdrar	miR-636, miR-21, miR-451	Prognostik belirteçler	Metastatik PKa ile ilişkili	(Shin ve ark., 2021)

Eksozomal miR-141 ve miR-375, PKa tanısı almış bireylerin serumunda belirgin şekilde artmış seviyelerde bulunur. Bu özel miRNA'lar kan ve idrar gibi vücut sıvılarından ayrılabilir, bu da onları invazif olmayan tanı belirteçleri için cazip kılar (Bryant ve ark., 2012). Ek olarak miR-1290 ve miR-375 gibi eksozomal miRNA'lar, umut verici prognostik biyobelirteçler olarak hizmet eder. Bu miRNA'lar, ileri evre hastalıklarla ilişkili olup, KDPK'nin seyrini tahmin etme potansiyeline sahiptir; bu aşama, kötü bir prognoz ve sınırlı tedavi olanakları ile tanımlanan önemli bir evredir (Huang ve ark., 2015). Eksozomal miR-1246'nın benign, agresif ve normal PKa tiplerini ayırma yeteneği olan önemli bir biyobelirteç olduğu gösterilmiştir. Araştırmalarda, agresif PKa'da miR-1246 düzeylerinin, BPH ve normal prostat dokusuyla karşılaştırıldığında çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Bhagirath ve ark., 2018). Bununla birlikte, idrarda yüksek miktarda eksozomal miR-2909'un varlığının, PKa'nın ne kadar agresif olduğunu anlamada önemli bir belirti olduğu ifade edilmiştir (Wani ve ark., 2017). Başka bir araştırmada, idrardaki mikroveziküllerde bulunan miR-19b'nin PKa'nın teşhisinde önemli bir biyobelirteç olarak işlev görebileceği ortaya konmuştur. Bu miRNA, hastaların sağlıklı kişilerden ayrılmasında yüksek hassasiyet ve özgünlük sağlayarak, tanı aşamasında destekleyici bir ölçüt olma ihtimali taşımaktadır (Bryzgunova ve ark., 2016). Farklı bir araştırmada, KDPK'de plazma eksozomal miR-423-3p seviyelerindeki artışın, ADT tedavisinin etkisi ile bağlantılı olmadığı tespit edilmiştir. Bu sonuç, miR-423-3p'nin artan düzeyinin, KDPK'nin ortaya çıkışında bir etken ya da sonuç olabileceğini göstermektedir (Guo ve ark., 2021).

Eksozomal miRNA'lar, kanserin biyolojik yapısını kavramada ve biyobelirteç olarak değerlendirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu çalışma, PKa'nın moleküler süreçlerini daha iyi anlamak amacıyla spesifik miRNA'ların olası işlevlerini incelemiştir. PKa'yı hedef alan yeni biyobelirteçlerin bulunması, tanı ve tedavi aşamalarında önemli bir gelişim sağlayabilir. Bu çalışmada, PKa hastalarından elde edilen idrar örneklerinde daha önce analiz edilmemiş olan eksozomal miR-1250, miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a miRNA'larının miktar belirleme çalışmaları ile hastalara ait klinik bilgiler göz önünde bulundurulmuştur. Bu miRNA'ların incelenmesi, PKa'nın erken teşhisinde olası yeni biyobelirteçlerin belirlenmesine imkân tanımaktadır. Araştırmanın sonuçları, bu miRNA'ların PKa biyolojisi ve tedavi yöntemlerindeki olası etkilerini detaylı bir şekilde değerlendirmek için bir zemin hazırlar ve gelecekteki araştırmalar için yeni fırsatlar sunar.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Materyal

Tez çalışmasına 2023-2024 yılları arasında İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'na başvuran, daha önce prostat kanseri tedavisi almamış, radyolojik ve patolojik incelemelerle primer veya metastatik prostat kanseri tanısı doğrulanmış 18 yaş ve üzeri erkek hastalar dahil edilmiştir. Çalışma protokolü 25 Kasım 2022 tarihli İstanbul Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu toplantısında 2022/1940 dosya numarası ile onaylanmıştır. Tüm katılımcılara çalışmanın amacı ve yöntemleri detaylı şekilde anlatılarak yazılı bilgilendirilmiş onam formları imzalatılmıştır.

Başlangıçta çalışmaya 30 hasta alınmış olup, bu hastalardan hastaneye yatışları sırasında rutin tetkiklerle birlikte idrar örnekleri toplanmıştır. Ancak bir hastadan elde edilen idrar örneğinden yeterli miktarda eksozomal miRNA ekspresyon verisi saptanamadığı için bu hasta çalışma dışı bırakılmış ve nihai analizler 29 hasta ile yürütülmüştür. Kontrol grubu ise hasta grubuyla yaş ve cinsiyet açısından uyumlu, herhangi bir kanser tanısı bulunmayan, bilgilendirilmiş onamı alınmış 20 sağlıklı bireyden oluşturulmuştur. Çalışmaya dahil edilme ve hariç tutulma kriterlerinin detayları Tablo 3-1'de özetlenmiştir.

Tablo 3-1: İnküzyon ve Eksklüzyon Kriterleri

İnküzyon Kriterleri	Eksklüzyon Kriterleri
2023–2024 yılları arasında İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'na başvurarak “primer veya metastatik prostat kanseri” tanısı konmuş olmak	Prostat dışı bir malignite öyküsü veya eş zamanlı başka bir kanser tanısı
Daha önce hiçbir sistemik veya lokal tedavi (cerrahi, kemoterapi, hormonoterapi, radyoterapi) almamış olmak	Son 6 ay içinde sistemik kemoterapi, hormonoterapi veya radyoterapi almış olmak
Yaş $\geq$ 18	İleri evre kalp-damar hastalıkları, kronik böbrek yetmezliği, ağır karaciğer fonksiyon bozukluğu gibi önemli komorbiditeler
Klinik durumunun çalışmaya uygun olduğu ve yazılı onam formunu imzalayarak çalışmaya katılmayı kabul etmiş olmak	Çalışma sırasında eksozomal miRNA izolasyonu için yeterli idrar veya doku örneği elde edilememesi
	Çalışmaya katılmayı reddetmek veya yazılı onam formu imzalamamak

3.1.2. Kimyasallar ve Malzemeler

miRCURY Exosome Cell/Urine/CSF Kit (QIAGEN, Almanya; 76743)

miRNeasy Micro Kit (QIAGEN, Almanya; 217084)

miRCURY LNA RT Kit (QIAGEN, Almanya; 339340)

miRCURY LNA miRNA PCR Assay (QIAGEN, Almanya; 339306)

QIAcuity EG PCR Kit (QIAGEN, Almanya; Master Mix)

QIAcuity Nanoplate 8.5k 96-well (QIAGEN, Almanya; 250021)

Kloroform (Merck, Almanya)

%100 Etanol (Sigma-Aldrich, ABD)

%80 Etanol

3.1.3. Kullanılan Cihazlar

+4 °C Buzdolabı (VESTEL)

-80°C Derin Dondurucu (SANYO)

Santrifüj (JOUAN B4i)

Soğutmalı Santrifüj (NÜVE NF 800)

Soğutmalı Santrifüj (EPPENDORF CENTRIFUGE 5417R)

UV-lambalı PCR Kabini (BIOSAN UVT-B-AR)

Laminar Flow Kabin (Biosafety Cabinet Class II)

QIAcuity One dPZR Cihazı (QIAGEN, Almanya)

NanoDrop (THERMO SCIENTIFIC NANODROP ONE C, ABD)

Mikropipetler (GILSON, EPPENDORF)

Kriyojenik saklama tüpü (NEST, CORNING)

3.1.4. İstatistiksel Analiz

Çalışmada nitel değişkenlerin tanımlayıcı istatistikleri, sayı ve yüzdelerle sunulmuş, nicel değişkenlerin tanımlayıcı istatistikleri ise ortalama $\pm$ standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerler olarak verilmiştir. Nicel değişkenlerin normal dağılıma uyumları ise Shapiro Wilk testi aracılığıyla incelenmiştir. İki bağımsız

grup arasındaki ortalamaların karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi uygulandı. Nitel değişkenler arasındaki bağlantıların analizi için Pearson Ki-Kare veya Fisher Kesin Ki-Kare testleri kullanıldı. Ekspresyon verisinin grupları ayırmadaki etkinliğini değerlendirmek için AUC (Area Under the Curve) değerleri belirlendi ve ROC (Receiver Operating Characteristic) analizi gerçekleştirildi. En ideal eşik değerleri ise Youden indeksine dayanarak belirlendi. Nicel değişkenler arasındaki bağlantıların incelenmesinde Spearman korelasyon analizi uygulandı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ alındı, hesaplamalarda SPSS 28.0 versiyonu (SPSS, Chicago, USA) paket programı kullanıldı.

3.2. Deney Yöntemleri

3.2.1. İdrar Örneklerinin Hazırlanması

İdrar örnekleri alındıktan sonra, 15 ml'lik Falcon tüplerine aktarıldı ve 3000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonrasında, temiz süpernatant dikkatlice yeni bir 15 ml'lik falcon tüpe alındı ve homojen bir yapı elde edilene kadar 5-10 kez pipetle karıştırıldı. Homojenize edilen bu örnekler, 1.0 ml olarak yeni eppendorf tüplere eşit miktarda dağıtıldı. Daha sonraki çalışmalar için kullanılmak üzere, örnek kalitesinin korunması amacıyla tüm idrar örnekleri -80°C 'de saklanmak üzere derin dondurucuya yerleştirildi.

3.2.2. İdrar Örneklerinden Eksozomların İzolasyonu

Toplanan idrar örneklerinden eksozomların elde edilmesi, idrar materyaline özel olarak tasarlanmış “miRCURY Exosome Cell/Urine/CSF Kit (QIAGEN, Almanya)” kullanılarak, üretici firmanın sağladığı protokole uygun bir şekilde gerçekleştirildi. Buna göre;

-80°C 'de saklanan ve 1.0 ml'lik alikotlara ayrılmış idrar örnekleri, çözülene kadar (yaklaşık yarım saat) oda sıcaklığında bekletildi. Çözündükten sonra, her bir 1.0 ml örnek yeni bir 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. Kitin bir bileşeni olan “Precipitation Buffer B” nazıkçe karıştırılarak her bir idrar örneğine 400 μl eklendi. Tüplerin kapakları kapatılarak örnekler 5 saniye boyunca vorteks yapılarak karıştırıldı. Daha sonra tüpler, 60 dakika boyunca $+4^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edildi. İnkübasyon işleminin ardından, örnekler $10,000 \times g$ 'de, 20°C 'de, 30 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonrası süpernatant dikkatlice alınarak atıldı ve pelet oluşumu kontrol edilmek üzere tüpler ışığa tutularak incelendi. Ortamda kalmış olabilecek süpernatant

kalıntılarını uzaklaştırmak için peletler 5 saniye süreyle tekrar santrifüj edilerek kalan süpernatant atıldı. Peletler, depolama veya eksozom analizi için kullanılmak üzere 100 µl kitin bir diğer bileşeni olan “Resuspension Buffer” ile yeniden süspanse edildi ve 15 saniye vorteks yapılarak karıştırıldı. Elde edilen örnekler, 3 güne kadar +4°C’de saklandı. Daha uzun süre saklanması gereken ve RNA izolasyonu yapılmayacak örnekler -20°C’de muhafaza edildi.

3.2.3. Eksozomlardan miRNA İzolasyonu

Elde edilen eksozomlardan miRNA izolasyonu, miRNA’ya özel “miRNeasy® Micro Kit (QIAGEN, Almanya)” kullanılarak gerçekleştirilmiş ve tüm işlemler üretici firmanın verdiği protokole uygun şekilde yürütülmüştür. Buna göre;

Süspanse haldeki eksozom örneğinin üzerine 700 µl kitin bir bileşeni olan “QIAzol Lysis Reagent” eklendi ve 1 dakika boyunca vorteks yapılarak homojen hale getirildi. Homojenize edilen karışım, oda sıcaklığında (15-25 °C) 5 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında, homojenat üzerine 140 µl kloroform eklendi, tüpün kapağı güvenli bir şekilde kapatılarak 15 saniye şiddetle çalkalandı ve ardından 30 saniye vorteks yapıldı. Hazırlanan karışım oda sıcaklığında 2-3 dakika inkübe edildikten sonra, eppendorf tüpleri +4°C’de 12.000 x g’de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonunda, üstteki sulu faz dikkatlice alınarak 300-350 µl olacak şekilde yeni bir eppendorf tüpe aktarıldı. Üst sulu faza 1.5 hacim (genellikle 525 µL) %100 etanol eklendi ve pipetaj yapılarak iyice karıştırıldı. Karışım, kitin bir diğer bileşeni olan “miRNeasy MinElute Spin Kolonu”na (yaklaşık 700 µL) aktarılmış, kolonun kapağı kapatılmış ve oda sıcaklığında (15-25°C) $\geq 8000 \times g$ ’de 15 saniye santrifüj edildi. Örneğin tamamı spin kolona aktarılan kadar bu santrifüj adımı tekrarlandı ve her santrifüj sonrasında toplama tüpünde biriken sıvı uzaklaştırıldı.

Spin kolon, 2 mL’lik yeni bir toplama tüpüne aktarıldı ve üzerine 700 µL kit içerisinde bulunan “Buffer RWT” eklenerek oda sıcaklığında (15-25°C) $\geq 8000 \times g$ ’de 15 saniye santrifüj edildi. Santrifüj sonrası toplama tüpünde biriken sıvı uzaklaştırıldı ve spin kolona 500 µL kit içerisinde bulunan “Buffer RPE” eklendi. Kolon, nazikçe kapatıldı ve $\geq 8000 \times g$ ’de 15 saniye santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında toplama tüpünde biriken sıvı uzaklaştırıldı. Ardından, kolona 500 µL %80 etanol eklendi ve $\geq 8000 \times g$ ’de 2 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra, spin kolon toplama tüpündeki sıvıyla temas etmeden dikkatlice çıkarıldı. Toplanan sıvı ve toplama

tüpü santrifüj işleminin sonunda atıldı. Spin kolon, 2 mL'lik yeni bir toplama tüpüne aktarıldı ve kolon membranının kuruması için kolonun kapağı açılarak $\geq 8000 \times g$ 'de 5 dakika santrifüj edildi. Daha sonra, spin kolon yeni bir 1.5 mL'lik toplama tüpüne aktarıldı ve kolon membranına 14 μ L RNaz içermeyen su pipetlendi. Kolon, nazikçe kapatıldıktan sonra, miRNA ile zenginleştirilmiş fraksiyonu elüte etmek için $\geq 8000 \times g$ 'de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonucunda, toplama tüpünde yaklaşık 10 μ L'lik RNA içeren sıvı elde edildi ve bu fraksiyon sonraki aşamalarda kullanılacak miRNA örneğimizdir.

3.2.4. miRNA'ların Saflık ve Konsantrasyon Analizleri

“miRNeasy Micro Kit (QIAGEN, Almanya)” kullanılarak izole edilen, miRNA açısından zengin ve 200 nt'den kısa RNA'ların saflık ve konsantrasyon analizleri, NanoDrop cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Her bir miRNA örneğinden 1 μ L alınarak analiz yapıldı.

3.2.5. cDNA Sentezi

miRNA'lardan cDNA sentezi işlemi, “miCURY LNA RT Kit (QIAGEN, Almanya)” kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm reaksiyonlar, RNA'nın bozunmasını en aza indirmek amacıyla buz üzerinde hazırlandı. dNTP'ler, kitin bileşenleri arasında yer aldığından dolayı ekstra dNTP eklemesine gerek duyulmadı. RT primeri, kitin bir parçası olan “5X miRCURY RT Reaction Buffer” içerisinde bulunurken, kitin bir diğer bileşeni olan “10X miRCURY RT Enzyme Mix” hem poli(A) polimeraz hem de ters transkriptaz enzimlerini içermektedir. Tüm adımlar, üretici firmanın sağladığı protokol doğrultusunda eksiksiz bir şekilde uygulandı. Buna göre;

Kitin bir parçası olan “5X miRCURY RT Reaction Buffer” ve “10X miRCURY RT Enzyme Mix” buz üzerinde çözünmesi sağlandı. Tüpler vortex yapılarak karıştırıldı ve yan duvarlardaki sıvıları toplamak amacıyla kısa bir süre santrifüj edildi. Daha sonra tüpler yeniden buz üzerine yerleştirildi. Her bir örnek için Tablo 3-2'de belirtilen miktarlarda bileşenler, 200 μ L'lik eppendorf tüplerinde karıştırılarak hazırlandı.

Tablo 3-2: Ters transkripsiyon reaksiyon bileşenleri

Bileşenler	Miktar
5X miCURY RT Reaction Buffer	2 µL
10X miCURY RT Enzyme Mix	1 µL
RNase-free water	4 µL
RNA Örneği (ng/µL)	3 µL
Toplam reaksiyon hacmi	10 L

Hazırlanan örnekler, 60 dakika boyunca 42 °C’de inkübe edildi. İnkübasyonun ardından, ters transkriptaz enziminin inaktivasyonu amacıyla örnekler 5 dakika boyunca 95 °C’de inkübe edildi. Tablo 3-3’de belirtilen inkübasyon süreçleri tamamlandıktan sonra, tüm örnekler, kalite kaybını önlemek amacıyla -80°C’de saklanmak üzere derin dondurucuya yerleştirildi.

Tablo 3-3: Ters transkripsiyon reaksiyonu sıcaklık protokolü

Adım	Süre	Sıcaklık
Ters transkripsiyon adımı	60 dakika	42 °C
Reaksiyonun inaktive edilmesi	5 dakika	95°C
Saklama	∞	4 °C

3.2.6. Dijital Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Dijital Polimeraz Zincir Reaksiyonu (dPZR), kesin ve kantitatif gen analizi için kullanılan geliştirilmiş bir PCR tekniğidir. Geleneksel PCR ve qPCR yaklaşımlarından farklı olarak, dPZR, tek bir DNA veya RNA molekülünün amplifikasyonunu ayrı reaksiyon alanlarında gerçekleştirir. Bu yöntem, bir örneği binlerce mikroreaksiyon

alanına ayırarak genetik materyalin kesin ölçümünü sağlar. Her alan, ya hedef genin varlığı (pozitif) ya da yokluğunu (negatif) gösterir. dPZR bulguları, alanlardaki pozitif tepkimelerin sayısına dayanarak toplam kopya sayısının hesaplanmasına imkan tanır. Bu teknoloji, özellikle düşük miktarda bulunan hedeflerin doğru bir şekilde tespitinde, varyant analizinde ve mutasyonların ölçümünde tercih edilmektedir. RNA veya DNA tabanlı analizlerde, dPZR'nin yüksek hassasiyeti ve doğruluğu, gen ekspresyon profillerinin incelenmesi, biyolojik belirteçlerin değerlendirilmesi ve klinik tanı gibi alanlarda kullanımını artırmıştır.

Bu çalışmada, eksozomal miR-1250, miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a genlerinin ekspresyon düzeyleri, ilgili genlere özgü miRNA primerleri (QIAGEN, Almanya) ve “miRCURY LNA miRNA PCR Assay Kit” (QIAGEN, Almanya) içerisinde bulunan EvaGreen PCR karışımı kullanılarak analiz edilmiştir. dPZR analizleri, QIAcuity One (QIAGEN, Almanya) cihazı aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Gen ifade analizi sırasında normalizasyon ve cDNA doğrulaması amacıyla referans gen olarak U6 geni kullanılmıştır. Tüm işlemler firmanın vermiş olduğu protokole uygun bir şekilde gerçekleştirildi. Buna göre;

A. Primerlerin Hazırlanması

Primerler, 4 miRNA (miR-1250, miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a) ve 1 kontrol miRNA'sını (U6) içerecek şekilde liyofilize halde -20 °C'de muhafaza edilmektedir. Primerlerin dPZR reaksiyonunda kullanılabilmesi için, tüplerde bulunan tüm liyofilize/toz materyalin bir araya toplanması amacıyla tüpler 1 dakika boyunca santrifüj edildi. Daha sonra, her bir tüpe 220 µL nükleaz içermeyen su eklendi ve tüpler hafifçe vortekslenerek toz materyalin tamamen çözünmesi sağlandı. Bu işlemin ardından, tüpler tekrar kısa bir süre santrifüj edilerek içerisindeki solüsyon homojen hale getirildi. Çözünmenin tamamlandığından emin olunduktan sonra, tüpler oda sıcaklığında 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Tüm bu işlemlerin sonucunda, 10X Primer Stok Solüsyonu (“miRCURY LNA PCR Assay”) hazır hale getirildi.

B. dPZR Reaksiyonunun Hazırlanması

cDNA örnekleri Nükleaz içermeyen su kullanılarak 1:10 oranında sulandırıldı. Kitin bir bileşeni olan “3X EvaGreen PCR Master Mix (green

channel)”, buz üzerinde çözündürüldü. Daha sonra, her bir örnek için Tablo 3-4’te belirtilen miktarlarda bileşenler, 200 µL’lik eppendorf tüplerinde bir araya getirilerek reaksiyonlar hazırlandı.

Tablo 3-4: Dijital PZR için reaksiyon bileşenleri

Bileşenler	Miktar
3x EvaGreen PCR Master Mix (green channel)	4 µL
miRCURY LNA PCR Assay (10x)	1.2 µL
RNase-free water	3.8 µL
cDNA örneği (1:10)	3 µL
Toplam reaksiyon hacmi	12 µL

Hazırlanan karışım, boş ve temiz bir 96 kuyucuklu PZR plakasının kuyularına, önceden planlanan deney düzenine uygun olarak, her bir kuyucuğa 12’şer µL olacak şekilde pipetlendi. “QIAcuity Nanoplate 8.5k” (QIAGEN, Almanya) çok dikkatli bir şekilde, plakanın alt yüzeyine dokunmamaya özen gösterilerek plakaya ait beyaz renkli taşıyıcı platform üzerine yerleştirildi. 96 kuyucuklu PZR plakasının kuyuları içerisine hazırlanan her bir örnek, deney düzenine uygun şekilde (Şekil 3-1), baloncuk oluşturmamaya dikkat edilerek “QIAcuity Nanoplate 8.5k”ın kuyucuklarına 12’şer µL olarak aktarıldı. Son olarak, “QIAcuity Nanoplate Kit” içerisinde bulunan “QIAcuity Nanoplate Seal” kullanılarak “QIAcuity Nanoplate 8.5k” dikkatlice kapatıldı.

