

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**PROSTAT KANSERLİ VE BENİGN PROSTAT
HİPERPLAZİLİ OLGULARDA ANDROJEN RESEPTÖRÜ
VE PROSTATA ÖZGÜ ANTİJEN GENLERİ
POLİMORFİZMLERİ**

118822

DOKTORA TEZİ

118822

Sezgin GÜNEŞ

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

Samsun
Eylül-2002

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**PROSTAT KANSERLİ VE BENİGN PROSTAT
HİPERPLAZİLİ OLGULARDA ANDROJEN RESEPTÖRÜ
VE PROSTATTA ÖZGÜ ANTİJEN GENLERİ
POLİMORFİZMLERİ**

DOKTORA TEZİ

Sezgin GÜNEŞ

**Danışmanlar: Prof. Dr. Hasan BAĞCI
Prof. Dr. Şaban SARIKAYA**

Samsun
Eylül-2002

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof.Dr. Hasan BAĞCI
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Hasan Bağcı

Üye: Prof. Dr. İlhan SEZGİN
Cumhuriyet Üniversitesi

İlhan Sezgin

Üye: Prof.Dr. A.Faik YILMAZ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

A. Faik Yılmaz

Üye: Doç.Dr. Mehmet ELBİSTAN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Mehmet Elbistan

Üye: Yrd.Doç.Dr. Nurten KARA
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Nurten Kara

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Süleyman Çelik

Prof.Dr. Süleyman ÇELİK

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Moleküler genetik bilim alanındaki ilgi ve bilgilerimin temellerinin atılmasında ve geliştirilmesinde büyük payı olan lisans, yüksek lisans ve doktora eğitimimde on bir yıllık danışmanım Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Hasan BAĞCI'ya, tez çalışmalarımda araştırılacak hasta grubunun oluşturulmasında yardım ve desteği olan danışmanım Üroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Şaban SARIKAYA'ya, ilgi ve desteğini gördüğüm Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi ve Doktora Tez İzleme Komitesi Üyesi Doç. Dr. Mehmet ELBİSTAN'a ve laboratuvar çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Nurten KARA'ya teşekkür ederim.

Hastalara tanı koymada, kan alımında ve tez çalışmalarımındaki katkılarından dolayı Üroloji Anabilim Dalı Başkanı ve Tez İzleme Komitesi Üyesi Prof. Dr. A. Faik YILMAZ'a, Üroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Recep BÜYÜKPELLİ ve Doç. Dr. Ramazan AŞÇI, Uzm. Dr. Cenk BİLEN'e ve Üroloji Anabilim Dalı asistanlarına teşekkür ederim.

Spektrofotometrik ölçümleri yapmama izin veren Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Muhlise ALVUR'a, istatistiki değerlendirmelerde yardımcı olan Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yüksel BEK'e ve Halk Sağlığı Öğretim Üyesi Yard. Doç. Dr. Sevgi CANBAZ'a teşekkür ederim.

Anabilim Dalımız Araş. Gör. Serbülent YİĞİT, Yüksek Lisans öğrencisi Nevin BALCI'ya ve Sağlık Teknisyeni Mustafa DÜZ'e ilgi ve destekleri için teşekkür ederim.

Doktora çalışmalarım boyunca gösterdikleri sabır ve yardımları için eşim Selçuk ve kızlarım İmge ve Öykü'ye, gösterdikleri yardım ve destek için anne ve babama teşekkür ederim.

Bu çalışmayı destekleyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Fonu (TB-284 No'lu Proje) ve TÜBİTAK'a (SBAG-2426 No'lu Proje) desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

ÖZET
PROSTAT KANSERLİ VE BENİGN PROSTAT HİPERPLAZİLİ OLGULARDA
ANDROJEN RESEPTÖRÜ VE PROSTATATA ÖZGÜ ANTİJEN GENLERİ
POLİMORFİZMİ

Sezgin GÜNEŞ, Doktora Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Eylül 2002

Androjen reseptörü (AR), etkilediği genlerin transkripsiyonunu hedef gen promotörlerindeki 'androgen response elements'e (ARE) bağlanarak gerçekleştirir. Prostata özgü antijen (PSA) geni polimorfik bir ARE içermektedir. Bu araştırma, bu bölgedeki iki alelik varyantın (A ve G), AR geni 1. ekzonundaki CAG ve GGC polimorfik bölgeleriyle farklı etkileşerek prostat kanseri ve benign prostat hiperlazileri (BPH) için risk faktörü oluşturabileceği olasılığını test etmek üzere planlandı.

65 prostat kanserli ve 60 BPH'li erkek hasta ile 51 erkek ve 30 kadın kontrolün lenfosit DNA'ları saflaştırılarak AR geni polimorfik (CAG)n ve (GGC)n bölgeleri ve PSA geni ARE bölgesinin genotipleri PCR ile belirlendi.

56 prostat kanserli olgu, 59 BPH'li olgu, 52 erkek ve 28 kadın kontrolün AR CAG tekrar uzunluğu hesaplandı. CAG tekrarlarının uzunluğu prostat kanseri ile ilişkilendirilemedi. Kısa CAG tekrarlarının (<21), BPH için % 60 risk faktörü oluşturduğu [Olasılıklar oranı (odds ratios, OR), 1.6, % 95 güven aralığı (confidence interval, CI), 0.72-3.33] görüldü.