C. Reaksiyon Koşullarının Belirlenmesi

QIAcuity One (QIAGEN, Almanya) cihazı için gerekli tüm ön ayarlar yapıldıktan sonra dPZR reaksiyonu için Tablo 3-5’te belirtilen döngü koşulları ayarlandı.

Tablo 3-5: Dijital PZR reaksiyonu döngü koşulları

Adım	Tekrar Sayısı	Sıcaklık	Süre
PCR başlangıç ısı aktivasyonu	1X	95°C	02.00
2 adımlı döngü	40X	Denatürasyon	95°C
		Annealing/Extension	60°C
Soğutma	1X	40°C	05.00

Görüntüleme amacıyla yalnızca “Green” kanal aktif hale getirildi ve diğer tüm kanallar devre dışı bırakıldı. Tüm ayarlar tamamlandıktan sonra, “QIAcuity Nanoplate 8.5k” dikkatli bir şekilde cihaza yerleştirildi ve önceden oluşturulan dPZR protokolü başlatıldı. Protokol tamamlandıktan sonra, “QIAcuity Nanoplate 8.5k” cihazdan çıkarıldı ve olası bir ikinci okuma için saklanmak üzere +4 °C’de buzdolabına kaldırıldı.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1	H1	S1	H1	S1	H1	S1	H1	S1	H1	<u>1</u>	
B	S2	H2	S2	H2	S2	H2	S2	H2	S2	H2	<u>2</u>	
C	S3	H3	S3	H3	S3	H3	S3	H3	S3	H3	<u>3</u>	
D	S4	H4	S4	H4	S4	H4	S4	H4	S4	H4	<u>4</u>	
E	S5	H5	S5	H5	S5	H5	S5	H5	S5	H5	<u>5</u>	
F	S6	H6	S6	H6	S6	H6	S6	H6	S6	H6		
G	S7	H7	S7	H7	S7	H7	S7	H7	S7	H7		
H	S8	H8	S8	H8	S8	H8	S8	H8	S8	H8		
	U6 (Kontrol Geni)		miR-1250		miR-1226-3p		miR-3662		miR-4436a		Kalıp cDNA içermeyen dPZR reaksiyon karışımı	

Şekil 3-1: Örnek Deney Düzeni

S: Sağlıklı birey örnekleri; **H:** Hasta birey örnekleri; **1:** U6 primeri ile oluşturulan kalıp cDNA içermeyen dPZR reaksiyon karışımı; **2:** miR-1250 primeri ile oluşturulan kalıp cDNA içermeyen dPZR reaksiyon karışımı; **3:** miR-1226-3p primeri ile oluşturulan kalıp cDNA içermeyen dPZR reaksiyon karışımı; **4:** miR-3662 primeri ile oluşturulan kalıp cDNA

içermeyen dPZR reaksiyon karışımı; 5: miR-4436a primeri ile oluşturulan kalıp cDNA içermeyen dPZR reaksiyon karışımı



4. BULGULAR

Bu araştırmaya, 2023-2024 yıllarında İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'na başvuran ve radyolojik ve patolojik incelemeler sonucunda primer veya metastatik PKa tanısı alan, daha önce tedavi görmemiş 18 yaş üstü erkek hastalar dahil edilmiştir. Çalışmaya katılım gösteren 29 prostat kanseri hastasından alınan idrar örnekleri, yaş ve cinsiyet bakımından hasta grubuyla uyumlu olarak seçilen ve aile öyküsünde kanser bulunmayan 20 sağlıklı bireyin idrar örnekleriyle karşılaştırılmıştır.

Toplamda 29 hastanın değerlendirildiği çalışmada, 23 hasta (%79,3) lokal PKa'ya, 6 hasta (%20,7) ise 3. veya 4. evre metastatik PKa'ye sahiptir. Hastaların demografik ve klinik verileri değerlendirildiğinde, yaş ortalaması $63,93 \pm 4,27$ olarak hesaplanmıştır. Hastaların TNM evreleri, primer/metastatik durumları, aile öyküsü ve yaşam alışkanlıklarına ilişkin sayısal ve yüzdelik dağılımlar Tablo 4-1'de sunulmuştur. Tümör evreleri değerlendirildiğinde, en yüksek orana sahip hastalar %41,4 ile evre 2'de yer alırken, bunu %31,0 ile evre 3 ve %20,7 ile evre 4 izlemektedir. En düşük oransa %6,9 ile evre 1'de görülmektedir. Hastaların %72,4'ü sigara kullanırken, %27,6'sı ise sigara kullanmamaktadır. Alkol kullanım durumuna bakıldığında ise hastaların büyük bir kısmı (%86,2) alkol kullanmazken, %13,8'lik bir kısmı alkol kullanmaktadır. Aile öyküsü açısından değerlendirildiğinde, %20'sinin ailesinde prostat veya farklı kanser öyküsü bulunurken, %80'ininde aile öyküsü bulunmamaktadır.

Tablo 4-1: Çalışma Grubunun Demografik, Klinik ve Bağımlılık Verilerine Göre Dağılımı

Özellik		Sıklık	Değer Yüzdesi (%)
Tümör Evresi	<i>Evre 1</i>	2	6,9
	<i>Evre 2</i>	12	41,4
	<i>Evre 3</i>	9	31
	<i>Evre 4</i>	6	20,7
Primer/Metastatik Durum	<i>Primer</i>	23	79,3
	<i>Metastatik</i>	6	20,7
Aile Öyküsü	<i>Yok</i>	24	82,8
	<i>Var</i>	5	17,2
Sigara Kullanımı	<i>Kullanmayan</i>	8	27,6
	<i>Kullanan</i>	21	72,4
Alkol Kullanımı	<i>Kullanmayan</i>	25	86,2
	<i>Kullanan</i>	4	13,8

4.1. miRNA Safılık Ölçümü

Hasta ve kontrol gruplarından alınan idrar örneklerindeki eksozomlardan, miRNeasy® Micro Kit (QIAGEN, Almanya) kullanılarak miRNA izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen miRNA'ların konsantrasyonları, NanoDrop (Thermo Scientific Nanodrop One C) cihazı ile ölçülmüştür.

4.2. miRNA Ekspresyon Bulguları

Bu çalışmada PKa tanısı almış 29 hastadan ve sağlıklı kontrol grubundaki 20 bireyden alınan idrar örneklerinden elde edilen eksozomlar üzerinde miR-1226-3p, miR-1250, miR-3662 ve miR-4436a miRNA'larının ekspresyon seviyeleri incelenmiştir. Ekspresyon analizleri dPZR kullanılarak yapılmış ve U6 referans genine göre normalize edilmiş kopya sayısı değerleri hesaplanmıştır. miR-1250 ekspresyon düzeyi, PKa hastaları ile sağlıklı bireylerden elde edilen idrar örneklerinden izole edilen eksozomlarda tespit edilemediğinden dolayı istatistiksel analizlere dahil edilmemiştir. Gen ekspresyon seviyeleri normal dağılım göstermediği için, iki bağımsız grup arasındaki fark Mann–Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. Her miRNA için hasta ve sağlıklı gruptaki ortalama, medyan, standart sapma, minimum ve maksimum kopya sayısı değerleri Tablo 4-2'de verilmiştir.

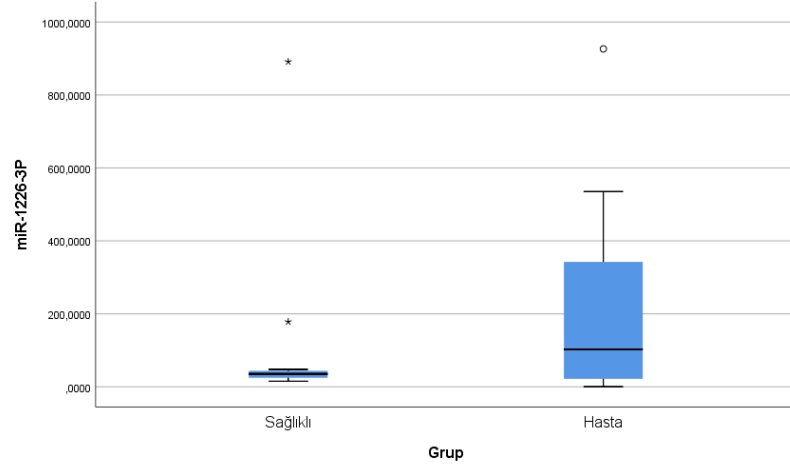
Tablo 4-2: Prostat Kanseri Hastalar ve Sağlıklı Bireylerde miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a Gen Ekspresyonlarına Ait Tanımlayıcı İstatistiksel Değerler

miRNA	Grup	N	Ort.± SS	Medyan (Min-Maks)	p Değeri
miR-1226-3p	Sağlıklı	20	106,01 ± 195,67	39,93 (15,37-891,2)	0,017
	Hasta	29	206,35 ± 213,96	133,28 (0,2-926,3)	
miR-3662	Sağlıklı	20	8254,77 ± 4361,13	7660 (1195-16014,8)	0,045
	Hasta	29	5597,67 ± 3117,87	6642,83 (518-10249,2)	
miR-4436a	Sağlıklı	20	400,35 ± 276,7	392,35 (0-963,4)	0,008
	Hasta	29	210,35 ± 231,77	120,13 (15,03-962,9)	
N: Örneklem sayısı, SS: Standart Sapma, Ort: Ortalama, Min: Minimum, Maks: Maksimum Kopya sayısı değerleri, U6 referans genine göre normalize edilmiştir.					

Hasta ve sağlıklı bireyler arasında miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a ekspresyon düzeyleri Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldığında, üç miRNA için de gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir.

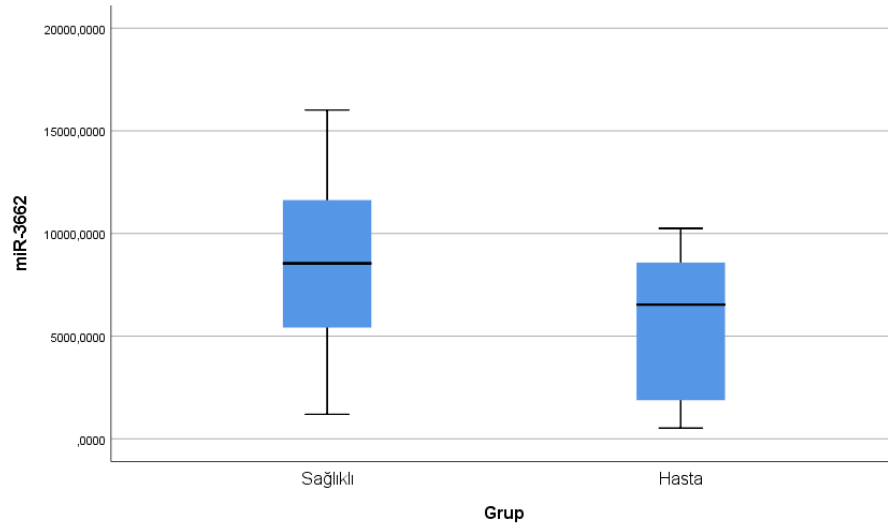
Prostat kanserli hastalarda miR-1226-3p ekspresyon düzeyi ortalaması 206,35 ± 213,96, sağlıklı bireylerde ise 106,01 ± 195,67 olarak bulunmuştur. Hasta grubunda

miR-1226-3p ekspresyon düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,017$) (Şekil 4-1).



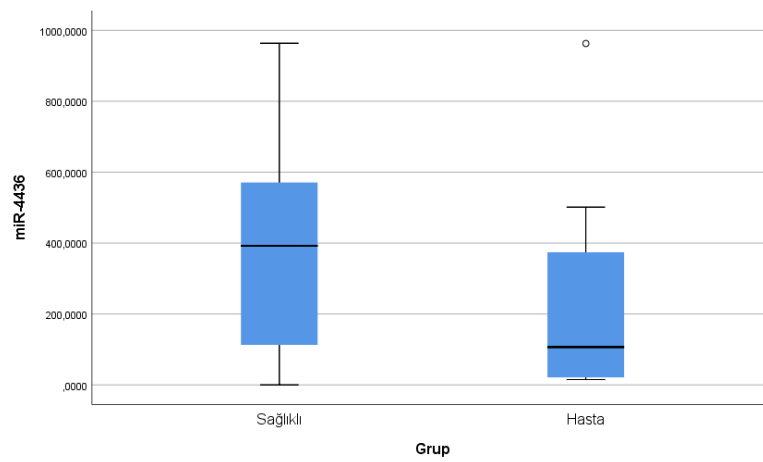
Şekil 4-1: Prostat Kanseri Hastalarında ve Sağlıklı Kontrollerde miR-1226-3p Kopya Sayısı Dağılımları

miR-3662 ekspresyon düzeyi hasta grubundaki ortalama değeri $5597,67 \pm 3117,87$, sağlıklı bireylerde ise $8254,77 \pm 4361,13$ olarak ölçülmüş ve bu miRNA'nın hasta grubunda ekspresyon düzeyi istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olduğu belirlenmiştir ($p=0,045$) (Şekil 4-2).



Şekil 4-2: Prostat Kanserli Hastalarda ve Sağlıklı Kontrollerde miR-3662 Kopya Sayısı Dağılımları

Benzer şekilde, miR-4436a ekspresyon düzeyi ortalaması hastalarda $210,35 \pm 231,77$, sağlıklı bireylerde $400,35 \pm 276,7$ olarak tespit edilmiştir. Bu fark da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve miR-4436a ekspresyon düzeyi hasta grubunda belirgin şekilde düşük olarak değerlendirilmiştir ($p=0,008$) (Şekil 4-3). Bu sonuçlar, bu üç miRNA'nın PKa ile ilişkili olabileceğini göstermektedir ($p<0,05$).



Şekil 4-3: Prostat Kanserli Hastalarda ve Sağlıklı Kontrollerde miR-4436a Kopya Sayısı Dağılımları

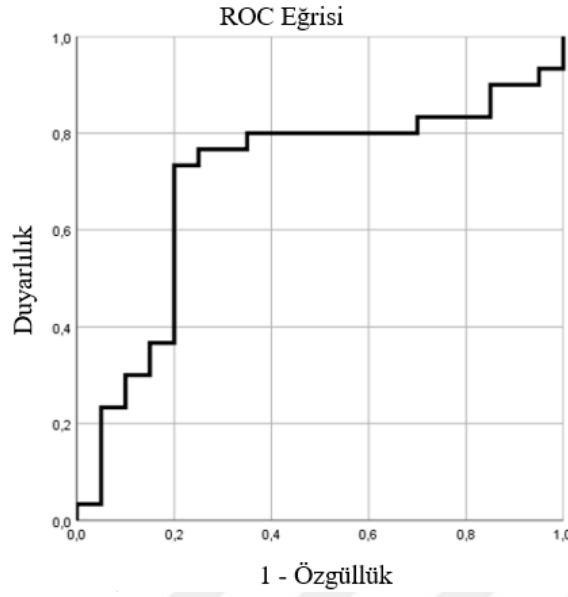
4.3. ROC Analizleri

Çalışmada ROC (Receiver Operating Characteristic) analizi kullanılmıştır. ROC analizi, bir testin ya da sınıflandırma modelinin ayırıcı yeteneğini ölçmek amacıyla kullanılan bir istatistiksel tekniktir. ROC eğrisi, doğru pozitif oranının (TPR, sensitivity) yanlış pozitif oranıyla (FPR, 1-specificity) olan bağlantısını gösteren bir grafik türüdür ve testin değişik eşik seviyelerinde ayırt edici yeteneğini sergiler. ROC eğrisinin altındaki AUC, testin genel sınıflandırma etkinliğini ifade etmek için başvurulmuş bir kriterdir. AUC değeri 0 ile 1 arasında farklılık göstermektedir ve bu değer 1'e yakınlıkla testin tanı koyma yeteneğinin güçlendiği kabul edilmektedir. ROC analizinde ayrıca ideal eşik değerinin saptanması için Youden İndeksi (Sensitivite + Spesifite – 1) kullanılmıştır. Youden İndeksi, testin en iyi performansı gösterdiği noktayı belirlemeye yardımcı olur. Bu analiz kapsamında her bir miRNA için ROC eğrisi ve AUC değeri hesaplanmış olup, detaylar Tablo 4-3'de sunulmuştur.

Tablo 4-3: miRNA'lara Ait ROC Analizi Sonuçları

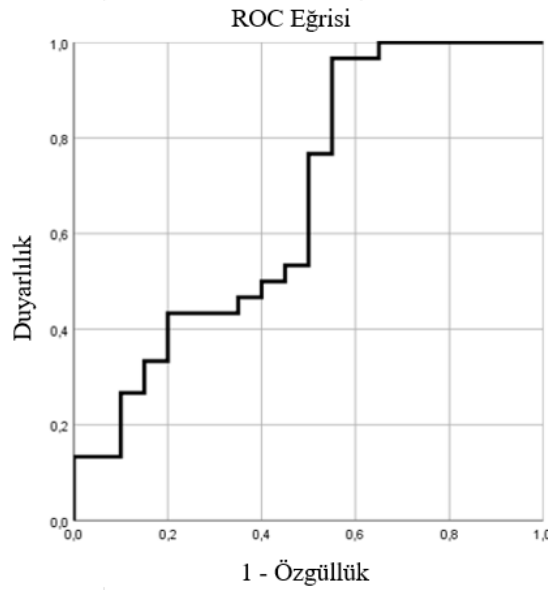
miRNA	AUC	p Değeri	%95 Güven Aralığı	
			Alt Sınır	Üst Sınır
miR-1226-3p	0,702	0,017	0,546	0,857
miR-3662	0,668	0,045	0,507	0,83
miR-4436a	0,722	0,008	0,57	0,873
<i>AUC: The area under the ROC curve</i>				

miR-1226-3p'ye ait ROC analizi sonuçlarına göre, elde edilen AUC değeri 0,702 olup bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,017$) (Tablo 4-3) (Şekil 4-4). Bu AUC değeri, miR-1226-3p ekspresyon düzeyinin prostat kanserli bireylerle sağlıklı bireyler arasında orta düzeyde ayırt edici güce sahip olduğunu göstermektedir. Hesaplanan AUC için %95 güven aralığı 0,546–0,857 olup, bu değer testin tanısal gücünü destekler niteliktedir. Kesim noktası 81,385 olarak belirlenmiştir. Youden indeksi 0,533 ile duyarlılık %73,3, seçicilik ise %80 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar, miR-1226-3p'nin PKa tanısında orta düzeyde ayırıcı güç sağladığını ve klinik uygulamada destekleyici bir biyobelirteç olabileceğini düşündürmektedir.



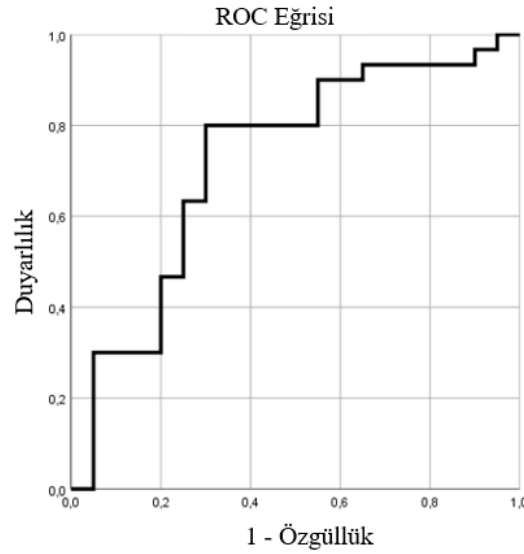
Şekil 4-4: miR-1226-3p için Prostat Kanseri Hastaları ve Sağlıklı Kontroller Arasında ROC Eğrisi

miR-3662 ekspresyon düzeylerine ait ROC analizi sonuçlarına göre, elde edilen AUC değeri 0,668 olup bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,045$) (Tablo 4-3) (Şekil 4-5). AUC değeri 0,5'in üzerinde olduğundan, miR-3662 ifadesinin prostat kanserli bireylerle sağlıklı bireyler arasında ayırt edici bir güce sahip olduğunu, ancak bu gücün sınırlı düzeyde olduğu değerlendirilmektedir. Hesaplanan AUC değeri için %95 güven aralığı 0,507–0,830 olup, bu aralık testin tanısal gücüne dair ek bilgi sunmaktadır. Kesim noktası 9491,4 olarak belirlenirken, Youden indeksi 0,417'dir. Duyarlılık %96,7 gibi oldukça yüksek olmasına karşın, seçicilik %45 düzeyindedir. Bu durum, miR-3662 ekspresyon düzeylerinin hasta bireyleri doğru tanımlamada başarılı olduğunu ancak sağlıklı bireylerde yalancı pozitifliklere yol açabileceğini göstermektedir. Bu nedenle tek başına tanısal kullanımda sınırlı, ancak diğer biyobelirteçlerle kombinasyon halinde daha faydalı olabileceği öngörülmektedir.



Şekil 4-5: miR-3662 için Prostat Kanseri Hastaları ve Sağlıklı Kontroller Arasında ROC Analiz Eğrisi

miR-4436a ekspresyon düzeylerine ait ROC analizi sonuçlarına göre, elde edilen AUC değeri 0,722 olup bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,008$) (Tablo 4-3) (Şekil 4-6). Bu değer, miR-4436a ekspresyon düzeyinin prostat kanserli bireyler ile sağlıklı kontroller arasında yüksek düzeyde ayırt edici güce sahip olduğunu göstermektedir. Hesaplanan AUC için %95 güven aralığı 0,570–0,873 olup, bu değer testin tanısal gücünü desteklemektedir. Kesim noktası 363,22 olarak belirlenmiş, Youden indeksi 0,5, duyarlılık %80 ve seçicilik %70 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler, miR-4436a ekspresyon düzeyinin PKa'yı ayırt etmede güvenilir bir biyobelirteç olabileceğini ve hem duyarlılık hem de seçicilik açısından dengeli bir performans sunduğunu göstermektedir.



Şekil 4-6: miR-4436a için Prostat Kanseri Hastaları ve Sağlıklı Kontroller Arasında ROC Analiz Eğrisi

4.4. Klinik Özelliklere Göre miRNA Ekspresyonlarının Karşılaştırılması

Bu çalışmada hastalara ait tümör evresi, primer/metastatik kanser durumu, aile öyküsü, sigara ve alkol kullanımı gibi klinik değişkenlerin, miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a miRNA'larının ekspresyon düzeyleri üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. İki bağımsız grup arasında yapılan karşılaştırmalar parametrik olmayan Mann-Whitney U testi ile analiz edilmiş, istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre klinik değişkenlerin miRNA ekspresyonları üzerindeki etkisi yorumlanmıştır.

4.4.1. Tümör Evresine Göre miRNA Düzeyleri

Evre 1 ve 2 hastalar “erken evre”, evre 3 ve 4 hastalar ise “ileri evre” olarak gruplandırılmış ve bu gruplar arasında miRNA ekspresyon düzeyleri karşılaştırılmıştır.

miR-1226-3p ekspresyon düzeyleri açısından erken evre hastalar ile ileri evre hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p=0,813$). miR-3662 ekspresyon düzeyleri açısından erken evre hastalar ile ileri evre hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p=0,715$). Benzer şekilde, miR-4436a ekspresyon düzeyleri için de erken evre hastalar ile ileri evre hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p=0,201$). Bu sonuçlara göre,

analiz edilen üç miRNA ifadesi açısından tümör evresi ile ilişkili anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir.

4.4.2. Primer/Metastatik Kanser Duruma Göre miRNA Düzeyleri

Prostat kanserli bireyler primer tümör ve metastatik hastalık durumuna göre iki gruba ayrılmış ve bu gruplar arasında miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a ekspresyon düzeyleri karşılaştırılmıştır.

miR-1226-3p ekspresyon düzeyleri metastatik hastalar ve primer hastalar arasında karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,813$). miR-3662 ekspresyon düzeyleri metastatik grup ve primer grup ile karşılaştırılmış bu fark da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,694$). Benzer şekilde miR-4436a ifade düzeyleri metastatik ve primer grup arasında karşılaştırılmış ancak bu fark da istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır ($p=0,414$). Bu sonuçlara göre, analiz edilen üç miRNA ekspresyon düzeyi açısından primer ve metastatik hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

4.4.3. Aile Öyküsüne Göre miRNA Düzeyleri

Katılımcılar aile öyküsü olup olmamasına göre iki gruba ayrılmış ve miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a mikroRNA ekspresyon düzeyleri bu gruplar arasında karşılaştırılmıştır.

miR-1226-3p ekspresyon düzeyi aile öyküsü olmayan grup ile aile öyküsü olan gruplar arasında karşılaştırılmış istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,900$). miR-3662 ifade düzeyi aile öyküsü olmayanlar ve olanlar arasında karşılaştırılmış bu fark da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,900$). miR-4436a ekspresyon düzeyi aile öyküsü olmayan bireyler ile olan bireyler arasında karşılaştırılmış gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,462$). Bu sonuçlar, aile öyküsü değişkeninin miRNA ekspresyonları üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olmadığını göstermektedir.

4.4.4. Sigara Kullanımına Göre miRNA Düzeyleri

Katılımcılar sigara kullanımı durumuna göre iki gruba ayrılmış ve miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a miRNA ekspresyon düzeyleri gruplarlar arasında karşılaştırılmıştır.

miR-1226-3p düzeyi sigara kullanmayanlar ile kullananlar arasında karşılaştırılmış ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,083$). miR-3662 düzeyi sigara kullanmayan grupla kullanan grup arasında karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır ($p=1,000$). miR-4436a düzeyi de sigara kullanmayan ve kullanan gruplar arasında karşılaştırılarak aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. ($p=0,279$). Sonuç olarak, sigara kullanımının miRNA ekspresyon düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı gözlemlenmiştir.

4.4.5. Alkol Kullanımına Göre miRNA Düzeyleri

Katılımcılar alkol kullanımı durumuna göre iki gruba ayrılarak miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a miRNA düzeyleri açısından karşılaştırılmıştır.

miR-1226-3p ekspresyon düzeyleri açısından alkol kullanmayan bireyler ve kullanan bireyler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=1,000$). miR-3662 ekspresyon düzeyleri alkol kullanmayan ve kullanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0,482$). Benzer şekilde, miR-4436a ekspresyon düzeyleri alkol kullanmayan bireylerle ve kullanan bireyler arasında karşılaştırılmıştır ve bu fark ta istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,521$). Bu sonuçlara göre, alkol kullanımının incelenen miRNA ekspresyon düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır.

4.5. Korelasyon Analizleri

Bu çalışmada, seçilen miRNA'ların ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişkiler Spearman sıralama korelasyon analizi ile değerlendirilmiştir. Spearman korelasyonu, parametrik olmayan verilerde iki değişken arasındaki doğrusal olmayan (monoton) ilişkiyi ölçmek amacıyla kullanılan istatistiksel bir testtir.

Verilerin normal dağılım göstermemesi nedeniyle bu analiz tercih edilmiştir. Analizlerde, ilişki düzeyi korelasyon katsayısı (r) ve anlamlılık düzeyi (p -değeri) dikkate alınarak yorumlanmıştır. Spearman korelasyon katsayısı -1 ile $+1$ arasında değer alır. $r > 0$ ise iki değişken arasında pozitif yönlü bir ilişki olduğunu, $r < 0$ negatif yönlü bir ilişki olduğunu, $r = 0$ ise aralarında herhangi bir ilişki bulunmadığını ifade eder. İlişkinin gücü ise genellikle belirli aralıklara göre sınıflandırılır: 0,00–0,19 arası çok zayıf, 0,20–0,39 zayıf, 0,40–0,59 orta, 0,60–0,79 güçlü ve 0,80–1,00 arası ise çok güçlü korelasyon olarak yorumlanmaktadır. Bu bağlamda, analiz sonuçlarında

korelasyon katsayısının büyüklüğü yalnızca ilişkinin yönünü değil, aynı zamanda ne kadar güçlü olduğunu da ortaya koymaktadır. Bu analizde istatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir. Elde edilen korelasyon katsayısı ve p-değerleri doğrultusunda, miRNA'lar arasındaki ilişkilerin varlığı, yönü ve gücü belirlenerek yorumlanmıştır. Söz konusu ilişkilere ait detaylı korelasyon katsayıları ve anlamlılık düzeyleri Tablo 4-4'te sunulmaktadır.

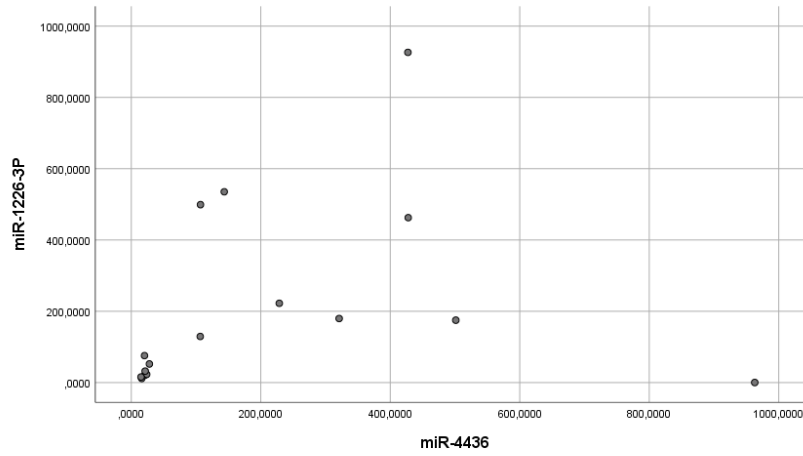
Tablo 4-4: miRNA'lar Arasındaki Spearman Korelasyon Katsayıları

	Grup	miR-1226-3p	miR-3662	miR-4436a
miR-1226-3p	r Değeri	1	-0,217	0,535*
	p Değeri	-	0,250	0,002
miR-3662	r Değeri	-0,217	1	-0,273
	p Değeri	0,250	-	0,144
miR-4436a	r Değeri	0,535	-0,273	1
	p Değeri	0,002	0,144	-
<i>r: Korelasyon Katsayısı</i>				
<i>* $p < 0,05$ anlamlı korelasyon olarak kabul edilmiştir.</i>				

Elde edilen sonuçlara göre, miR-1226-3p ile miR-4436a ekspresyon düzeyi arasında pozitif yönlü ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($r=0,535$; $p=0,002$). Bu bulgu, miR-1226-3p ekspresyon düzeyindeki artışa paralel olarak miR-4436a düzeyinin de arttığını ve bu ilişkinin orta düzeyde güçlü olduğunu göstermektedir (Şekil 4-7). Bununla birlikte, miR-1226-3p ile miR-4436a ekspresyon düzeyleri arasındaki bu korelasyonun, tümör evresi, primer/metastatik durum, aile öyküsü, sigara kullanımı gibi klinik parametrelerle yaptığımız bağlantı analizlerinde anlamlı bir karşılığı bulunmamıştır.

Buna karşılık, miR-1226-3p ile miR-3662 ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişki zayıf ve anlamsızdır ($r=-0,217$; $p=0,250$). Aynı şekilde, miR-3662 ile miR-4436a ekspresyon düzeyleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır ($r=-0,273$; $p=0,144$) (Tablo 4-4).

Bu sonuçlar doğrultusunda, miR-1226-3p ve miR-4436a ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişki dikkat çekici bulunmuş, diğer çiftler arasında anlamlı bir bağlantı gözlemlenmemiştir (Şekil 4-7) (Tablo 4-4).



Şekil 4-7: Prostat Kanserli Hasta Grubunda miR-1226-3p ve miR-4436a Ekspresyon Düzeyleri Arasındaki Korelasyon Grafiği

4.6. Lojistik Regresyon Analizi

Bu çalışmada, miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a'nın ekspresyon düzeylerinin PKa riskini öngörmedeki potansiyelini değerlendirmek amacıyla lojistik regresyon analizi uygulanmıştır. Lojistik regresyon, bağımlı değişkenin iki kategoriden (hasta/sağlıklı) oluştuğu durumlarda, bağımsız değişkenlerin bu sonucu tahmin etme gücünü ölçmek için kullanılan istatistiksel bir yöntemdir. Analizlerde her bir miRNA'nın Odds Ratio (OR), %95 Güven Aralığı (GA) ve p-değeri hesaplanmış, bu değerler üzerinden biyobelirteç potansiyelleri yorumlanmıştır.

4.6.1. miR-1226-3p ve miR-3662 Kombinasyonu

İki miRNA'nın ekspresyon düzeylerinin birlikte değerlendirildiği regresyon modelinde, miR-1226-3p için $p=0,309$ ve miR-3662 için $p=0,057$ bulunmuştur. Her iki miRNA'nın da istatistiksel olarak anlamlı bir katkı sağlamadığı görülmüştür. Bu sonuçlar, bu iki miRNA'nın ekspresyon düzeyleri kombinasyonunun PKa ile sağlıklı bireyleri ayırmada güvenilir bir belirteç olmadığını göstermektedir (Tablo 4-5) .

Tablo 4-5: miR-1226-3p ve miR-3662'ye Ait Lojistik Regresyon Analizi Sonuçları

Değişken	p Değeri	OR	OR için %95 Güven Aralığı	
			Alt Sınır	Üst Sınır
miR-1226-3p	0,309	1,002	0,998	1,006
miR-3662	0,057	1	1	1
Sabit	0,112	3,648	-	-
OR: Odds Ratio miR-1226-3p ve miR-3662 genlerinin normalize edilmiş ifadeleri modele dahil edilmiştir				

4.6.2. miR-1226-3p ve miR-4436a Kombinasyonu

Bu modelde miR-4436a ekspresyon düzeyi için $p=0,015$ ve $OR=0,997$ (GA: 0,994–0,999) olarak bulunmuş ve istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Bu durum, miR-4436a düzeyinin azalmasının PKa olasılığını artırabileceğine işaret etmektedir (Tablo 4-6).

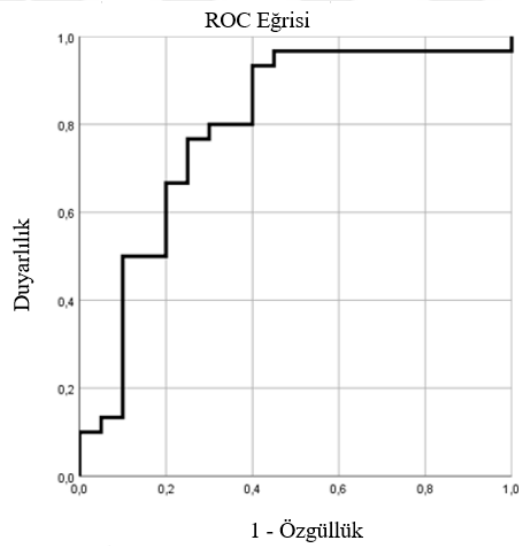
miR-1226-3p ekspresyon düzeyi için $p=0,078$ ile anlamlılık sınırına yakın bir değer elde edilmiştir. İki miRNA'nın kombinasyonu modele dahil edildiğinde, logistik regresyon analizi sonuçları Tablo 4-6'de sunulmuştur.

Tablo 4-6: miR-1226-3p ve miR-4436a'ya Ait Lojistik Regresyon Analizi Sonuçları

Değişken	p Değeri	OR	OR için %95 Güven Aralığı	
			Alt Sınır	Üst Sınır
miR-1226-3p	0,078	1,004	1	1,008
miR-4436a	0,015	0,997	0,994	0,999
Sabit	0,109	2,347	-	-
OR: Odds Ratio miR-1226-3p ve miR-4436a genlerinin normalize edilmiş ifadeleri modele dahil edilmiştir.				

ROC analizi ile değerlendirilen bu kombinasyonun ayırım gücü yüksek bulunmuştur. Elde edilen AUC değeri 0,792 olup, bu durum yüksek ayırt edicilik gücüne işaret etmektedir ($p<0,001$). Mevcut klinik protokollerde PSA seviyesi 4–10 ng/mL arasında kalan hastalarda invaziv biyopsiye yönlendirme kararı zorlaşır. miR-

1226-3p + miR-4436a ekspresyon düzeyleri panelinin AUC=0,792 değeri, bu belirsiz durumda bulunan bireylere yalnızca biyopsi yerine ek bir sıralama testi olarak uygulanabilecek etkili bir “ikincil tarama” seçeneği sunar. Eksozomal miRNA izolasyonu kan, plazma veya idrar gibi invaziv olmayan sıvılardan yapıldığından, hastanın ek bir invaziv işlem (biyopsi) gerektirmeden hızlı ve düşük riskli bir biyobelirteç taraması yapılabilir. Bu panelin AUC=0,792 değeri, PSA’nın tipik duyarlılık/spesifiklik oranlarıyla (AUC≈0,60–0,70) karşılaştırıldığında PKa teşhisinde belirgin bir gelişme sağladığını göstermektedir. Şekil 4-8’de miR-1226-3p ve miR-4436a ekspresyon düzeylerinin kombinasyonuna ait ROC eğrisi gösterilirken, eğriye ait AUC değeri, güven aralıkları ve anlamlılık düzeyi ise Tablo 4-7’de detaylı olarak sunulmuştur.



Şekil 4-8: miR-1226-3p ve miR-4436a’nın Kombinasyonlarının Hasta ve Kontrol Grubu ROC Analiz Eğrisi

Tablo 4-7: Lojistik Regresyon Modeline Ait ROC Eğrisi Altında Kalan Alan (AUC) Değeri

AUC	p Değeri	%95 Güven Aralığı	
		Alt Sınır	Üst Sınır
0,792	<0,001	0,653	0,93
AUC: The area under the ROC curve			

4.6.3. miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a Kombinasyonu

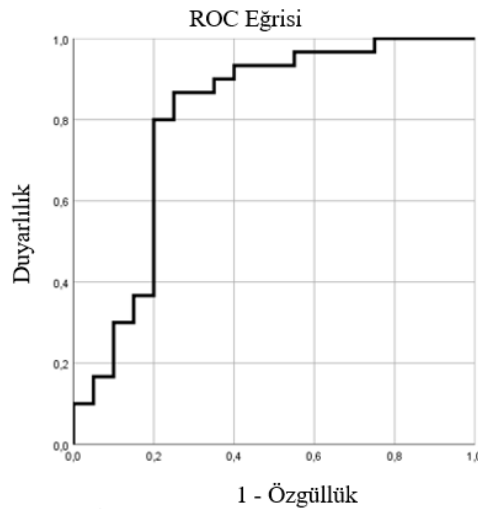
Üçlü modelde, yalnızca miR-4436a ekspresyon düzeyi için $p=0,016$ ile anlamlı sonuç elde edilmiştir. miR-1226-3p ($p=0,198$) ve miR-3662 ($p=0,071$) ekspresyon düzeyleri regresyon modeline anlamlı katkı sağlamamıştır. Bu bulgulara ilişkin regresyon analizi sonuçları Tablo 4-8’de sunulmuştur. ROC analizi ile değerlendirilen bu üçlü kombinasyonun hasta ve sağlıklı bireyleri ayırt etme gücünün yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen ROC eğrisi doğrultusunda alan altında kalan AUC değeri 0,802 olarak hesaplanmış ve bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Bu sonuç, miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a ekspresyon düzeylerinin birlikte kullanıldığında PKa tanısında güçlü bir ayırt ediciliğe sahip olduğunu göstermektedir (Şekil 4-9) (Tablo 4-9).

Tablo 4-8: miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a’ya Ait Lojistik Regresyon Analizi Sonuçları

Değişken	p Değeri	OR	OR için %95 Güven Aralığı	
			Alt Sınır	Üst Sınır
miR-3662	0,071	1	1	1
miR-4436a	0,016	0,997	0,994	0,999
miR-1226-3p	0,198	1,003	0,998	1,007
Sabit	0,022	9,324	—	—

OR: Odds Ratio

miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a genlerinin normalize edilmiş ifadeleri modele dahil edilmiştir.



Şekil 4-9: miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a’nın Kombinasyonlarının Hasta ve Kontrol Grubu ROC Analiz Eğrisi

Tablo 4-9: miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a Kombinasyonuna Ait ROC Eğrisi Altında Kalan Alan (AUC) Değeri

AUC	p Değeri	%95 Güven Aralığı	
		Alt Sınır	Üst Sınır
0,802	< 0,001	0,661	0,942
<i>AUC: The area under the ROC curve</i>			

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, prostat kanserli hastalar ile sağlıklı bireyler arasında miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a miRNA'larının ekspresyon profilleri incelenmiştir. miR-1250 ekspresyon düzeyinin, bu çalışmada hem PKa hastalarında hem de sağlıklı bireylerin idrar örneklerinden izole edilen eksozomlarda bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu nedenle, miR-1250 ekspresyon profili istatistiksel analiz hesaplamalarına dahil edilmemiştir. Literatürde, miR-1250'nin plazma, kan veya lökosit gibi diğer biyolojik örneklerde tespit edilebildiği bildirilse de, idrar bazlı örneklerde güvenilir bir biyobelirteç olup olmadığı halen netlik kazanamamıştır. Bu durum, miR-1250'nin PKa'nın tanı veya prognozunda idrar temelli analizlerde kullanım potansiyelinin sınırlı olabileceğini düşündürmektedir. Çalışma sonuçlarına göre, miR-1250'nin prostat kanseri tanı ve izleminde klinik kullanım potansiyelini net olarak değerlendirebilmek için farklı biyolojik sıvıların (plazma, kan gibi) incelendiği, daha geniş hasta gruplarını içeren ve metodolojik olarak kapsamlı yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmektedir.

miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a miRNA'larının hastalığın tanısı için potansiyel biyobelirteçler olup olmadıkları değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, seçilen miRNA'ların PKa açısından farklı ekspresyon seviyeleri sergilediğini, PKa biyobelirteçleri olarak kullanılması ihtimalini desteklediğini ve özellikle miR-4436a'nın tanı koyma süreçlerindeki etkinliğinin diğer iki miRNA'ya göre daha belirgin olduğunu ortaya koymaktadır.

Literatürde miR-1226-3p ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır. Chen ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışmada, miR-1226-3p'nin, hepatosellüler karsinom (HCC) hücrelerinde sorafenib tedavisine olan yanıtı artırarak tümör duyarlılığını olumlu yönde etkilediği ortaya konmuştur. Çalışmada hem in vitro hem de in vivo düzeyde yapılan deneylerde, miR-1226-3p ekspresyonunun düşük olduğu HCC hücrelerinin, yüksek ekspresyonlu hücre hatlarına (HepG2) göre sorafenibe daha dirençli olduğu saptanmıştır. miR-1226-3p ekspresyonunun artırılması, hücre canlılığını azaltmış ve apoptozu tetikleyerek sorafenib tedavisinin etkinliğini artırmıştır. Ayrıca fare ksenograft modellerinde yapılan deneylerde, miR-1226-3p ekspresyonu artırılan tümörlerin, kontrol grubuna göre sorafenib tedavisine daha duyarlı olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar, miR-1226-3p'nin HCC'de yalnızca bir tümör baskılayıcı

olarak değil, aynı zamanda hedefe yönelik ilaç yanıtını iyileştirme potansiyeli taşıyan bir biyobelirteç olduğunu göstermektedir (Chen ve ark., 2019).

Liu ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışmada, incelenen miR-1226-3p'nin hepatosellüler karsinomda (HCC) tümör baskılayıcı işlev üstlendiği gösterilmiştir. Çalışmada, HCC hastalarından elde edilen tümör dokularında ZFPM2-AS1 adlı uzun kodlamayan RNA'nın aşırı eksprese olduğu hücre proliferasyonunu ve invazyonu artırdığı, bu etkilerin miR-1226-3p ekspresyonunu süngerleyerek (sponging) gerçekleştirdiği belirlenmiştir. Bu bulgular, miR-1226-3p'nin hücre içi iletişim ve gen regülasyonu üzerindeki fonksiyonel etkisini de göstermektedir (W. Liu ve ark., 2020).