51 prostat kanserli, 53 BPH'li, 51 erkek ve 30 kadın kontrolün AR GGC tekrarlarının uzunluğu hesaplandı. Uzun GGC (≥ 13) tekrarlarının prostat kanseri ve BPH'leri için % 60 risk faktörü oluşturduğu (Prostat kanseri: OR, 1.6; % 95 CI, 0.6272-3.913; BPH: OR, 1.63; % 95 CI, 0.65-4.01) görüldü.

65 prostat kanserli, 60 BPH'li, 48 erkek ve 29 kadın kontrolün PSA geni GA polimorfizmi değerlendirildi. PSA geni GG genotipli kişilerde, prostat kanseri riskinin 2 kat arttığı (Prostat kanseri: OR, 2.1; % 95 CI, 0.748-8.9; BPH: OR, 1.4; % 95 CI, 0.470-4.173) görüldü.

SUMMARY

POLYMORPHISMS IN THE ANDROGEN RECEPTOR GENE AND THE PROSTATE-SPECIFIC ANTİGEN GENES IN CASES OF PROSTATE CARCINOMA AND BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA

Sezgin GUNES, PhD Thesis

Ondokuz Mayıs University, Samsun, September 2002

The androgen receptor (AR) regulates gene transcription by binding to androgen response element (ARE) in the target gene promoters. The prostate-specific antigen (PSA) gene has a polymorphic androgen response element. This study was conducted to test the probability that, the two allelic variants (A and G) interact differently with the two polymorphic regions, CAG and GGC, in exon I of AR gene, thereby differentially influencing the prostate cancer and benign prostatic hyperplasia (BPH) risks.

Lymphocyte DNA samples from 65 prostate cancer cases, 60 BPH cases, 51 male control individuals and 30 women control individuals were genotyped by PCR for (CAG)_n and (GGC)_n polymorphisms and ARE region genotype of prostate-specific antigen gene.

56 prostate cases, 59 benign prostatic hyperplasia cases, 52 male and 28 female controls were genotyped for (CAG)_n polymorphism in AR. There was no association between the CAG repeat polymorphism in AR gene and the prostate cancer. Short AR CAG alleles (<21), increase BPH risk 60 % [Odds ratios (OR), 1.6, % 95 confidence interval (CI), 0.72-3.33].

51 prostat cases, 53 benign prostatic hyperplasia cases, 51 male and 30 female controls were genotyped for (GGC)_n polymorphism in AR. Long AR GGC alleles seem to (≥13) cause an approximately 60 % increase in the risk of prostate cancer and BPH [Prostate cancer: OR, 1.6; % 95 CI, 0.6272-3.913; BPH: OR, 1.63; % 95 CI, 0.65-4.01].

65 prostat cases, 60 benign prostatic hyperplasia cases, 48 male and 29 female controls were genotyped for GG polymorphism in PSA gene. Subjects with GG genotype have 2-fold increase in prostate cancer risk [Prostate cancer: OR, 2.1; % 95 CI, 0.748-8.9; BPH: OR, 1.4; % 95 CI, 0.470-4.173].

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ.....	1
II. GENEL BİLGİLER.....	4
1.1. Prostat Kanseri Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi.....	4
1.2. Benign Prostat Hiperplazisi Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi.....	6
2.3. Prostat Bezinde Endokrin Regülasyonu.....	7
2.4. Prostat Hücresinin Fonksiyonu.....	8
2.5. Prostat Kanseri	8
2.5.1. Semptomlar.....	8
2.5.2. Tanı.....	8
2.6. Prostat Kanserin Histolojik ve Klinik Progresyonu.....	12
2.7. Prostat Kanseri Kalıtsal Yatkınlık.....	13
2.8. Kalıtsal Prostat Kanseri Yatkınlık Genleri.....	14
2.9. Primer Prostat Kanseri Genetik Değişiklikler.....	15
2.10. Telomeraz ve Telomer Kısalması.....	18
2.11. Metastaz Yapan Prostat Kanseri Genetik Değişiklikler.....	18
2.12. Hormona Refrakter Prostat Kanseri Genetik Değişiklikler.....	19
2.13. Hormonal Tedavi Genetik Seleksiyona Sebep Olur.....	20
2.14. Prostat Kanseri Androjen Reseptör Gen Mutasyonları ve Tedavi Başarısızlığı.....	20
2.15. Prostat Kanseri Moleküler Patogenezi.....	21
2.16. Prostat Kanseri Androjen Reseptör ve Prostat Spesifik Antijen Genleri Polimorfizmlerinin Rolü.....	21
2.16.1. Androjen Reseptörü Geni	21
2.16.2. Androjen Reseptörü.....	22
2.17. AR'deki Genetik Değişiklikler ve Sonuçları	25
2.17.1. Androjen Duyarsızlık Sendromu (ADS).....	25
2.17.2. N-terminal CAG Tekrar Bölgesindeki Uzunluk Farklılıkları.....	26
2.17.3. Nokta Mutasyonları ve Prostat Kanseri.....	30
2.18. Androjen Reseptörü ve Prostat Karsinogenezi.....	32
2.19. Kallikrein 3 (KLK3); Prostata Özgü Antijen Geni.....	36