Jiang ve Zhao tarafından yürütülen çalışmada, miR-1226-3p'nin kolorektal kanser (KRK) hücrelerindeki ekspresyon düzeylerinin anlamlı düzeyde baskılandığı gösterilmiştir. Araştırmada, hem KRK hasta dokularında hem de serum örneklerinde miR-1226-3p'nin anlamlı şekilde düşük ekspresyonu bulunmuş ve buna karşılık lncRNA MIR210HG'nin ise yüksek düzeyde ifade edildiği tespit edilmiştir. Dual-luciferase analizleri, MIR210HG'nin miR-1226-3p'yi doğrudan hedef alarak baskıladığını ve böylece bu miRNA'nın tümör baskılayıcı etkilerini zayıflatıldığını ortaya koymuştur. Fonksiyonel analizlerde ise miR-1226-3p'nin ekspresyonunun artırılmasının KRK hücrelerinin proliferasyonunu ve invazyon kabiliyetini belirgin şekilde azalttığı, buna karşılık apoptoz oranlarını anlamlı ölçüde artırdığı gösterilmiştir. Bu bulgular, miR-1226-3p'nin proliferasyon, apoptoz ve invazyon süreçleri üzerindeki etkileriyle de tümör baskılayıcı rolünü ortaya koymaktadır (Jiang ve Zhao, 2024).

Wang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, eksozomal miR-1226-3p'nin pankreatik duktal adenokarsinom hastalarının serumlarında düşük seviyelerinin tümör invazyonunu ve metastazı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (C. Wang ve ark., 2021). miR-1226-3p'nin ekspresyonu daha önce PKa hastalarında incelenmemiştir. Ancak agresif kanser türlerindeki işlevi dikkate alındığında, PKa'da de muhtemel bir biyolojik belirteç olabileceğini erken tanı ve hastalığın progresyonunun takibi gibi aşamalarda önemli bir işlev görebileceğini düşündürmektedir.

Tez çalışmasında eksozomal miR-1226-3p'nin ekspresyon düzeyi belirtilen çalışmalardan farklı olarak PKa hastalarında anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. ROC analizlerinde ise orta düzeyde ayırt edici güce sahip olduğu tespit edilmiştir (AUC=0,702, p=0,017). Kesim noktası, duyarlılık ve seçicilik gibi tanısal performans

ölçütleri de miR-1226-3p'nin PKa'da potansiyel bir biyobelirteç olduğunu desteklemektedir.

Tez çalışmasıyla uyumlu olarak osteosarkoma hastalarında yapılan bir çalışmada miR-1226-3p'nin ekspresyonunun tümör dokusunda normal dokuya oranla yüksek derecede ifade edildiği gösterilmiştir (Y. Li ve ark., 2021). Dolayısıyla miR-1226-3p'ye özgü ekspresyon farklılıklarının, kanser türüne özgü olarak değişebileceğine işaret etmektedir.

Genel olarak literatürler, miR-1226-3p'nin çeşitli kanser türlerinde tümör baskılayıcı rol oynayabileceğini gösterirken, PKa hasta verisinde ve osteosarkomlarda miR-1226-3p'nin ekspresyon seviyesinin artmasının örnek materyalin (serum, plazma, doku, eksozom), hastaların klinik evresi, kullanılan analiz yöntemleri veya analiz edilen kanser türünde rol oynadığı sinyal yollarındaki farklılıklar ile açıklanabilir. Kanser hücrelerindeki heterojenite ve dokuya özgü gen ekspresyon profilleri de miRNA seviyelerinin ve fonksiyonlarının farklılaşmasına neden olabilmektedir. Fakat ROC analizi ile desteklenen tanı potansiyeli, miR-1226-3p'nin PKa'nın erken tespiti ve hastalığın ne kadar agresif olduğunu değerlendirmede klinik uygulamada yararlı olabileceğini ortaya koymaktadır. Ancak elde edilen bulguların daha sağlıklı yorumlanabilmesi için miR-1226-3p'nin daha kapsamlı bir şekilde araştırılması ve daha yüksek sayıda hasta grubu ile doğrulayıcı çalışmaların gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

Li ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, eksozomal miR-3662'nin meme kanseri hastalarının serum eksozomlarında sağlıklı kontrollere kıyasla belirgin bir şekilde yüksek seviyelerde olduğu tespit edilmiştir. Araştırma, miR-3662 ekspresyon seviyelerinin lenf nodu metastazı, klinik evre ve hastalığın prognozuyla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgular, miR-3662'nin tedavi süreçlerinde hasta durumunu izlemek için değerli bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini işaret etmektedir (S. Li ve ark., 2021).

Li ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada, meme kanseri hastalarının serum eksozomlarında bulunan miR-3662'nin, gemcitabine direncini etkileyen önemli bir faktör olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, miR-3662'nin RNA Bağlayıcı Motif Tek Zincirli Etkileşim Proteini 3 (RBMS3) hedefleyerek, meme kanseri hücrelerinde ilaç direncini artırdığı ve hücre canlılığını, invazyon ve migrasyon kabiliyetlerini desteklediği belirlenmiştir (X. Li ve ark., 2024).

Yi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, miR-3662'nin triple negatif meme kanseri (TNBC) hücrelerinde onkogenik bir rol oynadığı gösterilmiştir. Araştırmada, miR-3662'nin TNBC dokularında normal dokulara kıyasla anlamlı düzeyde artmış ekspresyon gösterdiği ve bu durumun artmış hücre proliferasyonu, migrasyonu ve metastazla ilişkili olduğu bulunmuştur. Moleküler düzeyde miR-3662'nin HBP1 genini hedefleyerek Wnt/ β -katenin yolunu aktive ettiği belirlenmiştir. Fonksiyonel deneylerde miR-3662'nin baskılanması, tümör büyümesini ve akciğer metastazını belirgin şekilde azaltmıştır. (Yi ve ark., 2022). Tüm bu veriler, miR-3662'nin diğer agresif tümörlerde de benzer mekanizmalarla etkili olabileceğini düşündürmektedir.

2021 yılında Wang ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, miR-3662'nin küçük hücre dışı akciğer kanseri (NSCLC) A549 hücre hattında düşük doz iyonizan radyasyon (LDR) ile indüklenen adaptif yanıtta artmış ekspresyon gösterdiği bulunmuştur. Bu bulgu, miR-3662'nin hücrel stres yanıtlarında ve radyasyonla ilişkili DNA hasarı toleransında kritik bir role sahip olabileceğini düşündürmektedir. Bu veriler, miR-3662'nin sadece onkogenik sinyal yollarında değil, aynı zamanda radyoterapi yanıtını belirleyen moleküler süreçlerde de işlevsel olabileceğini göstermektedir (X. C. Wang ve ark., 2021).

Prostat kanserli hastalarda miR-3662 ile ilgili olarak henüz bir çalışma yapılmamıştır. Tez çalışmasında literatürdeki sonuçlardan farklı olarak miR-3662 ekspresyonu PKa hastalarında anlamlı düzeyde azalmıştır ve ROC analizinde sınırlı bir ayırt edici güce sahip olduğu gözlemlenmiştir (AUC=0,668, p=0,045). Benzer şekilde hemotolojik malignitelerle ilgili yapılan bir çalışmada ise miR-3662'nin normal hematopoietik süreçte ekspresyonunun arttığını ancak Akut miyeloid lösemilerde (AML) seviyelerinin düşük olduğu gösterilmiştir (Maharry ve ark., 2016). Tez çalışmasına benzerlik gösteren bu çalışmada hücre farklılaşmasının çeşitli aşamalarında miR-3662'nin regülasyonunun değişebileceğini göstermektedir. Bu farklılıklar, kanser türüne özgü biyolojik işlevlerin, tümör mikroçevresinin ve genetik varyasyonların etkisini göstermektedir. Ayrıca, PKa'da miR-3662'nin ekspresyonundaki azalma, moleküler mekanizmaların farklı kanser türlerinde değişebildiğini ve farklı işlevler üstlenebileceğini düşündürmektedir.

Literatürler (X. C. Wang ve ark., 2021; Yi ve ark., 2022; X. Li ve ark., 2024) miR-3662'nin kanser biyolojisinde önemli işlevleri olduğunu ve çeşitli tümörlerde hem prognozda hem de tedavi yanıtlarını etkileyebileceğini göstermektedir. Bu çalışmalarda çoğunlukla doku ya da serum bazlı örnekler kullanırken, tez çalışmasında idrar kaynaklı eksozomlar kullanılmıştır. Örnek tipi farklılıklarının, özellikle eksozomal miRNA profilleri üzerinde anlamlı düzeyde etkili olduğu bilinmektedir. Eksozomal içerik, kaynak hücre tipi, biyolojik sıvı ve izolasyon yöntemine göre büyük ölçüde değişiklik gösterebilir (Van Deun ve ark., 2014; Gurunathan ve ark., 2019). Ayrıca metodolojik farklılıklarda önem taşımaktadır. Dolayısıyla, doku veya serum örneklerinde artmış ekspresyon gösteren bir miRNA, idrar eksozomlarında baskılanmış olabilir. Ayrıca miRNA'lar doku özgüllüğü taşıyan moleküller olması nedeniyle farklı tümör tiplerinde ifade düzeyleri farklı olabilir. miR-3662, PKa gibi daha yavaş seyirli, stromal etkilerin ön planda olduğu tümörlerde tümör baskılayıcı mekanizmalarla ilişkilendirilebilir. Tümör mikroçevresi, anjiyogenez ve hücre dışı matriks etkileşimleri gibi faktörler de miRNA'ların işlevini şekillendirebilir. Bu farklılıklar, miR-3662'nin ekspresyon düzeyindeki değişimlerin kanser türüne özgü olarak değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Çalışmalarda bazı miRNA'ların diğer tümör baskılayıcı miRNA'ları doğrudan baskılayabildiği de bilinmektedir. Örneğin, miR-107'nin tümör baskılayıcı let-7 miRNA ailesini baskılayarak tümör oluşumunu desteklediği literatürde rapor edilmiştir (Değirmenci ve ark., 2011; Hill ve Tran, 2021). miR-3662'nin de ekspresyonu farklı bir miRNA tarafından baskılanıyor olabilir. Bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu bağlamda, miR-3662'nin PKa teşhisi ve tedavisindeki olası etkisinin daha kapsamlı mekanizma araştırmalarıyla doğrulanması gerekmektedir. Sonuç olarak, miR-3662 PKa'da tek başına yeterli tanı başarısı sergilemese de, biyobelirteç panellerinde bulunması ve tedaviye verilen yanıtın takip edilmesinde kullanma potansiyeli yönünden moleküler düzeyde detaylandırılması ve onkogenik ya da tümör baskılayıcı rollerinin netleştirilmesi için farklı evre ve klinik özelliklerde hasta grupları üzerinde araştırmalar yapılması önerilmektedir.

miR-4436a ile ilgili olarak literatürde yalnızca birkaç çalışma bulunmaktadır. Xu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, eksozomal miR-4436a'nın akciğer

adenokarsinomlarında metastazla birlikte ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir (Z. Xu ve ark., 2020).

Parvizi ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen sistematik bir derlemede, rahim ağzı kanseriyle (serviks) ilişkili olarak miR-4436a'nın ekspresyon düzeylerinin anlamlı şekilde düşük olduğu rapor edilmiştir. Özellikle hastalığın erken evresinde ve düşük dereceli tümörlerde ekspresyonun daha az olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, düşük ekspresyonun apoptozla ilişkili genlerin aktivasyonu ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir (Parvizi ve ark., 2025).

Çalışmamızda miR-4436a ekspresyon düzeyi prostat kanserli hastalarda anlamlı şekilde azalmış olarak tespit edilmiş ve ROC analizlerinde yüksek düzeyde ayırt edici özellik göstermiştir (AUC=0,722, p=0,008). Kesim noktası, duyarlılık ve seçicilik değerleri, miR-4436a'nın PKa tanısında güvenilir bir biyobelirteç olabileceğini desteklemektedir. Literatürde miR-4436a'nın kanser progresyonu ve metastaz süreçlerinde etkili olduğu bildirilmekle birlikte (Z. Xu ve ark., 2020), PKa'da bu molekülün hastalık gelişimindeki rolü ve erken tanı-tedavi süreçlerine etkisi henüz bilinmemektedir.

AR sinyal yolu, PKa'nın gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynamaktadır. Elimizdeki veriler, miR-4436a ekspresyon seviyesindeki düşüşün AR sinyal yolunun anormal aktivasyonunu kolaylaştırarak PKa'nın ilerlemesine katkıda bulunabileceği düşündürmektedir. Ayrıca miR-4436a'nın CDK6, CCND1 gibi hücre döngüsü düzenleyicilerini ve *BCL2*, *MCL1* gibi anti-apoptotik faktörleri baskılayarak tümör hücrelerinin proliferasyonunu ve hayatta kalma sinyallerini kontrol edebileceği öne sürülmüştür. Bu genlerin baskısı ortadan kalktığında hücre döngüsü kontrolden çıkarak hücre bölünmesi artar ve apoptoz mekanizmaları zayıflar. Dolayısıyla miR-4436a ekspresyon seviyesindeki azalma, yalnızca AR sinyal yolunu değil, aynı zamanda hücre proliferasyonu ve apoptoz regülasyonunu da olumsuz etkileyerek hastalığın ilerlemesini kolaylaştırabilir.

AR'nin hücre çekirdeğine geçişi, DNA'ya bağlanma ve koaktivasyon süreçleri bu miRNA değişimiyle doğrudan kesintiye uğrayabilir. Bu nedenle, miR-4436a'nın düşüklüğü, "tümör baskılayıcı" rollerinin kaybı anlamına gelir ve AR-bağımlı transkripsiyonun kontrol kaybına ve tümör büyümesinin hızlanmasına yol açabilir. Bu sonuçlar, miR-4436a'nın PKa tedavisinde olası bir biyobelirteç ve tedavi amacıyla

kullanılabilecek bir hedef olabileceğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, literatürde miR-4436a ile ilgili farklı tümör türlerinde çelişkili bulguların da rapor edildiği görülmektedir. Rahim ağzı (serviks) kanseri ile ilişkili örneklerde miR-4436a ekspresyonunun azaldığı gösterilirken; akciğer adenokarsinomlarında metaztazla ilişkili olarak arttığı gözlenmiştir. Bu bulgular, miR-4436a'nın bağlama ve tümör tipine özgü olarak değişken işlevler üstlenebileceğini göstermektedir. Bir kanser türünde baskılayıcı olan bir miRNA, başka bir türde tümör progresyonuna katkı sağlayabilir. Dolayısıyla, PKa'da miR-4436a'nın düşük düzeyde bulunması, bir yandan AR sinyal yolu ve hücre döngüsü gibi mekanizmaların kontrolsüz aktivasyonu açısından anlamlıyken, öte yandan bu molekülün biyolojik rolünün tümör tipine göre şekillenebileceğini de göz önünde bulundurmak gerekir. Bu nedenle, miR-4436a'nın biyobelirteç ve terapötik hedef olarak değerlendirilebilmesi için farklı örnek tiplerinde ve geniş hasta gruplarında yapılacak karşılaştırmalı çalışmalar büyük önem taşımaktadır.

Gelecek dönemlerde, miR-4436a'nın etki mekanizmalarının daha kapsamlı bir şekilde araştırılması ve PKa üzerindeki biyobelirteç rolünün doğrulanması, hastalığın erken teşhisi ve kişisel tedavi yöntemlerinin oluşturulması açısından son derece önemlidir.

Hu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, eksozomal miR-1250'nin HBV ile ilişkili hepatosellüler karsinomada potansiyel bir teşhis belirteci olarak kullanılabilişliğini göstermiştir. Hepatit B ile ilişkili karaciğer kanserinde miR-1250'nin, sağlıklı bireylerin ve kanser hastalarının plazmaları arasında belirgin farklılık gösteren bir eksozomal miRNA olduğu tanımlanmıştır (Hu ve ark., 2024). Bu bulgular, miR-1250'nin bazı kanser türlerinde potansiyel biyobelirteç olabileceğine işaret etmektedir.

Liu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, miR-1250'nin hepatoblastoma patogeneğinde önemli bir rol üstlendiği gösterilmiştir. Araştırmada, hepatoblastoma hastalarından elde edilen tümör dokuları ile normal komşu karaciğer dokuları arasında karşılaştırmalı bir sirküler RNA mikroarray analizi yapılmış ve farklı şekilde eksprese olan 869 circRNA tespit edilmiştir. Bu analizler sonucunda en yüksek oranda yukarı regüle olanlardan biri olan hsa_circ_0015756, hepatoblastoma hücrelerinde anlamlı düzeyde artış göstermiştir. Fonksiyonel analizler, bu circRNA'nın miR-1250-3p'yi bir "sponge" gibi bağlayarak tümör hücrelerinin proliferasyonunu, invazyonunu ve canlılığını artırdığını ortaya koymuştur. Bu durum, miR-1250'nin

baskılanmasının, tümör hücrelerinin biyolojik aktivitesinde artışa yol açtığını göstermektedir. Söz konusu mekanizma, miR-1250'nin doğrudan tümör baskılayıcı potansiyel taşıyabileceğine işaret etmektedir (B. H. Liu ve ark., 2018).

Zhang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, miR-1250'nin, non-Hodgkin lenfoma (NHL) hücrelerinde tümör baskılayıcı bir rol üstlendiği gösterilmiştir. Araştırma, miR-1250-5p'nin, normal dokularda metilasyonu gözlenmeyen AATK/miR-1250 lokusu, NHL örneklerinde sıklıkla hipermetile bulunmuş ve bu durum miR-1250-5p ifadesinin baskılanmasıyla ilişkili bulunmuştur. Demetilasyon ajanı ile yapılan tedavi sonrası hem AATK hem de miR-1250-5p ifadesinin geri kazanılması, epigenetik baskılanmanın fonksiyonel etkisini doğrulamaktadır. Ayrıca, miR-1250-5p'nin aşırı ekspresyonu, NHL hücrelerinde proliferasyonu azaltmış, apoptozu artırmış ve hücre göçünü inhibe etmiştir. Fonksiyonel analizlerde, MAPK1 (ERK2) ve WDR1 genlerinin bu miRNA'nın doğrudan hedefleri olduğu belirlenmiş ve miR-1250-5p'nin bu genleri baskılayarak MAPK/ERK sinyal yolunu ve SDF-1 bağımlı hücre migrasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu veriler, miR-1250-5p'nin yalnızca ekspresyon değişimiyle değil, aynı zamanda fonksiyonel düzeyde de tümör baskılayıcı nitelik taşıdığını ve epigenetik mekanizmalarla kontrol edildiğini ortaya koymaktadır (M. Y. Zhang ve ark., 2021).

Çalışmamızda, miR-1250'nin hem PKa hastalarında hem de sağlıklı bireylerde, idrar örneklerinden izole edilen eksozomlarında ekspresyon düzeyi tespit edilememiştir. Bu nedenle söz konusu miRNA, istatistiksel analizlere dahil edilmemiştir. Literatürde miR-1250'nin çeşitli kanser türlerinde, özellikle de plazma veya dokudan elde edilen örneklerde, tanı ve tedaviye yönelik potansiyel bir biyobelirteç olabileceği gösterilmiştir. Ancak, bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar, yalnızca idrar kaynaklı eksozomal miR-1250 için geçerlidir. Bu nedenle, elde edilen bulgular, PKa ile ilgili olmaktan ziyade idrar eksozomu temelli örneklerde miR-1250'nin saptanamaması şeklinde değerlendirilmelidir. Bu çalışmada miR-1250 ile ilgili çıkarımlar, idrar kaynaklı biyobelirteç potansiyeline sahip olmadığı şeklinde yorumlanabilir. İlerleyen dönemlerde, farklı biyolojik örneklerle yapılacak daha kapsamlı ve çok merkezli çalışmalar, miR-1250'nin PKa'daki olası rolünü aydınlatacaktır.

Literatür taramaları gerçekleştirildiğinde, miR-1250, miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a miRNA moleküllerinin farklı kanser tipleriyle bağlantılı olduğu tespit edilmiştir, fakat bu moleküllerin PKa açısından daha önce araştırılmadığı

anlaşılmaktadır. Literatürde bu miRNA'ların diğer kanser türlerinde çeşitli yollarla tümör biyolojisini etkileyebileceğine dair kanıtlar bulunsa da, PKa hastalarından toplanan idrar kaynaklı eksozomal miR-1250, miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a ekspresyon seviyelerinin incelendiği bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu bulgular, idrar kaynaklı eksozomların PKa tanısı için invaziv olmayan biyobelirteç geliştirmedeki potansiyelini daha ayrıntılı incelemeyi gerektirir. Ayrıca, PKa'nın erken teşhis ve prognozundaki güçlükleri aşmak ve daha güvenilir, müdahale gerektirmeyen biyolojik belirteçler bulmak amacıyla bu tez çalışması planlanmıştır. Çalışmamız, literatürdeki bu boşluğu doldurmayı ve PKa'da eksozomal miR-1250, miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a'ların potansiyel rollerini derinlemesine anlamayı hedeflemiştir.

Çalışmamızda ulaştığımız sonuçlar, miR-1226-3p ve miR-4436a'nın kombinasyon halinde kullanıldığında PKa teşhisinde daha etkili bir ayırıştırma kapasitesine sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Özellikle bu iki miRNA'nın kat değişim değerleri arasında pozitif ve anlamlı bir korelasyon saptanmış olup ($r=0,535$; $p=0,002$), kat değişimlerinin paralel olarak ilerlediği gözlemlenmiştir. Bu durum, ilgili miRNA çiftinin birlikte incelenmesinin, tek başına kullanımlarla karşılaştırıldığında tanı doğruluğunu artırabileceğini göstermektedir. Logistik regresyon analizleri sonucunda, miR-4436a'nın tek başına anlamlı bir belirteç olduğu, miR-1226-3p'nin ise anlamlılık sınırına yakın olduğu saptanmıştır. İki miRNA'nın birlikte değerlendirildiği modellerde ise, ROC analizinden elde edilen AUC değerleri (0,792) yüksek ayırt edici güç göstermektedir. Bu veriler, miRNA kat değişimlerinin birlikte kullanılmasının PKa tanısında güçlü bir biyobelirteç kombinasyonu oluşturabileceğini desteklemektedir. Öte yandan, miR-3662'nin kat değişimi ve kombinasyon içindeki rolü anlamlı bulunmadığından dolayı PKa tanısında bu miRNA'nın tek başına ya da başka miRNA'larla beraber kullanılmasının etkisi sınırlı gibi görünmektedir.

Güncel klinik protokoller, PSA seviyesi 4–10 ng/mL arasında olan hastalar için belirsiz tarama sonucu sunmaktadır. Böyle bir durumda invaziv girişim olan biyopsiye yönlendirme kararı almak zorlaşır. Çalışmamızda miR-1226-3p ve miR-4436a'yı içeren panel, bu belirsiz aralıkta kalan bireylerin ek bir taramadan geçirilmesini sağlayarak biyopsi ihtiyacını azaltabilir. Eğer daha fazla hasta grubunda AUC değerleri yüksek tespit edilirse, PSA'ya alternatif ya da eşdeğer bir birincil tarama testi olarak değerlendirilebilir. Bu durumda özellikle PSA'daki yanlış pozitif veya negatif oranları

azaltılabilir. Eksozomal miRNA izolasyonu ve qPCR tekniği, birçok biyomoleküler laboratuvar tarafından hali hazırda tercih edilen standart yöntemlerdir. Başlangıçta PSA testinden daha fazla maliyet gerektirse de, hastaya başına düşen maliyetin düzenli tarama işlemlerinde makul seviyelere getirilebileceği düşünülmektedir. Düzenli bir tarama sisteminin erken tanıda invaziv girişim olan biyopsi sayısının azalmasını, uzun vadede ise sağlık sisteminin yükünü hafifleteceği düşünülmektedir. Çalışmamızda hasta sayısı oldukça kısıtlıdır ve daha kapsamlı gruplarla çok merkezli bir doğrulama yapılması gereklidir. miRNA panellerinin çeşitli etnik gruplar veya ülkelerdeki hasta gruplarında benzer işlevler gösterip göstermediği de araştırılmalıdır. Aşamalı bir klinik çalışmada, ilk olarak geçmiş verilere dayanarak panel eşik değerleri optimize edilmeli, daha sonra biyopsi yapılmadan önce prospektif bir kohortta panelin doğruluk değerleri anlık olarak test edilmelidir.

Bu sonuçlar, miRNA panellerinin tasarlanmasında hangi moleküllerin dahil edilmesi gerektiği konusunda değerli bilgiler sağlamaktadır. Sonuç olarak, miRNA kat değişimlerinin ve özellikle miR-1226-3p ile miR-4436a'nın kombinasyonunun PKa tanısında yüksek potansiyel taşıdığı, bu moleküllerin biyobelirteç paneli oluşturulmasında öncelikli olarak değerlendirilmesi gerektiği söylenebilir. Gelecek araştırmalarda, bu kombinasyonun klinik etkinliğinin daha kapsamlı örneklem gruplarında test edilmesi gerektiği önerilmektedir.

miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a miRNA ekspresyon düzeyleri ile hastaların tümör evresi, primer/metastatik durumu, aile öyküsü, sigara ve alkol kullanımı gibi temel klinik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ancak bu sonuç, yalnızca “istatistiksel fark yoktur” ifadesiyle sınırlandırılmayacak kadar karmaşık biyolojik ve istatistiksel dinamikleri barındırmaktadır.

İlk olarak, çalışmada yer alan bazı alt grupların örneklem büyüklüklerinin oldukça sınırlı olduğu dikkate alınmalıdır. Örneğin, metastatik hastaların sayısı yalnızca 6'dır ve benzer şekilde aile öyküsü olan birey sayısı da 5'tir. Bu tür küçük örneklem, gruplar arası farkın varlığını gözlemlemeyi istatistiksel olarak güçsüz hale getirebilir. Küçük sayıdaki gruplarda varyans yüksekliği ve etkili örneklem gücünün düşüklüğü, p-değerlerinin anlamlılık sınırını geçememesine yol açabilir. Dolayısıyla bu sonuçlar,

gerçekten biyolojik olarak ilişkisizlik olduğu anlamına gelmeyebilir; yalnızca örneklem boyutu nedeniyle istatistiksel olarak ortaya konulamamış olabilir.

İkinci olarak, sınıflandırma kriterleri ve gruplandırmaların biyolojik karşılığı da sorgulanmalıdır. Tümör evresi açısından yapılan erken evre (evre 1–2) ve ileri evre (evre 3–4) ayrımı pratik ve yaygın olmakla birlikte, bu sınıflandırma tümör biyolojisinin moleküler çeşitliliğini tam anlamıyla yansıtmamaktadır. Aynı evre grubunda yer alan hastaların Gleason skoru, PSA düzeyi, lenf nodu tutulumu gibi önemli prognostik parametrelerde farklılık göstermesi mümkündür. Bu nedenle, gruplar arası biyolojik homojenlik sağlanamadan yapılan karşılaştırmalar, moleküler düzeydeki farklılıkları maskeliyor olabilir. Ayrıca, metastatik hastalar arasında metastazın lokasyonu gibi ayrıntılar da göz önüne alınmamıştır; bu alt sınıflandırmalar yapılmadığında biyolojik anlamda farklı davranan tümör tipleri aynı kategoriye dahil edilerek analiz edilmiştir.

Üçüncü olarak, miRNA'lar dinamik moleküllerdir ve ekspresyonları yalnızca tümör evresi gibi makroskopik klinik parametrelerle değil, aynı zamanda hücresel düzeydeki sinyal yolları, tümör mikroçevresi, stromal hücre etkileşimleri, hormonal yanıtlar ve bağışıklık sistemi modülasyonu gibi çok daha karmaşık ve ölçülmemiş değişkenlerle ilişkilidir. Özellikle PKa gibi yavaş ilerleyen ve heterojen biyolojik özellikler taşıyan tümörlerde, bu tür miRNA'ların ekspresyon profilleri, evre ya da metastaz gibi kategorik değişkenlerle değil; tümörün AR aktivitesi, inflamatuvar mikroçevre varlığı ya da hücre içi proliferatif yanıtla doğrudan ilişkili olabilir. Mevcut çalışmada bu mekanizmalar moleküler düzeyde analiz edilmediğinden, ilişkiler göz ardı edilmiş olabilir.

Son olarak, kullanılan örnek tipinin de bu sonuçlar üzerinde belirleyici etkisi olabilir. Literatürde çoğu çalışma doku veya serum bazlı örneklerle yürütülmüşken, idrar eksozomları hem biyolojik çeşitlilik açısından daha farklı bir profil sunmakta hem de molekül konsantrasyonu açısından daha düşük yoğunluklu veri üretmektedir.

Bu da gruplar arasında var olabilecek biyolojik farkların ölçüm hassasiyeti nedeniyle görünmez kalmasına yol açabilir. Ayrıca, örneklerin toplanma zamanı, hastaların eşlik eden hastalıkları, ilaç kullanımı gibi faktörler de miRNA ekspresyonlarını etkileyebileceğinden, bu tür karıştırıcı değişkenlerin kontrol altına alınmaması da analizlerin gücünü azaltabilir.

Tüm bu nedenler bir arada değerlendirildiğinde, klinik parametrelerle istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamaması, çalışmanın sınırlılığı olarak değil; daha çok örneklem boyutu, gruplandırma derinliği, örnek türü ve kontrol edilmeyen biyolojik değişkenler gibi çok boyutlu faktörlerin bir sonucu olarak ele alınmalıdır. Bu durum, ilerleyen çalışmalarda daha büyük örneklemlemlerle, daha detaylı klinik ve moleküler veri toplanarak miRNA'ların PKa alt tiplerindeki rolünün çok daha derinlemesine incelenmesini gerekli kılmaktadır.

Çalışmamızda ele alınan miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a'nın PKa'da belirgin ekspresyon değişiklikleri göstermesi, literatürde hasta ve sağlıklı bireyler arasında eksozomal miRNA profillerinde tespit edilen farklılıklarla uyumludur. Her ne kadar bazı miRNA'ların ekspresyon yönü çalışmamızla literatür arasında farklılık gösterse de, her iki durumda da anlamlı bir ekspresyon farkının varlığı ortak bir bulgudur. Özellikle, miR-1226-3p ve miR-3662'nin çeşitli kanser türlerindeki tümör biyolojisindeki işlevleri literatürde desteklenmekte olup, bu iki miRNA'nın prostat kanserli hastaların idrar eksozomlarında anlamlı düzeyde değiştiğini göstererek, benzer biyolojik işlevlerinin tanısal biyobelirteç potansiyeline çevrilebileceğini ortaya koymaktadır. miR-4436a'nın ise PKa'da anlamlı şekilde azaldığı ve ROC analizlerinde yüksek ayırt edici güç sergilediği tespit edilmiştir; bu durum literatürde başka kanser türlerinde metastaz ve apoptoz ile bağlantılı olarak yer alan miR-4436a'nın PKa'da dokuya özgü bir işlev gördüğünü göstermektedir.

Bu bağlamda, eksozomal miRNA'ların PKa'da invaziv olmayan tanı ve prognostik analizlerde giderek daha fazla değer taşıdığı, miRNA panellerinin hassasiyet ve özgüllüğü yükselterek klinik uygulamalara fayda sağlayabileceği tespit edilmektedir. Çalışmamızda incelenen miRNA'ların PKa için biyobelirteç olarak kullanılması büyük bir potansiyele sahiptir. Literatürde bu moleküllerin çeşitli kanser türlerindeki etkileri ile PKa perspektifindeki verilerimiz, miRNA'nın kanserin biyolojisindeki karmaşık ve dokuya özgü görevlerini göstermektedir. Bu kapsamda, miRNA panelleri kullanarak tanı hassasiyeti ve özgüllüğün artırılması, erken teşhis ve kişiye özel tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesini sağlayabilir.

Sonuç olarak, prostat kanserli hastalar ile sağlıklı bireyler arasında miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a miRNA'larının ekspresyon düzeylerinde anlamlı farklılıklar olduğunu ortaya çıkılmıştır. Özellikle miR-4436a'nın tanısal değeri diğer

miRNA'lara kıyasla daha belirgin şekilde gözlemlenmiştir. Elde edilen bu bulgular, söz konusu miRNA'ların PKa tanısında potansiyel biyobelirteçler olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamız, PKa moleküler tanısı ve kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi açısından önemli veriler sağlamaktadır. Ancak, örneklem büyüklüğünün nispeten sınırlı olması ve fonksiyonel analizlerin yapılmamış olması gibi bazı kısıtlılıklar bulunmaktadır. Bu nedenle, bulguların klinik uygulamaya aktarılabilmesi için daha geniş hasta gruplarıyla doğrulama çalışmalarına, moleküler mekanizmaları aydınlatacak fonksiyonel araştırmalara ve çok merkezli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



KAYNAKLAR

- Adamaki, M., & Zoumpourlis, V. (2021). Prostate Cancer Biomarkers: From diagnosis to prognosis and precision-guided therapeutics. *Pharmacology & Therapeutics*, 228. <https://doi.org/10.1016/J.PHARMTHERA.2021.107932>
- Adhyam, M., & Gupta, A. K. (2012). A Review on the Clinical Utility of PSA in Cancer Prostate. *Indian Journal of Surgical Oncology*, 3(2), 120–129. <https://doi.org/10.1007/S13193-012-0142-6>
- Adjakly, M., Ngollo, M., Dagdemir, A., Judes, G., Pajon, A., Karsli-Ceppioglu, S., Penault-Llorca, F., Boiteux, J. P., Bignon, Y. J., Guy, L., & Bernard-Gallon, D. (2015). Prostate cancer: The main risk and protective factors-Epigenetic modifications. *Annales d'Endocrinologie*, 76(1), 25–41. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2014.09.001>
- Agaoglu, F. Y., Kovancilar, M., Dizdar, Y., Darendeliler, E., Holdenrieder, S., Dalay, N., & Gezer, U. (2011). Investigation of miR-21, miR-141, and miR-221 in blood circulation of patients with prostate cancer. *Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 32(3), 583–588. <https://doi.org/10.1007/S13277-011-0154-9>
- Akoto, T., & Saini, S. (2021). Role of Exosomes in Prostate Cancer Metastasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7). <https://doi.org/10.3390/IJMS22073528>
- Altwaijry, N., Somani, S., Parkinson, J. A., Tate, R. J., Keating, P., Warzecha, M., Mackenzie, G. R., Leung, H. Y., & Dufès, C. (2018). Regression of prostate tumors after intravenous administration of lactoferrin-bearing polypropylenimine dendriplexes encoding TNF- α , TRAIL, and interleukin-12. *Drug Delivery*, 25(1), 679–689. <https://doi.org/10.1080/10717544.2018.1440666>
- Andreia, A., V, C., AL, T., & R, M. (2011). IL-6/IL-6R as a potential key signaling pathway in prostate cancer development. *World Journal of Clinical Oncology*, 2(12), 384. <https://doi.org/10.5306/WJCO.V2.I12.384>
- Antonarakis, E. S., Lu, C., Wang, H., Lubber, B., Nakazawa, M., Roeser, J. C., Chen, Y.,

- Mohammad, T. A., Chen, Y., Fedor, H. L., Lotan, T. L., Zheng, Q., De Marzo, A. M., Isaacs, J. T., Isaacs, W. B., Nadal, R., Paller, C. J., Denmeade, S. R., Carducci, M. A., ... Luo, J. (2014). AR-V7 and Resistance to Enzalutamide and Abiraterone in Prostate Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 371(11), 1028. <https://doi.org/10.1056/NEJMOA1315815>
- Attard, G., Parker, C., Eeles, R. A., Schröder, F., Tomlins, S. A., Tannock, I., Drake, C. G., & De Bono, J. S. (2016). Prostate cancer. *Lancet (London, England)*, 387(10013), 70–82. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61947-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61947-4)
- Atuğ, F. (2018). *PSA (Prostat Spesifik Antijen)*. <https://www.fatihaturug.com/psa-prostat-spesifik-antijen.html>
- Aune, D., Navarro Rosenblatt, D. A., Chan, D. S. M., Vieira, A. R., Vieira, R., Greenwood, D. C., Vatten, L. J., & Norat, T. (2015). Dairy products, calcium, and prostate cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 101(1), 87–117. <https://doi.org/10.3945/AJCN.113.067157>
- Babb, C., Urban, M., Kielkowski, D., & Kellett, P. (2014). Prostate Cancer in South Africa: Pathology Based National Cancer Registry Data (1986–2006) and Mortality Rates (1997–2009). *Prostate Cancer*, 2014(1), 419801. <https://doi.org/10.1155/2014/419801>
- Bannister, A. J., & Kouzarides, T. (2011). Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Research*, 21(3), 381. <https://doi.org/10.1038/CR.2011.22>
- Baran, Ö., & Burlükkara, S. (2020). *Lokelize Prostat Kanserinde Güncel Tedavi Yöntemleri*. https://www.researchgate.net/profile/Necdet-Apaydin/publication/348297251_Izokinetik_Kuvvet_Olcumu_ve_Spor/links/5ff6cf77299b14088792924/Izokinetik-Kuvvet-Oelcuemue-ve-Spor.pdf#page=458
- Barceló, M., Castells, M., Bassas, L., Vigués, F., & Llorca, S. (2019). Semen miRNAs Contained in Exosomes as Non-Invasive Biomarkers for Prostate Cancer Diagnosis. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-019-50172-6>
- Bardis, M. D., Houshyar, R., Chang, P. D., Ushinsky, A., Glavis-Bloom, J., Chahine, C., Bui, T. L., Rupasinghe, M., Filippi, C. G., & Chow, D. S. (2020). Applications of Artificial Intelligence to Prostate Multiparametric MRI (mpMRI): Current and

- Emerging Trends. *Cancers*, 12(5). <https://doi.org/10.3390/CANCERS12051204>
- Başaran, M., Bavbek, S., Çal, Ç., & İğdem, Ş. (2014). *Prostat Kanseri Yol Haritası: Uluslararası Kılavuzlar ve Klinik Deneyimler Işığında Prostat Kanserine Yaklaşım Önerileri*.
- Bebelman, M. P., Smit, M. J., Pegtel, D. M., & Baglio, S. R. (2018). Biogenesis and function of extracellular vesicles in cancer. *Pharmacology & Therapeutics*, 188, 1–11. <https://doi.org/10.1016/J.PHARMTHERA.2018.02.013>
- Beg, M. S., Brenner, A. J., Sachdev, J., Borad, M., Kang, Y. K., Stoudemire, J., Smith, S., Bader, A. G., Kim, S., & Hong, D. S. (2017). Phase I study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, administered twice weekly in patients with advanced solid tumors. *Investigational New Drugs*, 35(2), 180–188. <https://doi.org/10.1007/S10637-016-0407-Y>
- Benke, I. N., Leitzmann, M. F., Behrens, G., & Schmid, D. (2018). Physical activity in relation to risk of prostate cancer: A systematic review and meta-analysis. *Annals of Oncology*, 29(5), 1154–1179. <https://doi.org/10.1093/ANNONC/MDY073>
- Bennett, N. C., Gardiner, R. A., Hooper, J. D., Johnson, D. W., & Gobe, G. C. (2010). Molecular cell biology of androgen receptor signalling. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 42(6), 813–827. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCEL.2009.11.013>
- Berenguer, C. V. ;, Pereira, F. ;, Câmara, J. S. ;, Pereira, J. A. M., Berenguer, C. V, Pereira, F., Câmara, J. S., & Pereira, J. A. M. (2023). Citation: Underlying Features of Prostate Cancer-Statistics, Risk Factors, and Emerging Methods for Its Diagnosis. *Curr. Oncol*, 30, 2300–2321. <https://doi.org/10.3390/curroncol30020178>
- Bergengren, O., Pekala, K. R., Matsoukas, K., Fainberg, J., Mungovan, S. F., Bratt, O., Bray, F., Brawley, O., Luckenbaugh, A. N., Mucci, L., Morgan, T. M., & Carlsson, S. V. (2023). 2022 Update on Prostate Cancer Epidemiology and Risk Factors—A Systematic Review. *European Urology*, 84(2), 191. <https://doi.org/10.1016/J.EURURO.2023.04.021>
- Bhagirath, D., Yang, T. L., Bucay, N., Sekhon, K., Majid, S., Shahryari, V., Dahiya, R., Tanaka, Y., & Saini, S. (2018). microRNA-1246 Is an Exosomal Biomarker for

- Aggressive Prostate Cancer. *Cancer Research*, 78(7), 1833–1844.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-2069>
- Bolkent, S. (2021). NEW TARGET MICROVESICLES AND EXOSOMES IN CANCER. *Istanbul Tıp Fakultesi Dergisi*, 84(1), 130–134.
<https://doi.org/10.26650/IUITFD.2020.0015>
- Bostwick, D. G., & Cheng, L. (2012). Precursors of prostate cancer. *Histopathology*, 60(1), 4–27. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2559.2011.04007.X>
- Bozkurt, S. (2018a). Eksozomlar ve kanserdeki rolleri. *Dicle Tıp Dergisi*, 45(2), 209–217. <https://doi.org/10.5798/DICLETIP.424986>
- Bozkurt, S. (2018b). Eksozomlar ve Kanserdeki Roller. *Dicle Tıp Dergisi*, 45(2), 209–217. <https://doi.org/10.5798/DICLETIP.424986>
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018a). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394–424. <https://doi.org/10.3322/CAAC.21492>
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018b). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394–424. <https://doi.org/10.3322/CAAC.21492>
- Bryant, R. J., Pawlowski, T., Catto, J. W. F., Marsden, G., Vessella, R. L., Rhee, B., Kuslich, C., Visakorpi, T., & Hamdy, F. C. (2012). Changes in circulating microRNA levels associated with prostate cancer. *British Journal of Cancer*, 106(4), 768–774. <https://doi.org/10.1038/BJC.2011.595>
- Bryzgunova, O. E., Zaripov, M. M., Skvortsova, T. E., Lekchnov, E. A., Grigor'eva, A. E., Zaporozhchenko, I. A., Morozkin, E. S., Ryabchikova, E. I., Yurchenko, Y. B., Voitsitskiy, V. E., & Laktionov, P. P. (2016). Comparative Study of Extracellular Vesicles from the Urine of Healthy Individuals and Prostate Cancer Patients. *PLoS ONE*, 11(6), e0157566. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0157566>
- Bussemakers, M. J., Bokhoven, A. Van, Tomita, K., Jansen, C. F., & Schalken, J. A. (2000). *Complex cadherin expression in human prostate cancer cells - PubMed*.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10652439/>

- Caley, M. P., King, H., Shah, N., Wang, K., Rodriguez-Teja, M., Gronau, J. H., Waxman, J., & Sturge, J. (2016). Tumor-associated Endo180 requires stromal-derived LOX to promote metastatic prostate cancer cell migration on human ECM surfaces. *Clinical and Experimental Metastasis*, 33(2), 151–165. <https://doi.org/10.1007/S10585-015-9765-7>,
- Cardoso, T. C., Rocha, M. A., Monteiro, M. M. L. V., Alves, V. S., Savio, L. E. B., & Silva, C. L. M. (2022). The blockage of downstream P2Y2 receptor signaling inhibits the prostate cancer cell adhesion to endothelial cells. *Life Sciences*, 306. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2022.120793>
- Carouge, E., Burnichon, C., Figeac, M., Sebda, S., Vanpouille, N., Vincent, A., Truong, M. J., Duterque-Coquillaud, M., Tulasne, D., & Chotteau-Lelièvre, A. (2024). Functional interaction between receptor tyrosine kinase MET and ETS transcription factors promotes prostate cancer progression. *Molecular Oncology*, 19(2). <https://doi.org/10.1002/1878-0261.13739>,
- Carver, B. S., Chapinski, C., Wongvipat, J., Hieronymus, H., Chen, Y., Chandarlapaty, S., Arora, V. K., Le, C., Koutcher, J., Scher, H., Scardino, P. T., Rosen, N., & Sawyers, C. L. (2011). Reciprocal feedback regulation of PI3K and androgen receptor signaling in PTEN-deficient prostate cancer. *Cancer Cell*, 19(5), 575–586. <https://doi.org/10.1016/J.CCR.2011.04.008>
- Castro, E., Goh, C., Olmos, D., Saunders, E., Leongamornlert, D., Tymrakiewicz, M., Mahmud, N., Dadaev, T., Govindasami, K., Guy, M., Sawyer, E., Wilkinson, R., Ardern-Jones, A., Ellis, S., Frost, D., Peock, S., Evans, D. G., Tischkowitz, M., Cole, T., ... Eeles, R. (2013a). Germline BRCA mutations are associated with higher risk of nodal involvement, distant metastasis, and poor survival outcomes in prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 31(14), 1748–1757. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.43.1882>
- Castro, E., Goh, C., Olmos, D., Saunders, E., Leongamornlert, D., Tymrakiewicz, M., Mahmud, N., Dadaev, T., Govindasami, K., Guy, M., Sawyer, E., Wilkinson, R., Ardern-Jones, A., Ellis, S., Frost, D., Peock, S., Evans, D. G., Tischkowitz, M.,