2.19.1. Biyomoleküler Özellikleri.....	36
2.19.2. PSA Geni Regülasyonu.....	36
2.20. Prostat Kanseriinde Gen Tedavisi.....	38
2.21. Tek Nokta Polimorfizmleri.....	40
III. MATERYAL VE METOD.....	42
3.1. DNA İzolasyonu.....	42
3.1.1. Solüsyonlar.....	42
3.1.2. DNA İzolasyon Yöntemi.....	43
3.1.3. DNA Miktarının Tayini.....	44
3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	44
3.2.1. AR Geni CAG Tekrar Bölgesi PCR Koşulları.....	45
3.2.2. AR Geni GGC Tekrar Bölgesi PCR Koşulları.....	46
3.2.3. PSA Geni ARE Bölgesi PCR Koşulları.....	47
3.3. Agaroz Jel Elektroforezi.....	48
3.3.1. Solüsyonlar.....	48
3.3.2. Jelin Hazırlanışı.....	49
3.3.3. Agaroz Jel Elektroforezi Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	49
IV. BULGULAR.....	50
4.1. AR CAG Tekrar Bölgesi Bulguları.....	50
4.2. AR GGC Tekrar Bölgesi Bulguları.....	55
4.3. PSA ARE Bölgesi Bulguları.....	60
V. TARTIŞMA.....	66
VI. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	71
VII. KAYNAKLAR.....	72
VIII. ÖZGEÇMİŞ.....	89

I. GİRİŞ

Gelişmekte olan ülkelerde yaşlı nüfusta bir patlama beklenmektedir. 2050 yılında, dünya tarihinde ilk kez yaşlı insan nüfusunun genç insan nüfusundan daha fazla olması beklenmektedir (Dede ve ark., 2002). Artan yaşlı nüfus kanser olgularının da artması demektir.

Prostat kanseri, Amerika'da erkeklerde en yaygın görülen kanserdir ve erkeklerde akciğer kanserinden sonra kansere bağlı ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır (Greenlee ve ark., 2000). 2000 yılında yaklaşık 190,000 prostat kanserli olgu ve 32,000 prostat kanserli ölüm gözlenmiştir. Prostat kanseri, Almanya'da da kansere bağlı ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almakta ve her yıl 28,000 hastaya tanı konulmaktadır (Paiss ve ark., 2001). Her sekiz erkekten birinin prostat kanseri olması beklenmektedir (Ries ve ark., 1999). Amerikan Kanser Derneği, 2002 yılında 30,200 kişinin prostat kanseri nedeniyle öleceğini hesaplamıştır (Vastag, 2002). Türkiye'de, bu konuda henüz istatistiki veri elde edilememiştir.

Yakın geçmişe kadar prostat kanseri yaşlı erkeklerin kaçınılmaz sorunu olarak görülmüş ve üzerinde çok az araştırma yapılmıştır. Son 15 yılda prostat kanseri biyolojisi ve tedavisi üzerindeki çalışmalar artmıştır. Bunun nedeni daha iyi yaşamak isteyen yaşlı popülasyonun artmasıdır. Temel araştırmalar, ileri moleküler biyoloji tekniklerinin gelişimi ve erken tanı ve tedaviye verilen yanıtın değerlendirilebildiği serum prostata özgü antijen (Prostate-specific antigen: PSA) testinin gelişimi ile desteklendi (Taplin ve Ho, 2001). Prostat bezi ile sınırlı tümörler, hem cerrahi hem de radyasyon tedavisine cevap verirken, ileri dönem metastaz yapan tümörler için uygun tedavi yoktur (Walsh ve ark., 1994; Hanks ve ark., 1994). Prostat kanserinin morbidite ve mortalitesini önlemeye yönelik yeni stratejiler geliştirilmelidir (Nelson ve ark., 2001).

Benign prostat hiperplazisi (BPH) de erkeklerde sık olarak gözlenen bir rahatsızlıktır. 60 yaşlarındaki erkeklerin yarısında histolojik olarak tanımlanan BPH bulunmakta, 85 yaşlarında ise prevalans % 90'a ulaşmaktadır. Amerika'da 80 yaşlarındaki erkeklerin % 25'i bu hastalıktan tedavi edilmekte ve her yıl 300 000 prostatektomi

yapılmaktadır (<http://www.jr2.ox.ac.uk/bandolier/band11/b11-3.html>). Otopsi çalışmaları 80 yaşındaki erkeklerin % 90'ında BPH olduğunu göstermiştir (Oiski ve ark., 1998).

Benign prostat hiperplazisi oluşumundaki faktörler arasında yaş, fonksiyonel testislerin varlığı, ailesel ve genetik faktörler (Özen ve Özkardeş, 1996), testosteronun dihidrotestosterona (DHT) dönüştürülebilmesi (örneğin, 5- α -redüktaz varlığı), fonksiyonel androjen reseptörleri, beslenme, etnik faktörler ve batılılaşmış yaşam tarzı bulunmaktadır (Kirby ve Christmas, 1993). BPH'nde ailesel ve genetik faktörlerin rol oynadığı ve klinik BPH için aile öyküsünün önemli bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir. BPH, prostat kanserinin aksine siyah ve beyazlarda aynı oranda görülmekte ve etnik farklılıklar göstermemektedir. BPH'de muhtemelen baskın Mendelian bir geçişin söz konusu olduğu düşünülmektedir (Anafarta ve ark., 1998).