- Cole, T., ... Eeles, R. (2013b). Germline BRCA Mutations Are Associated With Higher Risk of Nodal Involvement, Distant Metastasis, and Poor Survival Outcomes in Prostate Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 31(14), 1748. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.43.1882>
- Catalona, W. J., Partin, A. W., Slawin, K. M., Brawer, M. K., Flanigan, R. C., Patel, A., Richie, J. P., DeKernion, J. B., Walsh, P. C., Scardino, P. T., Lange, P. H., Subong, E. N. P., Parson, R. E., Gasior, G. H., Loveland, K. G., & Southwick, P. C. (1998). Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *JAMA*, 279(19), 1542–1547. <https://doi.org/10.1001/JAMA.279.19.1542>
- Chaffer, C. L., & Weinberg, R. A. (2011). A perspective on cancer cell metastasis. *Science (New York, N.Y.)*, 331(6024), 1559–1564. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1203543>
- Chakraborty, A., Patton, D. J., Smith, B. F., & Agarwal, P. (2023). miRNAs: Potential as Biomarkers and Therapeutic Targets for Cancer. *Genes*, 14(7), 1375. <https://doi.org/10.3390/GENES14071375>
- Chay, C. H., Cooper, C. R., Gendernalik, J. D., Dhanasekaran, S. M., Chinnaiyan, A. M., Rubin, M. A., Schmaier, A. H., & Pienta, K. J. (2002). A functional thrombin receptor (PAR1) is expressed on bone-derived prostate cancer cell lines. *Urology*, 60(5), 760–765. [https://doi.org/10.1016/S0090-4295\(02\)01969-6](https://doi.org/10.1016/S0090-4295(02)01969-6)
- Chen, X., Tan, W., Li, W., Li, W., Zhu, S., Zhong, J., Shang, C., & Chen, Y. (2019). miR-1226-3p Promotes Sorafenib Sensitivity of Hepatocellular Carcinoma via Downregulation of DUSP4 Expression. *Journal of Cancer*, 10(12), 2745–2753. <https://doi.org/10.7150/JCA.31804>
- Chudley, L., McCann, K., Mander, A., Tjelle, T., Campos-Perez, J., Godeseth, R., Creak, A., Dobbyn, J., Johnson, B., Bass, P., Heath, C., Kerr, P., Mathiesen, I., Dearnaley, D., Stevenson, F., & Ottensmeier, C. (2012). DNA fusion-gene vaccination in patients with prostate cancer induces high-frequency CD8(+) T-cell responses and increases PSA doubling time. *Cancer Immunology, Immunotherapy: CII*, 61(11), 2161–2170. <https://doi.org/10.1007/S00262-012-1270-0>

- Chung, C., & Abboud, K. (2022). Targeting the androgen receptor signaling pathway in advanced prostate cancer. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 79(15), 1224–1235. <https://doi.org/10.1093/AJHP/ZXAC105>,
- Ciardiello, C., Cavallini, L., Spinelli, C., Yang, J., Reis-Sobreiro, M., Candia, P. De, Minciocchi, V. R., & Di Vizio, D. (2016). Focus on Extracellular Vesicles: New Frontiers of Cell-to-Cell Communication in Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(2). <https://doi.org/10.3390/IJMS17020175>
- Cong, F., Huang, J., Wu, C., Zhong, H., Qiu, G., Luo, T., & Tang, W. (2024). Integrin $\alpha 6$ and integrin $\beta 4$ in exosomes promote lung metastasis of colorectal cancer. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 20(7), 2082–2093. https://doi.org/10.4103/JCRT.JCRT_230_24,
- Coutinho, I., Day, T. K., Tilley, W. D., & Selth, L. A. (2016). Androgen receptor signaling in castration-resistant prostate cancer: a lesson in persistence. *Endocrine-Related Cancer*, 23(12), T179–T197. <https://doi.org/10.1530/ERC-16-0422>
- Culig, Z., Hobisch, A., & Cronauer, M. . (1994). *Androgen receptor activation in prostatic tumor cell lines by insulin-like growth factor-I, keratinocyte growth factor, and epidermal growth factor* - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7522959/>
- Culp, M. B. B., Soerjomataram, I., Efstathiou, J. A., Bray, F., & Jemal, A. (2020). Recent Global Patterns in Prostate Cancer Incidence and Mortality Rates. *European Urology*, 77(1), 38–52. <https://doi.org/10.1016/J.EURURO.2019.08.005>
- Dai, H., Wang, Y., Lu, X., & Han, W. (2016). Chimeric Antigen Receptors Modified T-Cells for Cancer Therapy. *Journal of the National Cancer Institute*, 108(7). <https://doi.org/10.1093/JNCI/DJV439>
- Değirmenci, İ., Üniversitesi, O., Fakültesi, T., Biyoloji, T., Dalı, A., Saydam, F., Veysi, H., Eskişehir, G., & Tarihi, G. (2011). MikroRNA’lar ve kanser MicroRNAs and cancer. *Dicle Medical Journal*, 38(1), 113–120. www.mirbase.org/cgi-bin/browse.pl
- Dehm, S. M., & Tindall, D. J. (2006). Molecular regulation of androgen action in prostate cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, 99(2), 333–344. <https://doi.org/10.1002/JCB.20794>

- Desai, K., McManus, J. M., & Sharifi, N. (2021). Hormonal Therapy for Prostate Cancer. *Endocrine Reviews*, 42(3), 354. <https://doi.org/10.1210/ENDREV/BNAB002>
- Di Lorenzo, G., Tortora, G., & P D'Armiento, F. (2022). *Expression of epidermal growth factor receptor correlates with disease relapse and progression to androgen-independence in human prostate cancer - PubMed*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12429632/>
- Eeles, R. A., Olama, A. A. Al, Benlloch, S., Saunders, E. J., Leongamornlert, D. A., Tymrakiewicz, M., Ghoussaini, M., Luccarini, C., Dennis, J., Jugurnauth-Little, S., Dadaev, T., Neal, D. E., Hamdy, F. C., Donovan, J. L., Muir, K., Giles, G. G., Severi, G., Wiklund, F., Gronberg, H., ... Easton, D. F. (2013). Identification of 23 new prostate cancer susceptibility loci using the iCOGS custom genotyping array. *Nature Genetics*, 45(4), 385–391. <https://doi.org/10.1038/NG.2560>
- Ekici, S. (2021). *Prostat Kanserinde Radyasyon Tedavisi*. <https://sinanekici.com.tr/prostat-kanseri/prostat-kanserinde-radyasyon-tedavisi>
- Epstein, J. I., Allsbrook, W. C., Amin, M. B., Egevad, L. L., Bastacky, S., López Beltrán, A., Berner, A., Billis, A., Boccon-Gibod, L., Cheng, L., Civantos, F., Cohen, C., Cohen, M. B., Datta, M., Davis, C., Delahunt, B., Delprado, W., Eble, J. N., Foster, C. S., ... Young, R. H. (2005). The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *The American Journal of Surgical Pathology*, 29(9), 1228–1242. <https://doi.org/10.1097/01.PAS.0000173646.99337.B1>
- Erdoğan, T. (n.d.). *Prostat Kanseri ve Androjen Reseptörü*. Retrieved December 2, 2024, from <https://www.tibeterdogru.com/prostat-kanseri-ve-androjen-reseptoru/>
- Ertunç, O., & Tuna, B. (2022). ProstatKanseri MolekülerPatogenezi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 29(4), 697–706. <https://doi.org/10.17343/sdutfd.1120510>
- Erzurumlu, Y. (2021). Prostat Kanseri: Androjen Reseptörü Sinyal Mekanizması. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 28(1), 187–198. <https://doi.org/10.17343/sdutfd.726163>
- Eto, M., Shiota, M., Akamatsu, S., Tsukahara, S., Nagakawa, S., & Matsumoto, T. (2022). Androgen receptor mutations for precision medicine in prostate cancer. *Endocrine-Related Cancer*, 29(10), R143–R155. <https://doi.org/10.1530/ERC-22->

0140

- Fabbri, M., Paone, A., Calore, F., Galli, R., & Croce, C. M. (2013). A new role for microRNAs, as ligands of Toll-like receptors. *RNA Biology*, 10(2), 169–174. <https://doi.org/10.4161/RNA.23144>
- Ferraldeschi, R., Welte, J., Luo, J., Attard, G., & De Bono, J. S. (2015). Targeting the androgen receptor pathway in castration-resistant prostate cancer: progresses and prospects. *Oncogene*, 34(14), 1745–1757. <https://doi.org/10.1038/ONC.2014.115>
- Festuccia, C., Bologna, M., Gravina, G. L., Guerra, F., Angelucci, A., Villanova, I., Millimaggi, D., & Teti, A. (1999). *Osteoblast conditioned media contain TGF- β 1 and modulate the migration of prostate tumor cells and their interactions with extracellular matrix components* - Festuccia - 1999 - *International Journal of Cancer* - Wiley Online Library. [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1097-0215\(19990505\)81:3%3C395::AID-IJC13%3E3.0.CO;2-V](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1097-0215(19990505)81:3%3C395::AID-IJC13%3E3.0.CO;2-V)
- Filella, X., & Foj, L. (2018). Novel Biomarkers for Prostate Cancer Detection and Prognosis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1095, 15–39. https://doi.org/10.1007/978-3-319-95693-0_2
- Fitts, C. A., Ji, N., Li, Y., & Tan, C. (2019). Exploiting Exosomes in Cancer Liquid Biopsies and Drug Delivery. *Advanced Healthcare Materials*, 8(6). <https://doi.org/10.1002/ADHM.201801268>
- Foj, L., Ferrer, F., Serra, M., Arévalo, A., Gavagnach, M., Giménez, N., & Filella, X. (2017). Exosomal and Non-Exosomal Urinary miRNAs in Prostate Cancer Detection and Prognosis. *The Prostate*, 77(6), 573–583. <https://doi.org/10.1002/PROS.23295>
- Fong, M. Y., Zhou, W., Liu, L., Alontaga, A. Y., Chandra, M., Ashby, J., Chow, A., O'Connor, S. T. F., Li, S., Chin, A. R., Somlo, G., Palomares, M., Li, Z., Tremblay, J. R., Tsuyada, A., Sun, G., Reid, M. A., Wu, X., Swiderski, P., ... Wang, S. E. (2015). Breast-cancer-secreted miR-122 reprograms glucose metabolism in premetastatic niche to promote metastasis. *Nature Cell Biology*, 17(2), 183–194. <https://doi.org/10.1038/NCB3094>
- Gabitzsch, E. S., & Jones, F. R. (2012). New Recombinant Ad5 Vector Overcomes Ad5

- Immunity Allowing for Multiple Safe, Homologous Immunizations. *Journal of Clinical and Cellular Immunology*, 0(0), 1–4. <https://doi.org/10.4172/2155-9899.S4-001>
- Gabrilovich, D. I., & Nagaraj, S. (2009). Myeloid-derived-suppressor cells as regulators of the immune system. *Nature Reviews. Immunology*, 9(3), 162. <https://doi.org/10.1038/NRI2506>
- Gajewski, T. F., Schreiber, H., & Fu, Y. X. (2013). Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nature Immunology* 2013 14:10, 14(10), 1014–1022. <https://doi.org/10.1038/ni.2703>
- Gandaglia, G., Karakiewicz, P. I., Briganti, A., Passoni, N. M., Schiffmann, J., Trudeau, V., Graefen, M., Montorsi, F., & Sun, M. (2015). Impact of the Site of Metastases on Survival in Patients with Metastatic Prostate Cancer. *European Urology*, 68(2), 325–334. <https://doi.org/10.1016/J.EURURO.2014.07.020>
- Gandaglia, G., Leni, R., Bray, F., Fleshner, N., Freedland, S. J., Kibel, A., Stattin, P., Van Poppel, H., & La Vecchia, C. (2021). Epidemiology and Prevention of Prostate Cancer. *European Urology Oncology*, 4(6), 877–892. <https://doi.org/10.1016/J.EUO.2021.09.006>
- Ge, R., Wang, Z., Montironi, R., Jiang, Z., Cheng, M., Santoni, M., Huang, K., Massari, F., Lu, X., Cimadamore, A., Lopez-Beltran, A., & Cheng, L. (2020). Epigenetic modulations and lineage plasticity in advanced prostate cancer. *Annals of Oncology : Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 31(4), 470–479. <https://doi.org/10.1016/J.ANNONC.2020.02.002>
- Gerhauser, C., Favero, F., Risch, T., Simon, R., Feuerbach, L., Assenov, Y., Heckmann, D., Sidiropoulos, N., Waszak, S. M., Hübschmann, D., Urbanucci, A., Girma, E. G., Kuryshev, V., Klimczak, L. J., Saini, N., Stütz, A. M., Weichenhan, D., Böttcher, L. M., Toth, R., ... Weischenfeldt, J. (2018). Molecular Evolution of Early-Onset Prostate Cancer Identifies Molecular Risk Markers and Clinical Trajectories. *Cancer Cell*, 34(6), 996–1011.e8. <https://doi.org/10.1016/J.CCELL.2018.10.016>
- Gjertson, C. K., & Albertsen, P. C. (2011). Use and Assessment of PSA in Prostate Cancer. *Medical Clinics of North America*, 95(1), 191–200.

<https://doi.org/10.1016/J.MCNA.2010.08.024>

Gleason Skoru Nedir? Ne İşe Yarar? - Prostat Biyopsisi. (2019).
<https://www.prostatbiyopsisi.com/gleason-skoru/>

Global Cancer Observatory. (n.d.). Retrieved June 4, 2025, from <https://gco.iarc.fr/en>

Gong, Z., Neuhouster, M. L., Goodman, P. J., Albanes, D., Chi, C., Hsing, A. W., Lippman, S. M., Platz, E. A., Pollak, M. N., Thompson, I. M., & Kristal, A. R. (2006). Obesity, diabetes, and risk of prostate cancer: results from the prostate cancer prevention trial. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 15(10), 1977–1983.
<https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-06-0477>

Graf, F., Horn, P., Ho, A. D., Boutros, M., & Maercker, C. (2021). The extracellular matrix proteins type I collagen, type III collagen, fibronectin, and laminin 421 stimulate migration of cancer cells. *FASEB Journal*, 35(7).
<https://doi.org/10.1096/FJ.202002558RR>,

Gülfem Albayrak, İ., Üniversitesi, Ü., ve Doğa Bilimleri Fakültesi, M., & Biyoloji ve Genetik Bölümü, M. (2022). miRNA'lar: Biyogenezi, Analiz Yöntemleri ve Biyobelirteç Potansiyeli. *Van Sağlık Bilimleri Dergisi*, 15(1), 95–102.
<https://doi.org/10.52976/VANSAGLIK.952243>

Guo, T., Wang, Y., Jia, J., Mao, X., Stankiewicz, E., Scandura, G., Burke, E., Xu, L., Marzec, J., Davies, C. R., Lu, J. J., Rajan, P., Grey, A., Tipples, K., Hines, J., Kudahetti, S., Oliver, T., Powles, T., Alifrangis, C., ... Lu, Y. J. (2021). The Identification of Plasma Exosomal miR-423-3p as a Potential Predictive Biomarker for Prostate Cancer Castration-Resistance Development by Plasma Exosomal miRNA Sequencing. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8.
<https://doi.org/10.3389/FCELL.2020.602493>

Gürbüz, C., & Yurdakul, İ. (2020). *Prostat Kanseri Tedavisinde Fokal Tedaviler*. 12(15), 53–61.

Gurunathan, S., Kang, M. H., Jeyaraj, M., Qasim, M., & Kim, J. H. (2019a). Review of the Isolation, Characterization, Biological Function, and Multifarious Therapeutic Approaches of Exosomes. *Cells*, 8(4). <https://doi.org/10.3390/CELLS8040307>

- Gurunathan, S., Kang, M. H., Jeyaraj, M., Qasim, M., & Kim, J. H. (2019b). Review of the Isolation, Characterization, Biological Function, and Multifarious Therapeutic Approaches of Exosomes. *Cells*, 8(4), 307. <https://doi.org/10.3390/CELLS8040307>
- Ha, M., & Kim, V. N. (2014). Regulation of microRNA biogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2014 15:8, 15(8), 509–524. <https://doi.org/10.1038/nrm3838>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2011.02.013>
- Heinlein, C. A., & Chang, C. (2004). Androgen receptor in prostate cancer. *Endocrine Reviews*, 25(2), 276–308. <https://doi.org/10.1210/ER.2002-0032>
- Heinrich, P. C., Behrmann, I., Haan, S., Hermanns, H. M., Müller-Newen, G., & Schaper, F. (2003). Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *The Biochemical Journal*, 374(Pt 1), 1–20. <https://doi.org/10.1042/BJ20030407>
- Hessvik, N. P., Sandvig, K., & Llorente, A. (2013). Exosomal miRNAs as biomarkers for prostate cancer. *Frontiers in Genetics*, 4(MAR), 45193. <https://doi.org/10.3389/FGENE.2013.00036/BIBTEX>
- Hida, K., Kikuchi, H., Maishi, N., & Hida, Y. (2017). ATP-binding cassette transporters in tumor endothelial cells and resistance to metronomic chemotherapy. *Cancer Letters*, 400, 305–310. <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2017.02.006>
- Hill, M., & Tran, N. (2021). miRNA interplay: Mechanisms and consequences in cancer. *DMM Disease Models and Mechanisms*, 14(4), 1–9. <https://doi.org/10.1242/dmm.047662>
- Hu, X., Huang, F., Yao, J., Lv, J., Mai, J., Li, N., & Lu, M. (2024). Cross-sectional study on the diagnostic significance of plasma exosomal miRNAs in HBV-related hepatocellular carcinoma. *Journal of Translational Medicine*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/S12967-024-05787-3>
- Huang, X., Yuan, T., Liang, M., Du, M., Xia, S., Dittmar, R., Wang, D., See, W., Costello, B. A., Quevedo, F., Tan, W., Nandy, D., Bevan, G. H., Longenbach, S.,

- Sun, Z., Lu, Y., Wang, T., Thibodeau, S. N., Boardman, L., ... Wang, L. (2015). Exosomal miR-1290 and miR-375 as prognostic markers in castration-resistant prostate cancer. *European Urology*, 67(1), 33–41. <https://doi.org/10.1016/J.EURURO.2014.07.035>
- Ingenito, F., Roscigno, G., Affnito, A., Nuzzo, S., Scognamiglio, I., Quintavalle, C., & Condorelli, G. (2019). The Role of Exo-miRNAs in Cancer: A Focus on Therapeutic and Diagnostic Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(19), 4687. <https://doi.org/10.3390/IJMS20194687>
- Jeon, J., Olkhov-Mitsel, E., Xie, H., Yao, C. Q., Zhao, F., Jahangiri, S., Cuizon, C., Scarcello, S., Jeyapala, R., Watson, J. D., Fraser, M., Ray, J., Commisso, K., Loblaw, A., Fleshner, N. E., Bristow, R. G., Downes, M., Vesprini, D., Liu, S., ... Boutros, P. C. (2020). Temporal Stability and Prognostic Biomarker Potential of the Prostate Cancer Urine miRNA Transcriptome. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 112(3), 247–255. <https://doi.org/10.1093/JNCI/DJZ112>
- Jeppesen, D. K., Fenix, A. M., Franklin, J. L., Higginbotham, J. N., Zhang, Q., Zimmerman, L. J., Liebler, D. C., Ping, J., Liu, Q., Evans, R., Fissell, W. H., Patton, J. G., Rome, L. H., Burnette, D. T., & Coffey, R. J. (2019). Reassessment of Exosome Composition. *Cell*, 177(2), 428. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2019.02.029>
- Jerónimo, C., Bastian, P. J., Bjartell, A., Carbone, G. M., Catto, J. W. F., Clark, S. J., Henrique, R., Nelson, W. G., & Shariat, S. F. (2011). Epigenetics in prostate cancer: biologic and clinical relevance. *European Urology*, 60(4), 753–766. <https://doi.org/10.1016/J.EURURO.2011.06.035>
- Ji, S., Wu, W., & Jiang, Q. (2023). Crosstalk between Endothelial Cells and Tumor Cells: A New Era in Prostate Cancer Progression. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(23). <https://doi.org/10.3390/IJMS242316893>
- Jiang, C., & Zhao, X. (2024). MIR210HG Accelerates the Progression of Colorectal Cancer and Affects the Function of Colorectal Cancer Cells by Downregulating miR-1226-3p. *Turkish Journal of Gastroenterology*, 35(12), 889–899. <https://doi.org/10.5152/TJG.2024.23669>
- Jones, P. A., & Baylin, S. B. (2007). The Epigenomics of Cancer. *Cell*, 128(4), 683.

<https://doi.org/10.1016/J.CELL.2007.01.029>

- Kalluri, R. (2016). The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nature Reviews Cancer* 2016 16:9, 16(9), 582–598. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.73>
- Kalluri, R., & LeBleu, V. S. (2020). The biology , function , and biomedical applications of exosomes. *Science (New York, N.Y.)*, 367(6478). <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAU6977>
- Kang, J., La Manna, F., Bonollo, F., Sampson, N., Alberts, I. L., Mingels, C., Afshar-Oromieh, A., Thalmann, G. N., & Karkampouna, S. (2022). Tumor microenvironment mechanisms and bone metastatic disease progression of prostate cancer. *Cancer Letters*, 530, 156–169. <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2022.01.015>
- Kantoff, P. W., Higano, C. S., Shore, N. D., Berger, E. R., Small, E. J., Penson, D. F., Redfern, C. H., Ferrari, A. C., Dreicer, R., Sims, R. B., Xu, Y., Frohlich, M. W., & Schellhammer, P. F. (2010). Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *The New England Journal of Medicine*, 363(5), 411–422. <https://doi.org/10.1056/NEJMOA1001294>
- Kao, W. H., Chiu, K. Y., Tsai, S. C. S., Teng, C. L. J., Oner, M., Lai, C. H., Hsieh, J. T., Lin, C. C., Wang, H. Y., Chen, M. C., & Lin, H. (2025). PI3K/Akt inhibition promotes AR activity and prostate cancer cell proliferation through p35-CDK5 modulation. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1871(2). <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2024.167568>
- Kasivisvanathan, V., Rannikko, A. S., Borghi, M., Panebianco, V., Mynderse, L. A., Vaarala, M. H., Briganti, A., Budäus, L., Hellawell, G., Hindley, R. G., Roobol, M. J., Eggener, S., Ghei, M., Villers, A., Bladou, F., Villeirs, G. M., Viridi, J., Boxler, S., Robert, G., ... Moore, C. M. (2018). MRI-Targeted or Standard Biopsy for Prostate-Cancer Diagnosis. *The New England Journal of Medicine*, 378(19), 1767–1777. <https://doi.org/10.1056/NEJMOA1801993>
- Kim, M. Y., Shin, H., Moon, H. W., Park, Y. H., Park, J., & Lee, J. Y. (2021). Urinary exosomal microRNA profiling in intermediate-risk prostate cancer. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-021-86785-Z>
- Kobayashi, T., Nagata, M., Hachiya, T., Wakita, H., Ikehata, Y., Takahashi, K., China,

- T., Shimizu, F., Lu, J., Jin, Y., Lu, Y., Ide, H., & Horie, S. (2024). Increased circulating polymorphonuclear myeloid-derived suppressor cells are associated with prognosis of metastatic castration-resistant prostate cancer. *Frontiers in Immunology*, 15. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2024.1372771/PDF>
- Kok, V. C., & Yu, C. C. (2020). Cancer-Derived Exosomes: Their Role in Cancer Biology and Biomarker Development. *International Journal of Nanomedicine*, 15, 8019–8036. <https://doi.org/10.2147/IJN.S272378>
- Kübler, H., Scheel, B., Gnad-Vogt, U., Miller, K., Schultze-Seemann, W., Dorp, F., Parmiani, G., Hampel, C., Wedel, S., Trojan, L., Jocham, D., Maurer, T., Rippin, G., Fotin-Mleczek, M., Mülbe, F., Probst, J., Hoerr, I., Kallen, K. J., Lander, T., & Stenzl, A. (2015). Self-adjuvanted mRNA vaccination in advanced prostate cancer patients: a first-in-man phase I/IIa study. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 3(1). <https://doi.org/10.1186/S40425-015-0068-Y>
- Kumar, V., Patel, S., Tcyganov, E., & Gabrilovich, D. I. (2016). The Nature of Myeloid-Derived Suppressor Cells in the Tumor Microenvironment. *Trends in Immunology*, 37(3), 208–220. <https://doi.org/10.1016/J.IT.2016.01.004>
- Laird, P. W. (2003). The power and the promise of DNA methylation markers. *Nature Reviews. Cancer*, 3(4), 253–266. <https://doi.org/10.1038/NRC1045>
- Lamb, A. D., Massie, C. E., & Neal, D. E. (2014). The transcriptional programme of the androgen receptor (AR) in prostate cancer. *BJU International*, 113(3), 358–366. <https://doi.org/10.1111/BJU.12415>
- Lee, G., Wong, C., Cho, A., West, J. J., Crawford, A. J., Russo, G. C., Si, B. R., Kim, J., Hoffner, L., Jang, C., Jung, M., Leone, R. D., Konstantopoulos, K., Ewald, A. J., Wirtz, D., & Jeong, S. (2024). E-Cadherin Induces Serine Synthesis to Support Progression and Metastasis of Breast Cancer. *Cancer Research*, 84(17), 2820–2835. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-23-3082>,
- Lekka, E., & Hall, J. (2018). Noncoding RNAs in disease. *FEBS Letters*, 592(17), 2884–2900. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13182>
- Li, S., Zhang, M., Xu, F., Wang, Y., & Leng, D. (2021). Detection significance of miR-3662, miR-146a, and miR-1290 in serum exosomes of breast cancer patients. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 17(3), 749–755.

https://doi.org/10.4103/JCRT.JCRT_280_21

- Li, X., Chu, X., Wang, H., Xiang, L., & Yue, X. (2024). Serum exosomal miR-3662 down-regulates the expression of RBMS3 to promote malignant progression and gemcitabine resistance of breast cancer cells. *Chemical Biology & Drug Design*, 103(3). <https://doi.org/10.1111/CBDD.14488>
- Li, Y., Song, D., An, T., Liu, J., Yang, Q., & Nan, S. (2021). MicroRNA-1226-3p has a tumor-promoting role in osteosarcoma. *Oncology Letters*, 21(6), 1–8. <https://doi.org/10.3892/OL.2021.12735/HTML>
- Liao, J., Liu, R., Shi, Y. J., Yin, L. H., & Pu, Y. P. (2016). Exosome-shuttling microRNA-21 promotes cell migration and invasion-targeting PDCD4 in esophageal cancer. *International Journal of Oncology*, 48(6), 2567–2579. <https://doi.org/10.3892/IJO.2016.3453>
- Litwin, M. S., & Tan, H. J. (2017). The Diagnosis and Treatment of Prostate Cancer: A Review. *JAMA*, 317(24), 2532–2542. <https://doi.org/10.1001/JAMA.2017.7248>
- Liu, B. H., Zhang, B. Bin, Liu, X. Q., Zheng, S., Dong, K. R., & Dong, R. (2018). Expression Profiling Identifies Circular RNA Signature in Hepatoblastoma. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 45(2), 706–719. <https://doi.org/10.1159/000487163>
- Liu, W., Zhang, G. Q., Zhu, D. Y., Wang, L. J., Li, G. T., Xu, J. G., Jin, X. L., Zhu, Y. M., & Yang, X. Y. (2020). Long noncoding RNA ZFPM2-AS1 regulates ITGB1 by miR-1226-3p to promote cell proliferation and invasion in hepatocellular carcinoma. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 24(14), 7612–7620. https://doi.org/10.26355/EURREV_202007_22259
- Liu, Y., Luo, F., Wang, B., Li, H., Xu, Y., Liu, X., Shi, L., Lu, X., Xu, W., Lu, L., Qin, Y., Xiang, Q., & Liu, Q. (2016). STAT3-regulated exosomal miR-21 promotes angiogenesis and is involved in neoplastic processes of transformed human bronchial epithelial cells. *Cancer Letters*, 370(1), 125–135. <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2015.10.011>
- Madan, R. A., & Gulley, J. L. (2016). Personalized peptide vaccine in prostate cancer: capitalizing on existing immunity. *Translational Cancer Research*, 5(Suppl 7), S1333–S1335. <https://doi.org/10.21037/TCR.2016.12.27>

- Maharry, S. E., Walker, C. J., Liyanarachchi, S., Mehta, S., Patel, M., Bainazar, M. A., Huang, X., Lankenau, M. A., Hoag, K. W., Ranganathan, P., Garzon, R., Blachly, J. S., Guttridge, D. C., Bloomfield, C. D., De La Chapelle, A., & Einfeld, A. K. (2016). Dissection of the major hematopoietic quantitative trait locus in chromosome 6q23.3 identifies miR-3662 as a player in hematopoiesis and acute myeloid leukemia. *Cancer Discovery*, 6(9), 1036–1051. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-16-0023>,
- Maitland, N. J., & Collins, A. T. (2008). Prostate cancer stem cells: a new target for therapy. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 26(17), 2862–2870. <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.15.1472>
- Maselli, F. M., Giuliani, F., Laface, C., Perrone, M., Melaccio, A., De Santis, P., Santoro, A. N., Guarini, C., Iaia, M. L., & Fedele, P. (2023). Immunotherapy in Prostate Cancer: State of Art and New Therapeutic Perspectives. *Current Oncology (Toronto, Ont.)*, 30(6), 5769–5794. <https://doi.org/10.3390/CURRONCOL30060432>
- Mashouri, L., Yousefi, H., Reza Aref, A., mohammad Ahadi, A., Molaei, F., & Alahari, S. K. (2019). *Exosomes: composition, biogenesis, and mechanisms in cancer metastasis and drug resistance*. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-0991-5>
- Mathieu, M., Martin-Jaular, L., Lavieu, G., & Théry, C. (2019). Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication. *Nature Cell Biology*, 21(1), 9–17. <https://doi.org/10.1038/S41556-018-0250-9>
- Matshela, R. F., Maree, J. E., & Van Belkum, C. (2014). Prevention and detection of prostate cancer: A pilot intervention in a resource-poor south african community. *Cancer Nursing*, 37(3), 189–197. <https://doi.org/10.1097/NCC.0B013E31829194D2>
- Mazinani, M., & Rahbarizadeh, F. (2022). CAR-T cell potency: from structural elements to vector backbone components. *Biomarker Research*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/S40364-022-00417-W>
- McNeal, J. E. (1981). The zonal anatomy of the prostate. *The Prostate*, 2(1), 35–49. <https://doi.org/10.1002/PROS.2990020105>

- McNeal, J. E. (1988). Normal histology of the prostate. *The American Journal of Surgical Pathology*, 12(8), 619–633. <https://doi.org/10.1097/00000478-198808000-00003>
- Meldolesi, J. (2018). Exosomes and Ectosomes in Intercellular Communication. *Current Biology*: CB, 28(8), R435–R444. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2018.01.059>
- Mendell, J. T., & Olson, E. N. (2012). MicroRNAs in stress signaling and human disease. *Cell*, 148(6), 1172–1187. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2012.02.005>
- Michlewski, G., & Cáceres, J. F. (2019). Post-transcriptional control of miRNA biogenesis. *RNA (New York, N.Y.)*, 25(1), 1–16. <https://doi.org/10.1261/RNA.068692.118>
- Mind Mapping Software: Mind Maps*. (n.d.). Retrieved May 29, 2025, from <https://www.mindmeister.com/app/home>
- Miotti, M. D., Mollerach, M. I., & Barquez, R. M. (2018). Anatomy and histology of the prostate and glands of Cowper in three species of neotropical bats. *Journal of Morphology*, 279(3), 294–301. <https://doi.org/10.1002/JMOR.20771>,
- Mizokami, A., Kadono, Y., Kitagawa, Y., Izumi, K., & Konaka, H. (2017). Therapies for castration-resistant prostate cancer in a new era: The indication of vintage hormonal therapy, chemotherapy and the new medicines. *International Journal of Urology: Official Journal of the Japanese Urological Association*, 24(8), 566–572. <https://doi.org/10.1111/IJU.13372>
- Mohammad, K. S., & Akhund, S. A. (2024). From Tumor to Bone: Growth Factor Receptors as Key Players in Cancer Metastasis. *Frontiers in Bioscience - Landmark*, 29(5). <https://doi.org/10.31083/J.FBL2905184>,
- Momozawa, Y., Sasai, R., Usui, Y., Shiraishi, K., Iwasaki, Y., Taniyama, Y., Parsons, M. T., Mizukami, K., Sekine, Y., Hirata, M., Kamatani, Y., Endo, M., Inai, C., Takata, S., Ito, H., Kohno, T., Matsuda, K., Nakamura, S., Sugano, K., ... Kubo, M. (2022). Expansion of Cancer Risk Profile for BRCA1 and BRCA2 Pathogenic Variants. *JAMA Oncology*, 8(6), 871–878. <https://doi.org/10.1001/JAMAONCOL.2022.0476>,

- Nadiminty, N., Tummala, R., Liu, C., Yang, J., Lou, W., Evans, C. P., & Gao, A. C. (2013). NF- κ B2/p52 induces resistance to enzalutamide in prostate cancer: role of androgen receptor and its variants. *Molecular Cancer Therapeutics*, 12(8), 1629–1637. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-13-0027>
- Nair, S. S., Weil, R., Dovey, Z., Davis, A., & Tewari, A. K. (2020). The Tumor Microenvironment and Immunotherapy in Prostate and Bladder Cancer. *The Urologic Clinics of North America*, 47(4S), e17–e54. <https://doi.org/10.1016/J.UCL.2020.10.005>
- Noë, M., Mathios, D., Annapragada, A. V., Koul, S., Foda, Z. H., Medina, J. E., Cristiano, S., Cherry, C., Bruhm, D. C., Niknafs, N., Adleff, V., Ferreira, L., Easwaran, H., Baylin, S., Phallen, J., Scharpf, R. B., & Velculescu, V. E. (2024). DNA methylation and gene expression as determinants of genome-wide cell-free DNA fragmentation. *Nature Communications*, 15(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-024-50850-8>,
- O'Carroll, D., & Schaefer, A. (2013). General principals of miRNA biogenesis and regulation in the brain. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 38(1), 39–54. <https://doi.org/10.1038/NPP.2012.87>
- Önal, B. (n.d.). *Prostat Kanseri*. Retrieved December 3, 2024, from <https://www.bulentonal.com.tr/prostat-kanseri/>
- Owen, J. S., Clayton, A., & Pearson, H. B. (2022). Cancer-Associated Fibroblast Heterogeneity, Activation and Function: Implications for Prostate Cancer. *Biomolecules*, 13(1). <https://doi.org/10.3390/BIOM13010067>
- Özdemir, B. C., Pentcheva-Hoang, T., Carstens, J. L., Zheng, X., Wu, C. C., Simpson, T. R., Laklai, H., Sugimoto, H., Kahlert, C., Novitskiy, S. V., DeJesus-Acosta, A., Sharma, P., Heidari, P., Mahmood, U., Chin, L., Moses, H. L., Weaver, V. M., Maitra, A., Allison, J. P., ... Kalluri, R. (2014). Depletion of carcinoma-associated fibroblasts and fibrosis induces immunosuppression and accelerates pancreas cancer with reduced survival. *Cancer Cell*, 25(6), 719–734. <https://doi.org/10.1016/J.CCR.2014.04.005>
- Özdoğan, M. (2020). *Dünya Kanser İstatistikleri 2020*.

- https://www.drozdogan.com/dunya-kanser-istatistikleri-2020-her-5-kisiden-biri-kanserle-karsilasiyor/?utm_source=chatgpt.com
- Özdoğan, M. (2021). *Prostat Kanseri Belirtileri, Evreleri ve Tedavisi*. <https://www.drozdogan.com/prostat-kanseri-belirtileri-evreleri-ve-tedavisi/#prostat-kanseri-nedir-nedenleri-risk-faktorleri-nelerdir>
- Pardi, N., Hogan, M. J., Porter, F. W., & Weissman, D. (2018). mRNA vaccines - a new era in vaccinology. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 17(4), 261–279. <https://doi.org/10.1038/NRD.2017.243>
- Pardo, L. A., Beane Freeman, L. E., Lerro, C. C., Andreotti, G., Hofmann, J. N., Parks, C. G., Sandler, D. P., Lubin, J. H., Blair, A., & Koutros, S. (2020). Pesticide exposure and risk of aggressive prostate cancer among private pesticide applicators. *Environmental Health*, 19(1), 30. <https://doi.org/10.1186/S12940-020-00583-0>
- Parent, M. É., & Siemiatycki, J. (2001). Occupation and prostate cancer. *Epidemiologic Reviews*, 23(1), 138–143. <https://doi.org/10.1093/OXFORDJOURNALS.EPIREV.A000779>
- Parvizi, M., Vaezi, M., Jeddi, F., Bakhshandeh, M., Eghdam-Zamiri, R., Mobaraki-Asl, N., Esmati, E., & Karimi, A. (2025). The role and diagnostic value of deregulated miRNAs in cervical cancer. *Discover Oncology*, 16(1), 922. <https://doi.org/10.1007/S12672-025-02744-4>
- Peng, W., Feng, H., Pang, L., Zhang, J., Hao, Y., Wei, X., Xia, Q., Wei, Z., Song, W., Wang, S., Liu, J., Chen, K., & Wang, T. (2023). Downregulation of CAMK2N1 due to DNA Hypermethylation Mediated by DNMT1 that Promotes the Progression of Prostate Cancer. *Journal of Oncology*, 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/4539045>,
- Pernar, C. H., Ebot, E. M., Wilson, K. M., & Mucci, L. A. (2018). *The Epidemiology of Prostate Cancer*. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a030361>
- Petrovic, N., & Ergun, S. (2018). miRNAs as Potential Treatment Targets and Treatment Options in Cancer. *Molecular Diagnosis & Therapy*, 22(2), 157–168. <https://doi.org/10.1007/S40291-017-0314-8>

- Preethi, K. A., Selvakumar, S. C., Ross, K., Jayaraman, S., Tusubira, D., & Sekar, D. (2022). Liquid biopsy: Exosomal microRNAs as novel diagnostic and prognostic biomarkers in cancer. *Molecular Cancer*, 21(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/S12943-022-01525-9/FIGURES/1>
- Prostat Kanseri Evreleri (TNM Evrelemesi)* . (n.d.). Retrieved December 4, 2024, from <https://prostatameliyati.com/prostat-kanseri-evreleri-tnm-evrelemesi/>
- Prostat Kanseri Nedir? Nedenleri, Belirtileri ve Tedavisi.* (n.d.). Retrieved December 3, 2024, from <https://www.acibadem.com.tr/ilgi-alani/prostat-kanseri/>
- Qin, L., Wang, S., Dominguez, D., Long, A., Chen, S., Fan, J., Ahn, J., Skakuj, K., Huang, Z., Lee, A., Mirkin, C., & Zhang, B. (2020). Development of Spherical Nucleic Acids for Prostate Cancer Immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.01333>
- Qin, X., Yu, S., Zhou, L., Shi, M., Hu, Y., Xu, X., Shen, B., Liu, S., Yan, D., & Feng, J. (2017). Cisplatin-resistant lung cancer cell-derived exosomes increase cisplatin resistance of recipient cells in exosomal miR-100-5p-dependent manner. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 3721–3733. <https://doi.org/10.2147/IJN.S131516>
- Quail, D. F., & Joyce, J. A. (2013). Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nature Medicine*, 19(11), 1423–1437. <https://doi.org/10.1038/NM.3394>
- Rafikova, G., Gilyazova, I., Enikeeva, K., Pavlov, V., & Kzhyshkowska, J. (2023). Prostate Cancer: Genetics, Epigenetics and the Need for Immunological Biomarkers. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(16). <https://doi.org/10.3390/IJMS241612797>
- Rode, M. P., Silva, A. H., Cisilotto, J., Rosolen, D., & Creczynski-Pasa, T. B. (2021). miR-425-5p as an exosomal biomarker for metastatic prostate cancer. *Cellular Signalling*, 87. <https://doi.org/10.1016/J.CELLSIG.2021.110113>
- Rodríguez, M., Bajo-Santos, C., Hessvik, N. P., Lorenz, S., Fromm, B., Berge, V., Sandvig, K., Line, A., & Llorente, A. (2017). Identification of non-invasive miRNAs biomarkers for prostate cancer by deep sequencing analysis of urinary exosomes. *Molecular Cancer*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/S12943-017-0726-4>

- Ruckle, H. C., Klee, G. G., & Oesterling, J. E. (1994). Prostate-specific antigen: concepts for staging prostate cancer and monitoring response to therapy. *Mayo Clinic Proceedings*, 69(1), 69–79. [https://doi.org/10.1016/S0025-6196\(12\)61615-2](https://doi.org/10.1016/S0025-6196(12)61615-2)
- Ruiz-Plazas, X., Altuna-Coy, A., Alves-Santiago, M., Vila-Barja, J., García-Fontgivell, J. F., Martínez-González, S., Segarra-Tomás, J., & Chacón, M. R. (2021). Liquid Biopsy-Based Exo-oncomiRNAs Can Predict Prostate Cancer Aggressiveness. *Cancers*, 13(2), 1–20. <https://doi.org/10.3390/CANCERS13020250>
- Salamanca-Fernández, E., Rodríguez-Barranco, M., Amiano, P., Delfrade, J., Chirlaque, M. D., Colorado, S., Guevara, M., Jimenez, A., Arrebola, J. P., Vela, F., Olea, N., Agudo, A., & Sánchez, M. J. (2021). Bisphenol-A exposure and risk of breast and prostate cancer in the Spanish European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition study. *Environmental Health: A Global Access Science Source*, 20(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/S12940-021-00779-Y/TABLES/2>
- Salehi, M., & Sharifi, M. (2018). Exosomal miRNAs as novel cancer biomarkers: Challenges and opportunities. *Journal of Cellular Physiology*, 233(9), 6370–6380. <https://doi.org/10.1002/JCP.26481>
- Saliminejad, K., Khorram Khorshid, H. R., Soleymani Fard, S., & Ghaffari, S. H. (2019). An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *Journal of Cellular Physiology*, 234(5), 5451–5465. <https://doi.org/10.1002/JCP.27486>
- Samsonov, R., Shtam, T., Burdakov, V., Glotov, A., Tsyrlina, E., Berstein, L., Nosov, A., Evtushenko, V., Filatov, M., & Malek, A. (2016). Lectin-induced agglutination method of urinary exosomes isolation followed by mi-RNA analysis: Application for prostate cancer diagnostic. *The Prostate*, 76(1), 68–79. <https://doi.org/10.1002/PROS.23101>
- Sanaci, M. J., Salimzadeh, L., & Bagheri, N. (2020). Crosstalk between myeloid-derived suppressor cells and the immune system in prostate cancer: MDSCs and immune system in Prostate cancer. *Journal of Leukocyte Biology*, 107(1), 43–56. <https://doi.org/10.1002/JLB.4RU0819-150RR>
- Sekhoacha, M., Riet, K., Motloun, P., Gumenku, L., Adegoke, A., & Mashele, S. (2022). Prostate Cancer Review: Genetics, Diagnosis, Treatment Options, and

- Alternative Approaches. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(17). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27175730>
- Shafi, A. A., Yen, A. E., & Weigel, N. L. (2013). Androgen receptors in hormone-dependent and castration-resistant prostate cancer. *Pharmacology & Therapeutics*, 140(3), 223–238. <https://doi.org/10.1016/J.PHARMTHERA.2013.07.003>
- Shao, J., Zaro, J., & Shen, Y. (2020). Advances in Exosome-Based Drug Delivery and Tumor Targeting: From Tissue Distribution to Intracellular Fate. *International Journal of Nanomedicine*, 15, 9355–9371. <https://doi.org/10.2147/IJN.S281890>
- Shariat, S. F., Karam, J. A., Margulis, V., & Karakiewicz, P. I. (2008). New blood-based biomarkers for the diagnosis, staging and prognosis of prostate cancer. *BJU International*, 101(6), 675–683. <https://doi.org/10.1111/J.1464-410X.2007.07283.X>
- Sharma, P., Hu-Lieskovan, S., Wargo, J. A., & Ribas, A. (2017). Primary, Adaptive and Acquired Resistance to Cancer Immunotherapy. *Cell*, 168(4), 707. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2017.01.017>
- Shen, M. M., & Abate-Shen, C. (2010). Molecular genetics of prostate cancer: new prospects for old challenges. *Genes & Development*, 24(18), 1967. <https://doi.org/10.1101/GAD.1965810>
- Shin, S., Park, Y. H., Jung, S. H., Jang, S. H., Kim, M. Y., Lee, J. Y., & Chung, Y. –J. (2021). Urinary exosome microRNA signatures as a noninvasive prognostic biomarker for prostate cancer. *NPJ Genomic Medicine*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/S41525-021-00212-W>
- Sridaran, D., Bradshaw, E., DeSelm, C., Pachynski, R., Mahajan, K., & Mahajan, N. P. (2023a). Prostate cancer immunotherapy: Improving clinical outcomes with a multi-pronged approach. *Cell Reports. Medicine*, 4(10). <https://doi.org/10.1016/J.XCRM.2023.101199>
- Sridaran, D., Bradshaw, E., DeSelm, C., Pachynski, R., Mahajan, K., & Mahajan, N. P. (2023b). Prostate cancer immunotherapy: Improving clinical outcomes with a multi-pronged approach. *Cell Reports Medicine*, 4(10). <https://doi.org/10.1016/J.XCRM.2023.101199>