Prostat kanserlerinin yaklaşık % 10'unun çevre faktörleri tarafından belirlendiği iddia edilmiştir (Coffey, 2001). Kalıtsal prostat kanseri yatkınlık genleri: HPC1 1q24-25, (Smith ve ark., 1996), PCAP 1q42.2-43, HPCX Xq27-28, CAPB 1p36, HPC20 20q13 ve HPC2/ELAC2 17p'deki lokuslarda yer almaktadır (Whittemore ve ark., 1999; Berry ve ark., 2000; Tavtigian ve ark., 2000).

Bununla birlikte androjenler, yaygın metabolik aktivasyona ve inaktivasyona uğradığı için androjen metabolizmasıyla ilgili enzimleri kodlayan genlerin prostat içindeki ve dışındaki polimorfizmleri prostat kanseri riskini etkilemektedir (Taplin ve Ho, 2001). Bu duruma SRD5A2, tip II steroid 5 α -redüktaz ve androjen reseptörü genleri polimorfizmleri örnek olarak verilebilir (Kelloff ve ark., 2001).

Prostat karsinogenezinde androjenlerin anahtar role sahip oldukları bilinmektedir. Prostat bezinde, normal ve malign hücre bölünmesi androjenlerin androjen reseptörü ile karşılıklı etkileşimi sayesinde kontrol edilmektedir (Ingles ve ark., 1997; Ross ve ark., 1998). Ayrıca son literatür bulguları, AR'ndeki genetik değişikliklerin prostat kanserinin oluşumunda önemli bir role sahip olduklarını belirtmektedir. AR'nün, endokrin tedavisinde ve prostat progresyonunda bir rolü vardır. (Eder ve ark., 2001). AR, prostatta androjenlerin proliferatif etkilerini yönlendiren bir transkripsiyon faktörüdür. AR yüksek derecede polimorfizm göstermektedir. Reseptörün 1. ekzonunda prostat kanseri ve BPH ile ilişkili olabileceği düşünülen sitozin-adenin-guanin (CAG) ve guanin-guanin-sitozin GGC

tekrarları yer almaktadır (Sleddens ve ark., 1992). Kısa CAG tekrarlarının, AR'nün transkripsiyon aktivitesinin artışı ile ilişkili olması nedeniyle, prostat kanseri riskinin kısa CAG tekrarları olan erkeklerde daha yüksek olduğu ileri sürülmüştür (Irvine ve ark., 1995). Söz konusu genetik özelliklere en sık olarak bu hastalığın mortalitesinin en yüksek olduğu Afrika'dan göç etmiş Amerikalı erkeklerde rastlanmaktadır (Edwards ve ark., 1992). AR transkripsiyonu, hedef promotörlerin 'androgen response element'lerine (ARE) bağlanarak gerçekleşir. Prostata özgü antijen (PSA) geninin promotörlerinden biri, polimorfizm gösteren bir ARE dizisine sahiptir (Rao ve Cramer, 1999). Androjen metabolizmasında etkili olan bu üç alelik varyant, prostat kanseri ve BPH riskini farklı şekillerde etkiliyor olabilir.

Bu çalışmamızda, prostat kanseri ve benign prostat hiperplazisi ile androjen reseptörü ve prostata özgü antijen genleri polimorfizmleri arasında bir bağlantının olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

II. GENEL BİLGİLER

2.1. Prostat Kanseri Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi

Prostat kanserine yol açan başlıca risk faktörlerini yaş [Amerika’da ortalama prostat kanseri görülme yaşı beyazlarda 71 siyahlarda ise 69 (Stanford ve ark., 1999)], ırk, aile öyküsü, beslenme, çevresel faktörler, androjen üretimi ve metabolizması ve diğer faktörler [vazektomi, benign prostat hiperplazi, Tip I insülin büyüme faktörü (IGF 1)] şeklinde sıralamak mümkündür (<http://osp.nci.nih.gov/PRGReport/prgetio.htm>).

Prostat kanseri, genellikle yaşlı erkeklerde görülmektedir. Ancak, en yüksek prostat kanseri ölüm oranı Amerika’ya göç etmiş Afrikalı erkeklerde görülmekte ve bunları İskandinav erkekleri takip etmektedir. Asyalı erkekler ise en düşük ölüm oranına sahiptir (<http://www.jr2.ox.ac.uk/bandolier/band11/b11-3.html>). Asya ülkelerinin erkek popülasyonu, Amerikan erkek popülasyonu ile karşılaştırıldığında en az 10 kat daha düşük prostat kanseri riski taşımaktadır (Coffey, 2001).

Epidemiyolojik çalışmalar, birinci derece akrabalar arasında prostat kanserinin mevcut olmasının, bireylerdeki prostat kanser riskini 2-3 kat arttırdığını ve hastalığın görülme yaşının da düştüğünü göstermiştir (Kallionemi ve Visakorpi, 1996). Prostat kanseri oluşumuna, otozomal dominant kalıtmı bir genin sorumlu olabileceği de ileri sürülmektedir (Kallionemi ve Visakorpi, 1996;

<http://www.jr2.ox.ac.uk/bandolier/band11/b11-3.html>). Bazı popülasyon çalışmaları, prostat kanser riskinin etkilenmiş erkek kardeşi olan bireylerde etkilenmiş babası olan bireylere göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu çalışmaların ortaya koyduğu sonuçlara ve X kromozomu üzerindeki androjen reseptörü gen polimorfizminin prostat kanseri ile yakın ilişkisine dayanarak prostat kanseri oluşumunun X kromozomal kalıtmı olabileceği düşünülmektedir (<http://www.jr2.ox.ac.uk/bandolier/band11/b11-3.html>; Narod ve ark., 1995). Japonlarda, son 30 yılda beslenme başta olmak üzere yaşam şeklinin değişmesi ve Amerika’ya göç etmelerle prostat kanseri insidansının arttığı gözlenmektedir (<http://www.jr2.ox.ac.uk/bandolier/band11/b11-3.html>).