- Stewart, D. A., Cooper, C. R., & Sikes, R. A. (2004). Changes in extracellular matrix (ECM) and ECM-associated proteins in the metastatic progression of prostate cancer. *Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E*, 2. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-2-2>
- Stopsack, K. H., Su, X. A., Vaselkiv, J. B., Graff, R. E., Ebot, E. M., Pettersson, A., Lis, R. T., Fiorentino, M., Loda, M., Penney, K. L., Lotan, T. L., & Mucci, L. A. (2023). Transcriptomes of Prostate Cancer with TMPRSS2:ERG and Other ETS Fusions. *Molecular Cancer Research*, 21(1), 14–23. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-22-0446>,
- Sugiura, M., Sato, H., Kanesaka, M., Imamura, Y., Sakamoto, S., Ichikawa, T., & Kaneda, A. (2021). Epigenetic modifications in prostate cancer. *International Journal of Urology: Official Journal of the Japanese Urological Association*, 28(2), 140–149. <https://doi.org/10.1111/IJU.14406>
- Sun, Z., Shi, K., Yang, S., Liu, J., Zhou, Q., Wang, G., Song, J., Li, Z., Zhang, Z., & Yuan, W. (2018). Effect of exosomal miRNA on cancer biology and clinical applications. *Molecular Cancer*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/S12943-018-0897-7>
- Suzuki, K., Kise, H., Nishioka, J., & Hayashi, T. (2007). The interaction among protein C inhibitor, prostate-specific antigen, and the semenogelin system. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 33(1), 46–52. <https://doi.org/10.1055/S-2006-958461>
- Tanegashima, T., Shiota, M., Kimura, T., Takamatsu, D., Matsui, Y., Yokomizo, A., Saito, R., Morizane, S., Miyake, M., Tsutsumi, M., Yamamoto, Y., Tashiro, K., Tomida, R., Edamura, K., Narita, S., Yamaguchi, T., Kasahara, T., Hashimoto, K., Kato, M., ... Eto, M. (2024). Prognosis based on postoperative PSA levels and treatment in prostate cancer with lymph node involvement. *International Journal of Clinical Oncology*, 29(10). <https://doi.org/10.1007/S10147-024-02580-6>,
- Taylor, B. S., Schultz, N., Hieronymus, H., Gopalan, A., Xiao, Y., Carver, B. S., Arora, V. K., Kaushik, P., Cerami, E., Reva, B., Antipin, Y., Mitsiades, N., Landers, T., Dolgalev, I., Major, J. E., Wilson, M., Socci, N. D., Lash, A. E., Heguy, A., ... Gerald, W. L. (2010). Integrative genomic profiling of human prostate cancer. *Cancer Cell*, 18(1), 11–22. <https://doi.org/10.1016/J.CCR.2010.05.026>
- Testa, U., Castelli, G., & Pelosi, E. (2019). Cellular and Molecular Mechanisms

- Underlying Prostate Cancer Development: Therapeutic Implications. *Medicines* 2019, Vol. 6, Page 82, 6(3), 82. <https://doi.org/10.3390/MEDICINES6030082>
- Tian, P., Zhong, M., & Wei, G. H. (2021). Mechanistic insights into genetic susceptibility to prostate cancer. *Cancer Letters*, 522, 155–163. <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2021.09.025>
- Torre, L. A., Bray, F., Siegel, R. L., Ferlay, J., Lortet-Tieulent, J., & Jemal, A. (2015). Global cancer statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 65(2), 87–108. <https://doi.org/10.3322/CAAC.21262>
- Türk Tıbbi Onkoloji Derneği. (n.d.). *Prostat Kanseri Evreleme*. Retrieved December 3, 2024, from <https://www.kanser.org/saglik/toplum/kanser-turleri-alt-kategori/prostat-kanseri-evreleme>
- Türk Tıbbi Onkoloji Derneği -. (n.d.). *Prostat kanseri tanı ve tedavi yöntemleri*. Retrieved December 5, 2024, from <https://www.kanser.org/saglik/toplum/kanser-turleri-alt-kategori/prostat-kanseri-tani-yontemleri>
- Türkoğlu, M., Çetinkaya, Z., Girgin, M., Ayten, R., Kanat, B. H., & Aksu, A. (2014). *Kolorektal kanserlerde prognostik faktörler*. 41(4), 724–731. <https://doi.org/10.5798/diclemedj.0921.2014.04.0507>
- van der Ree, M. H., de Vree, J. M., Stelma, F., Willemse, S., van der Valk, M., Rietdijk, S., Molenkamp, R., Schinkel, J., van Nuenen, A. C., Beuers, U., Hadi, S., Harbers, M., van der Veer, E., Liu, K., Grundy, J., Patick, A. K., Pavlicek, A., Blem, J., Huang, M., ... Reesink, H. W. (2017). Safety, tolerability, and antiviral effect of RG-101 in patients with chronic hepatitis C: a phase 1B, double-blind, randomised controlled trial. *Lancet (London, England)*, 389(10070), 709–717. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31715-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31715-9)
- Van Deun, J., Mestdagh, P., Sormunen, R., Cocquyt, V., Vermaelen, K., Vandesompele, J., Bracke, M., De Wever, O., & Hendrix, A. (2014). The impact of disparate isolation methods for extracellular vesicles on downstream RNA profiling. *Journal of Extracellular Vesicles*, 3(1). <https://doi.org/10.3402/JEV.V3.24858>,
- Veglia, F., Perego, M., & Gabrilovich, D. (2018). Myeloid-derived suppressor cells coming of age. *Nature Immunology*, 19(2), 108. <https://doi.org/10.1038/S41590-017-0022-X>

- Vishweshwaraiah, Y. L., & Dokholyan, N. V. (2022). mRNA vaccines for cancer immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, 13. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2022.1029069>
- Wang, C., Wang, J., Cui, W., Liu, Y., Zhou, H., Wang, Y., Chen, X., Chen, X., & Wang, Z. (2021). Serum Exosomal miRNA-1226 as Potential Biomarker of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *OncoTargets and Therapy*, 14, 1441. <https://doi.org/10.2147/OTT.S296816>
- Wang, X. C., Tian, L. L., Fan, C. X., Duo, C. H., & Xu, K. M. (2021). The Adaptive Responses in Non-Small Cell Lung Cancer A549 Cell Lines Induced by Low-Dose Ionizing Radiation and the Variations of miRNA Expression. *Dose-Response*, 19(4), 15593258211039932. <https://doi.org/10.1177/15593258211039931>
- Wani, S., Kaul, D., Mavuduru, R. S., Kakkar, N., & Bhatia, A. (2017). Urinary-exosomal miR-2909: A novel pathognomonic trait of prostate cancer severity. *Journal of Biotechnology*, 259, 135–139. <https://doi.org/10.1016/J.JBIOTEC.2017.07.029>
- Wani, S., Law, I. K. M., & Pothoulakis, C. (2020). Role and mechanisms of exosomal miRNAs in IBD pathophysiology. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 319(6), G646. <https://doi.org/10.1152/AJPGI.00295.2020>
- Wasim, S., Lee, S. Y., & Kim, J. (2022). Complexities of Prostate Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(22). <https://doi.org/10.3390/IJMS232214257>
- Weinreb, J. C., Barentsz, J. O., Choyke, P. L., Cornud, F., Haider, M. A., Macura, K. J., Margolis, D., Schnall, M. D., Shtern, F., Tempany, C. M., Thoeny, H. C., & Verma, S. (2016). PI-RADS Prostate Imaging - Reporting and Data System: 2015, Version 2. *European Urology*, 69(1), 16–40. <https://doi.org/10.1016/J.EURURO.2015.08.052>
- White, J. A., Kaninjing, E. T., Adeniji, K. A., Jibrin, P., Obafunwa, J. O., Ogo, C. N., Mohammed, F., Popoola, A., Fatiregun, O. A., Oluwole, O. P., Karanam, B., Elhussin, I., Ambs, S., Tang, W., Davis, M., Polak, P., Campbell, M. J., Brignole, K. R., Rotimi, S. O., ... Yates, C. (2022). Whole-exome Sequencing of Nigerian Prostate Tumors from the Prostate Cancer Transatlantic Consortium (CaPTC)

- Reveals DNA Repair Genes Associated with African Ancestry. *Cancer Research Communications*, 2(9), 1005. <https://doi.org/10.1158/2767-9764.CRC-22-0136>
- Wortzel, I., Dror, S., Kenific, C. M., & Lyden, D. (2019). Exosome-Mediated Metastasis: Communication from a Distance. *Developmental Cell*, 49(3), 347–360. <https://doi.org/10.1016/J.DEVCEL.2019.04.011>
- Wu, E. H., & De Cicco, F. L. (2025). Anatomy, Abdomen and Pelvis, Male Genitourinary Tract. *StatPearls*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32965962/>
- Wu, Y., Sarkissyan, M., & Vadgama, J. V. (2015). Epigenetics in breast and prostate cancer. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1238, 425–466. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1804-1_23
- Xiao, G. Q., Golestani, R., Pham, H., & Sherrod, A. E. (2020). Stratification of Atypical Intraepithelial Prostatic Lesions Based on Basal Cell and Architectural Patterns. *American Journal of Clinical Pathology*, 153(3), 407–416. <https://doi.org/10.1093/AJCP/AQZ183>,
- Xu, Z., Wang, Z., Sun, H., & Xin, H. (2020). Evaluation of Exosomal miRNA in Blood as a Potential Diagnostic Biomarker for Human Non-Small Cell Lung Cancer. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 26, e924721-1. <https://doi.org/10.12659/MSM.924721>
- Ye, S. B., Li, Z. L., Luo, D. H., Huang, B. J., Chen, Y. S., Zhang, X. S., Cui, J., Zeng, Y. X., & Li, J. (2014). Tumor-derived exosomes promote tumor progression and T-cell dysfunction through the regulation of enriched exosomal microRNAs in human nasopharyngeal carcinoma. *Oncotarget*, 5(14), 5439–5452. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.2118>
- Yegnasubramanian, S., Kowalski, J., Gonzalgo, M. L., Zahurak, M., Piantadosi, S., Walsh, P. C., Bova, G. S., De Marzo, A. M., Isaacs, W. B., & Nelson, W. G. (2004). Hypermethylation of CpG islands in primary and metastatic human prostate cancer. *Cancer Research*, 64(6), 1975–1986. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-03-3972>
- Yencilek, F., Koca, O., & Kuru, M. (2018). Diagnosis in Prostate Cancer. *Nuclear Medicine Seminars*, 4(3), 163–173. <https://doi.org/10.4274/NTS.2018.020>

- Yi, B., Wang, S., Wang, X., Liu, Z., Zhang, C., Li, M., Gao, S., Wei, S., Bae, S., Stringer-Reasor, E., Wang, L., & Liu, R. (2022). CRISPR interference and activation of the microRNA-3662-HBP1 axis control progression of triple-negative breast cancer. *Oncogene*, *41*(2), 268–279. <https://doi.org/10.1038/S41388-021-02089-6>
- Ying, M., Mao, J., Sheng, L., Wu, H., Bai, G., Zhong, Z., & Pan, Z. (2023). Biomarkers for Prostate Cancer Bone Metastasis Detection and Prediction. *Journal of Personalized Medicine*, *13*(5). <https://doi.org/10.3390/JPM13050705>
- Yong, S. L., & Dutta, A. (2009). MicroRNAs in cancer. *Annual Review of Pathology*, *4*, 199. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PATHOL.4.110807.092222>
- Yu, X., Odenthal, M., & Fries, J. W. U. (2016). Exosomes as miRNA Carriers: Formation–Function–Future. *International Journal of Molecular Sciences*, *17*(12), 2028. <https://doi.org/10.3390/IJMS17122028>
- Zhang, J., Li, S., Li, L., Li, M., Guo, C., Yao, J., & Mi, S. (2015). Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, *13*(1), 17–24. <https://doi.org/10.1016/J.GPB.2015.02.001>
- Zhang, J., Yi, Q. T., Gong, M., Zhang, Y. Q., Liu, D., & Zhu, R. J. (2019). Upregulation of TRPV1 in spinal dorsal root ganglion by activating NGF-TrkA pathway contributes to pelvic organ cross-sensitisation in rats with experimental autoimmune prostatitis. *Andrologia*, *51*(8). <https://doi.org/10.1111/AND.13302>,
- Zhang, L., & Yu, D. (2019). Exosomes in cancer development, metastasis, and immunity. *Biochimica et Biophysica Acta. Reviews on Cancer*, *1871*(2), 455–468. <https://doi.org/10.1016/J.BBCAN.2019.04.004>
- Zhang, M. Y., Wang, L. Q., & Chim, C. S. (2021). miR-1250-5p is a novel tumor suppressive intronic miRNA hypermethylated in non-Hodgkin's lymphoma: novel targets with impact on ERK signaling and cell migration. *Cell Communication and Signaling : CCS*, *19*(1). <https://doi.org/10.1186/S12964-021-00707-0>
- Zhang, Y., Liu, Y., Liu, H., & Tang, W. H. (2019). Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential. *Cell & Bioscience*, *9*(1). <https://doi.org/10.1186/S13578-019-0282-2>

- Zhang, Z., Chen, L., Wang, H., Ahmad, N., & Liu, X. (2015). Inhibition of Plk1 represses androgen signaling pathway in castration-resistant prostate cancer. *Cell Cycle*, 14(13), 2142–2148. <https://doi.org/10.1080/15384101.2015.1041689>,
- Zhou, W., Fong, M. Y., Min, Y., Somlo, G., Liu, L., Palomares, M. R., Yu, Y., Chow, A., O'Connor, S. T. F., Chin, A. R., Yen, Y., Wang, Y., Marcusson, E. G., Chu, P., Wu, J., Wu, X., Li, A. X., Li, Z., Gao, H., ... Wang, S. E. (2014). Cancer-secreted miR-105 destroys vascular endothelial barriers to promote metastasis. *Cancer Cell*, 25(4), 501–515. <https://doi.org/10.1016/J.CCR.2014.03.007>
- Zhou, W., Su, Y., Zhang, Y., Han, B., Liu, H., & Wang, X. (2020). Endothelial Cells Promote Docetaxel Resistance of Prostate Cancer Cells by Inducing ERG Expression and Activating Akt/mTOR Signaling Pathway. *Frontiers in Oncology*, 10. <https://doi.org/10.3389/FONC.2020.584505>

FORMLAR

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

PKa tüm dünyada erkeklerde en yaygın görülen maligniteler arasında yer alırken; kansere bağlı ölümlerde de önemli yer tutar. Ölüm oranı yüksek olan bu kanser türü için erken tanı yöntemlerinin geliştirilmesi elzemdir. PKanın klinik tanısı için uygulanan standart yöntem prostata özgü antijen testidir. Bu yöntem PKanın tanısı için yüksek özgüllüğe sahip olmadığından, invaziv bir prosedür olan biyopsi işlemlerinin uygulanmasına yol açmaktadır. Uygulanan bu cerrahi yaklaşım hastada birçok komplikasyona neden olabilmektedir. Bu engelleri aşmak için PKa tanısında biyolojik sıvılardan kolay bir şekilde elde edilerek kullanılabilecek daha spesifik ve yeni biyobelirteçlerin geliştirilmesi ve klinik olarak kullanımının sağlanması önemli bir konu haline gelmektedir. Sıvı numuneler özellikle idrar, PKanın tanısında yeni biyobelirteçlerin geliştirilmesi için fırsatlar yaratan, minimal ve invaziv olmayan yöntemler sunan, güvenilir bir alternatif olabilecek ve tanısal potansiyellik sağlayabilecek önemli bir biyolojik sıvıdır. Aynı zamanda PKa hücrelerinden kökenlenen eksozomlar, mRNA'lar, mikroRNA'lar potansiyel biyobelirteçler, prostat sıvılarına ve ardından idrara salınmaktadır. Bu nedenle idrar PKa tanısında oldukça avantajlı bir konumdadır. Eksozomlar ise bünyelerinde barındırdıkları miRNA'lar sayesinde kanser gelişimi, proliferasyon, anjiyogenez, metastaz süreçlerine katılırlar. Aynı zamanda eksozomal miRNA'lar idrardan elde edilebilir ve kanser evrelerine göre idrardaki konsantrasyonları farklılık gösterebilir. Bu nedenle PKa erken tanısı ve tedavi takibi için idrardan izole edilen eksozomal miRNA'ların klinikte yeni biyobelirteçler olarak kullanım potansiyeli yüksektir yeni bir yaklaşım sağlamaktadır. Buradan yola

çıkılarak tez konusunun amacı, PKa hastalarında daha önce çalışılmamış miR-1250, miR-1226-3p, miR-3662 ve miR-4436a mikroRNA'larını idrardan elde edilen eksozomlar üzerinden çalışmak ekspresyon düzeylerini sağlıklı kontrollerle karşılaştırmaktır. Böylece bu moleküllerin erken teşhis ve tedavide potansiyel biyobelirteç olarak kullanılabileceğini göstermek ve literatüre katkı sağlamak amaçlanmıştır.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

Çalışma İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Kanser Genetiği Bilim Dalı Laboratuvarlarında yapılacaktır. Çalışmamızda aşağıdaki protokollerde belirtilen yol izlenecektir.

Daha önce kemoterapi ya da radyoterapi almamış, 30 primer veya metastatik Prostat kanser hastasının idrar örneğinden ve 20 sağlıklı donörün idrar örneğinden çalışma gerçekleştirilecektir.

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmada 50 gönüllüye ait idrar örnekleri incelenecektir.

ÇALIŞMAYA KATILMANIZ İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

Bu araştırma kapsamında hastanızın idrar örneğinin incelenmesine izin vermeniz size doğrudan herhangi bir fayda sağlamayabilir. Fakat PKa'de daha önce araştırılmamış bir mekanizmanın anlaşılmasına, hastaların bulunabilecek yeni tedavilerden veya mevcut olan tedavilerden daha çok yarar görmesini sağlayabilecek tedavilerin bulunmasına yardımcı olabilir. Bu araştırmanın sonuçları sadece bilimsel amaçlarla kullanılacaktır.

ÇALIŞMAYA KATILMANIZ İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?

Bu çalışma kapsamında hastanızın idrar örneğinin incelenmesine izin vermeniz herhangi bir riski bulunmamaktadır.

ÇALIŞMAYA KATILMANIZ NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

ARAşTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMENİZ DURUMUNDA NE YAPMANIZ GEREKİR?

Bu araştırmada hastanızın yer alması tamamen isteğinize bağlıdır. Hastanızın araştırmada yer almasını reddedebilirsiniz. Reddetmeniz durumunda bile hastanızın örnekleri standart yöntemlerle incelenecektir.

KATILMANIZ HALİNDE HASTANIZIN BİLGİLERİ KONUSUNDA GİZLİLİK SAğLANABİLECEK MİDİR?

Hastanıza ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileri gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileri verilmeyecektir. Ancak etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde hastanızın tıbbi bilgilerine ulaşabilir. Siz de istediğinizde hastanıza ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

Dr. Öğr. Üyesi Şeref Buğra Tunçer tarafından İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Kanser Genetiği Bilim Dalı Laboratuvarlarında tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır. İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Sorumlu Araştırmacı Dr. Öğr. Üyesi Şeref Buğra TUNÇER’i telefonda arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmza ve ulaşım bilgileri

PKande Eksozomal miRNA Moleküllerinin Araştırılması adlı çalışmada

İlgili genetik analiz ve miRNA ekspresyon analizi yaptırmayı:

EVET, ☐ istiyorum;

HAYIR ☐ istemiyorum.

Gönüllünün;

Adı Soyadı : _____ İmzası: _____

Tarih:.....

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı Soyadı: _____ imzası: _____

Tarih:.....

Hastanın Ulaşabileceği Hekim ve İletişim Bilgileri:

Adı Soyadı: Dr. Öğretim Üyesi Şeref Buğra TUNCER

İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, 34093 Çapa, İstanbul

Not: Bu form bir nüshası hastaya verilmek üzere, diğer nüshası arşivde saklanmak kaydıyla iki nüsha halinde hazırlanmış ve imzalanmıştır.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI, SOYADI		
ADRESİ		
TELEFON		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI, SOYADI		
ADRESİ		
TELEFON		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZASI
ADI, SOYADI		
TARİH		

GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI, SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

ETİK KURUL KARARI

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

PROSTAT KANSERİNDE EKSOZOMAL MİRNA MOLEKÜLLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

%9

BENZERLİK ENDEKSİ

%7

İNTERNET KAYNAKLARI

%6

YAYINLAR

%1

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

www.kanser.org
İnternet Kaynağı

%2

2

acikbilim.yok.gov.tr
İnternet Kaynağı

%2

3

dergipark.org.tr
İnternet Kaynağı

%1

4

Erturk, Elif. "Kanser Kok hucre Sinyal Iletim
yOlaklarinda Gorev Alan Mikrorna'larin Meme
Tumorlerinde Biyobelirtec Olarak
Degerlendirilmesi", Bursa Uludag University
(Turkey), 2021
Yayın

<%1

5

Submitted to Istanbul University
Öğrenci Ödevi

<%1

6

uhsk.org
İnternet Kaynağı

<%1

7

Submitted to Toros Üniversitesi
Öğrenci Ödevi

<%1