Epidemiyolojik bulgular, prostat karsinogenezinde endojenik seks hormonlarının rolü bulunduğunu göstermektedir. Prostat kanserinin gelişmesinde androjenlerin rolü

bulunmaktadır. Bu hormonlar prostat hücrelerinin büyümesi, korunması ve fonksiyonunu gerçekleştirebilmesi için gereklidir. Prostat karsinogenezi anormal androjenik stimulasıyona bağılıdır. Bu durum, kastre edilmiş erkeklerin prostat kanseri geliştirmemesi (Wilson ve McPhaul, 1994) ve anabolik tedavi edici ajan olarak androjen kullanan erkeklerde prostat kanseri geliştirme insidansının artmasıyla desteklenmektedir (Guinan ve ark., 1976; Jackson ve ark., 1989; Roberts ve ark., 1986). Maternal östrojenin, fetal yaşamda prostatta skuamaz metaplaziye neden olduğu gösterilmiştir (Driscoll ve Taylor, 1980). Hayvan modelleri üzerinde yapılan araştırmalarda, östrojenlerin rat prostatında kansere neden olduğu gösterilmiştir (Ho ve ark., 1997). Bununla birlikte androjenler, yaygın metabolik aktivasyona ve inaktivasyona uğradığı için androjen metabolizmasında rolü olan enzimleri kodlayan genlerin prostat içindeki ve dışındaki polimorfizmleri prostat kanser riskini etkilemektedir (Taplin ve Ho, 2001). Bu duruma, SRD5A2, tip II steroid 5 α -redüktaz ve androjen reseptörü genleri polimorfizmleri örnek olarak verilebilir (Kelloff ve ark., 2001).

Epidemiyolojik çalışmalar, prostat kanserlerinin yaklaşık %10'unun çevre faktörlerinden kaynaklandığını göstermektedir. Evrim araştırmaları, prostat ve meme oluşumunun yaklaşık 65 milyon yıl önce memelilerin gelişimi ile gerçekleştiğini göstermiştir. Tüm memelilerde prostat bulunmakla birlikte, seminal veziküller beslenme şekillerine göre farklılıklar göstermekte ve primer olarak et tüketen canlılarda seminal veziküller bulunmamaktadır. *Homo sapiens*, yaklaşık 150000 yıl önce evrimleşmiş olmasına karşın, insan ve köpekler son 10000-15000 yılda beslenme şekillerini değiştirmişlerdir. Bu dönemden itibaren, insanlar köpek evcilleştirmeye, hayvan beslemeye, tanıma, yiyecek pişirmeye, et ve sebzelerini saklamaya başlamışlardır. Prostat kanseri, insan ve köpek dışındaki memelilerde ya çok ender rastlanmaktadır ya da hiç yoktur. Kırmızı et, hayvansal yağlar ve süt ürünleri tüketiminde artış, steroid kullanımı, vücut kütlesi ve doğum ağırlığı prostat kanser riski ile ilişkilendirilmiştir (Armstrong ve Doll, 1975; Griffiths ve ark., 1998; Lopez-Otin ve Diamandiz, 1998; Cancer Facts and Figures; 2000; Willets, 1996). Bu bulgular, prostat kanserinden korunmak için atalarımızın beslenme şekline dönmemiz gerektiğini göstermektedir (Coffey, 2001).

2.2. Benign Prostat Hiperplazisi Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi

Prostat hiperplazisi, glandüler ve/veya fibromusküler elementlerin değişen derecelerdeki hiperplazisi sonucu meydana gelen bir benign büyümedir. Benign prostat hiperplazisi oluşumundaki faktörler arasında yaş, fonksiyonel testislerin varlığı, ailesel ve genetik faktörler (Özen ve Özkardeş, 1996), testosteronun DHT'a dönüştürülebilmesi (örneğin, 5- α -redüktaz varlığı), fonksiyonel androjen reseptörleri, beslenme, etnik faktörler ve batılılaşmış yaşam tarzı bulunmaktadır (Kirby ve Christmas, 1993).

Prostat kanseri ve benign prostat hiperplazisi prostatın farklı kök hücrelerinden orijin almasına ve farklı etiyolojilere sahip olmalarına rağmen her iki olgu için de ortak risk faktörleri gösterilebilir. Bunlar; yaş ve fonksiyonel testislerin varlığıdır (Kirby ve Christmas, 1993).

BPH etiyolojisi ile ilgili teoriler:

1. Östrojen/testosteron dengesinin bozulması: İleri yaşlarda Leydig hücreleri tarafından testosteron yapım hızı azalmaktadır. Oysa, serum östrojen düzeyleri sabit kalmaktadır. İlerleyen yaşa bağlı olarak seks hormonu bağlayıcı globulin (SHBG) düzeylerinde de artış olmaktadır. Testosteron, bu proteine karşı daha yüksek affiniteye sahip olduğundan bu proteine bağlanmakta ve dolayısıyla serumdaki serbest östrojenlerin testosteroon oranını artırmaktadır. Östrojen miktarındaki bu artışın androjen reseptörü sayısının da artmasına ve bunun da hücre büyümesine yardım ettiği düşünülmektedir (Kirby ve Christmas, 1993).

2. DHT hipotezi: Östrojenlerin, yalnızca androjen reseptör sayısını arttırmakla kalmayıp, prostat dokusunda steroid metabolizmasını da değiştirerek DHT'nun yapımında artışa neden olduğu ve buna bağlı olarak 5- α -redüktaz aktivitesinin de arttığı görülmüştür. DHT yapımında ve nükleer androjen reseptörlerindeki artış androjenik uyarıyı artırmakta ve prostat bezinde büyümeye yol açmaktadır (Kirby ve Christmas, 1993).

3. Stromal-epitelyal etkileşim: Prostatik epitelyal hücreler, stroma tarafından büyüme ve gelişme yönünde stimule edilebilirler. Bu durum 'epitelyal yeniden uyanma' olarak adlandırılmaktadır. Epitelyal büyümeye testosteron ve DHT'nun katkısı olmadığı düşünülmektedir. Epidermal büyüme faktörü (EGF), keratinosit büyüme faktörü (KGF),

insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I ve II), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve transforme edici büyüme faktörü- β ailesi (TGF) miktarlarında artış görülmüştür (Kirby ve Christmas, 1993).

4. Kök hücre teorisi: Kök hücrelerinin anormal proliferasyona uğradığı düşünülmektedir.

5. Hücre ölümlerinin azalması: BPH dokusunun, normalden daha düşük mitotik hıza sahip olduğu ve artan östrojen miktarının prostat hücrelerinin yaşam süresini artırdığı düşünülmektedir (Kirby ve Christmas, 1993).

2.3 Prostat Bezinde Endokrin Regülasyonu

Prostat kanseri, öncelikle testosteron olmak üzere hormona bağımlı bir tümördür. Testosteron, prostat hücresinde değişime uğratılarak aktif androjen olan DHT'a dönüşmektedir.

Vücuttaki total androjenlerin % 95'i testosterondur. Bu hormon testislerin Leydig hücrelerinde, hipofiz ön lobundan salgılanan luteinizan hormonun (LH) stimülasyonu ile üretilmektedir. LH ve diğer gonodotropin olan follikül stimulan hormon (FSH), hipofiz ön lobundan salgılanır ve bu salgılama olayı, hipotalamus tarafından üretilen luteinizan hormon serbestleştirici hormon (LHRH) etkisiyle uyarılır. Prostat bezindeki hormonal aktiviteler hipotalamus-hipofiz-testis ekseninin kontrolü altında çalışır ve sürdürülür. Hipotalamus-hipofiz-testiste negatif feedback kontrolü söz konusudur. Testosteron düzeyleri azaldığında, uyarılan hipotalamustan LHRH salgılanır ve önce LH düzeyinin, sonra da testosteron salgısının artmasına yol açar. Testosteronun yükselmesi, hipotalamustaki LHRH salgısının azalmasına neden olur; dolayısıyla LH ve buna bağlı olarak da testosteron salgılanması azalır.

Adrenaller, vücuttaki ikinci androjen hormon kaynağıdır. Bunlar total androjenlerin % 5'ini oluştururlar. Adrenokortikotrop hormon (ACTH) tarafından uyarılarak sentezlenen adrenallerden, androstenedion ve dehidroepiandrosteron daha sonra periferik dokularda ve prostat bezinde testosterona dönüştürülmektedir (Taplin ve Ho, 2001).

2.4. Prostat Hücresinin Fonksiyonu

Dolaşımdaki testosteronun büyük bölümü, seks hormonu bağlayan globülüne (SHBG) veya albümüne bağlıdır. Dolaşımda serbest olarak bulunan % 2-3 oranındaki testosteronun ise, prostat bezinde kullanılan, fonksiyonel bakımdan aktif hormon olduğuna inanılmaktadır. Bu serbest testosteron, prostat hücresi membranından geçer ve hücrede 5- α reduktaz adlı enzimin etkisiyle dihidrotestosterona (DHT) dönüşür. Hücre içinde oluşan DHT'nun, androjen etkisi testosteronun 2.5 katıdır ve hücre çekirdeğindeki ilgili reseptörüne bağlanarak prostat hücresini fonksiyonel duruma geçirir (Geller ve ark.,1988; Labrie ve ark., 1987).

2.5. Prostat Kanseri

2.5.1. Semptomlar

Prostat kanseri, erken evrelerinde nispeten asemptomatiktir. Prostat kanserinde hastanın temel şikayeti prostat bezinin büyümesi sonucu idrar yolunda gelişen tıkanıklıktır. Mesane çıkışındaki bu tıkanma, çoğu zaman birdenbire ortaya çıkarak nöktürüye, sıkışma hissine, sık sık idrar yapmaya ve miksiyon başlangıcında gecikmeye neden olur. Bunun yanında, bütün bu semptomlara prostat hiperplazisinde de rastlanmaktadır. Prostat kanseri uzak metastazlar yaptığında, genellikle kemik ağrıları ortaya çıkar (Garnick, 1993).

2.5.2. Teşhis

a. Fiziksel muayene:

Prostat kanseri başlangıçta çoğu zaman, tıkanma şeklindeki idrar yolu semptomlarının nedenini bulmak üzere yapılan tıbbi muayene sırasında teşhis edilir. Semptom vermeyen prostat kanseri, rektal tuşe yapılarak ve prostata özgü antijen düzeyleri aracılığı ile teşhis edilebilir (Dearnaley, 1994; Mettlin ve ark., 1991). Rektal tuşe, rutin olarak kullanılır ve genellikle, lokal olarak ilerlemiş prostat kanserlerini teşhis eder; buna karşılık küçük hacimli habis değişikliklerin fark edilmesinde sınırlı bir duyarlılığa sahiptir. Rektal tuşenin pozitif tahmin değeri, % 22-31 gibi düşük oranlardadır (Crawford ve DeAntoni., 1994).

b. Dijital rektal muayene (DRM): Prostatı görüntülemeye kullanılan primer yöntem olmasına rağmen pozitif prediktif değeri tartışmalıdır.

Jacobsen ve arkadaşları DRM ile prostat kanser ölümlerinin % 50-70'inin önlenebileceğini bildirmişlerdir (Jacobsen ve ark., 1998). Friedman ve Chodac ise bu görüntüleme sisteminin çok az veya hiç yarar sağlamadığını bildirmişlerdir (Friedman ve ark., 1991; Chodac ve ark., 1989).

c. PSA: Hemen hemen yalnızca prostat epiteli tarafından salgılanan bir proteazdır ve bunun ölçülmesi, prostat kanserinin varlığını göstermek bakımından rektal tuşeden daha güvenilir bir yöntemdir (Schröder ve Boyle, 1993). PSA'nın düşük konsantrasyonları endometrium (Clements ve Mukhtar, 1994), meme dokusu (Yu ve ark., 1995), adrenal ve renal karsinomalarda (Levesque ve ark., 1995) ve kadınların serumlarında ölçülebilir değerde bulunur fakat klinikte prostat bezine özgü olarak kullanılmaktadır. PSA değerleri tümörün hacmi ve evresi arasında bir bağlantı vardır (Garnick, 1993). Son derece duyarlı olmasına rağmen PSA ölçümleri spesifik değildir; yani yalnızca prostat kanserlerinde değil, prostatit ve prostat hiperplazisi vakalarında da yükselir. Prostat kanserlerinin çoğunda serum PSA miktarı yükselmekle beraber organa sınırlı olanların % 20-25'inde 4 ng/ml'nin altında seyreder, BPH'lı hastaların % 25'inde ise 4 ng/ml'nin üzerindedir. Bu tip yanıltıcı bulgular prostat kanserlerinin erken evrede yakalanma şansını azaltmaktadır. Bu nedenlerle, PSA taramaları hala tartışmalıdır ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Ulusal Kanser Enstitüsü'nün bağımsız hakem değerlendirme panelinde 'PSA taramasının mortaliteyi azalttığı yönündeki kanıtlar yetersizdir' sonucuna varılmıştır (National Cancer Institute Physician Data Query, 9 Şubat 2002) (http://www.cancer.gov/cancer_information/pdq/). Bu yanılgıları önlemek için bazı alternatif formüller geliştirilmiştir. Serbest/total PSA (sPSA/tPSA) oranının kanserli hastalarda % 15-18'in altında olduğu tespit edilmiştir. Bu oran klinikte geniş kullanım alanı bulmuştur (Vastag, 2002).

d. Görüntüleme yöntemleri:

- a. Direk Üriner Sistem Grafisi ve Intravenöz Pyelografi (DÜSG, IVP): Böbrek fonksiyonlarının, mesanenin durumu, rezidüel idrar, kanserin trigon ve üreter alt uçlarına invazyonu ile oluşan üretorohidronefrozun durumunu gözlemede yararlıdır.
- b. Transrektal Ultrasonografi (TRUSG): prostat kanseri varlığını doğrulayan bir tekniktir (Rifkin ve ark., 1990).

- c. Bilgisayarlı Tomografi (BT): sPSA, preoperatif Gleason skoru ve TRUSG yapıldıktan sonra lenf nodüllerine olan metastazı tespit etmek için uygulanır (Anafarta ve ark., 1998).
- d. Magnetik Rezonans Görüntüleme (MRG): lenfadenopati, doku karakteri ve bölge anatomisini göstermede kullanılır (Anafarta ve ark., 1998).

e. Moleküler genetik tanı yöntemleri:

i. Prostata Özgü Membran Antijeni (PSMA) Ters Transkriptaz

Polimeraz Zincir Reaksiyonu [Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)] Tekniği: Moleküler genetikteki son gelişmeler periferik kanda sirküle olan tümör hücrelerini tanımaya izin vermektedir. Bu hücreler, hastalığın prognozu ve tedavisi hakkında önemli bilgiler vermektedir. Lösemi (Mensink ve ark., 1998; Eder ve ark., 1999), melanoma (Keilholz , 1998) ve Ewing's sarkoması (Zobek ve ark., 1996) bunlara örnek verilebilir. Bu yöntem, periferik kan lenfositlerinden elçi RNA'nın (mRNA) ekstrakte edilerek, PCR ile çoğaltılması yoluyla organla sınırlı, organ dışına yayılmış veya metastaz yapmış prostat kanserlerini ayırmaya yöneliktir. Bu yöntem yüksek duyarlılık göstermekte olup 10^6 nonprostatik hücrede bir prostatik hücreyi tanımlayabilmektedir (Diamandis ve Yu, 1995; Hicotte ve ark., 1997).

ii. Prostasin RT-PCR Tekniği: Prostasin, sadece prostat

epitelyel hücrelerinde sentezlenen ve semenden saflaştırılan bir glikoproteindir (Yu ve ark., 1994). PSA'nın özgül transkriptleri akciğer, meme bezi ve parotidde (Zargami ve ark., 1996; Zargami ve ark., 1997) ve PSMA'nın özgül transkriptleri ise mide, beyin, böbrek ve mesanede bulunmaktadır (Damas ve ark., 1999; Gala ve ark., 2000). Bu yöntem, prostasin eksprese eden prostat hücrelerini tanımaya yöneliktir. Yöntem hem özgül hem de duyarlıdır. Bu yöntem, metastaz yapan prostat kanserli hastaların % 63'ünde pozitif sonuç verirken, PSA bu hastalar için % 55 pozitif sonuç vermiştir (Laribi ve ark., 2001).

iii. Prostat Kanseri Biyomarkırlarının Kullanımında Mikroeray

(Microarray, GeneChipR, biochip, DNA chip, DNA microarray, gene array veya genome array) Kullanımı: Gen çipleri, bir dokuda hangi genlerin daha

fazla ya da daha az aktif olduğunu gösterir. Herhangi bir hastalıkta, hastalıklı ve sağlıklı dokularda gen ekspresyonlarının karşılaştırılmasıyla hastalıklı dokularda hangi genlerin daha aktif olduğu ve hangilerinin çalışmadığı görülebilecek dolayısıyla hastalıktan sorumlu olabilecek genler belirlenebilecektir (Berg ve ark., 1997).

Gen çiplerinin hazırlanması:

İncelenecek dokudan total mRNA saflaştırılır → Çift zincirli cDNA sentezlenir



cDNA'dan transkripsiyonu yapılan cRNA'lar biotin ile işaretlenir



İşaretlenen cRNA molekülleri GeneChip üzerindeki oligonükleotid proplar ile hibridizasyona sokulur

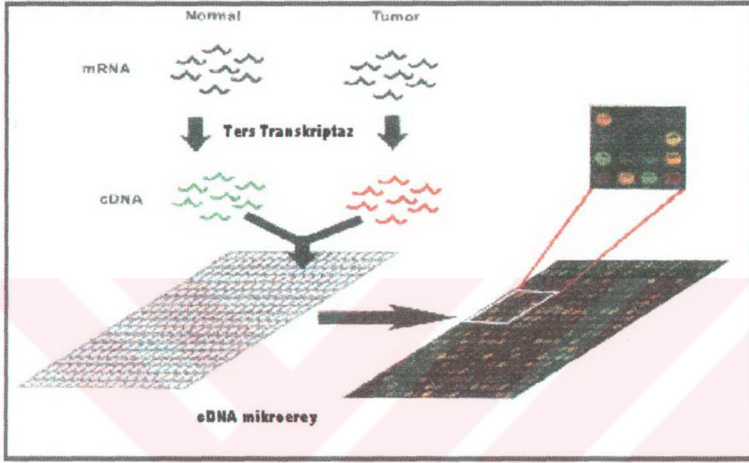


Hibridize olmayan cRNA'lar yıkanır, hibridize olan biotin işaretli cRNA'lar streptavidin-phycoerythrin konjugatı ile etkileştirilir



Laserscaner ile hibridize olancRNA'lar belirlenir (Şekil 1)

CRW22 İnsan prostat kanseri xenograft sistemi kullanılarak yapılan bir çalışmada, hormona duyarlı CWR22 tümörleri ile karşılaştırıldığında, hormona yanıt vermeyen prostat kanserlerinin $\frac{3}{4}$ 'ünde, çalışılan 5184 genden 172 tanesinin aktivitesinin azaldığı veya arttığı görülmüştür (Bubendorf, 2001). Aynı sistemle yapılan bir başka çalışmada, insulin-like growth factor-binding protein 2'nin (IGFBP2), hormona refrakter prostat kanserlerinin % 100'ünde, primer tümörlerin %37'sinde ekspresyonu artmış, BPH'lerde ise artış görülmemiştir. IGFBP2 aşırı ekspresyonu, epitelyel hücrelerde apoptozisi ve büyümeyi inhibe eden insulin-like growth factor I'ün (IGF-I) aktivitesini stimüle etmektedir (Cohen ve ark., 1991).



Şekil 1. cDNA mikroarray (Bubendorf, 2001)

2.6. Prostat Kanserinin Histolojik ve Klinik Progresyonu

Hastalığın, erken preinvazif prekürsör lezyonları, tekrarlayıcı, metastaz yapan, tedaviye dirençli-agresif tipleri bulunmaktadır (Gittes, 1991; Nagle ve ark., 1991). Prostat kanserinin, prostatik duktus ve asini lümenindeki salgı yapan epitelyal hücrelerden kaynaklandığına inanılmaktadır (Ware ve ark., 1994). Çoğu karsinoma, prostat bezinin periferinden, prostatik intraepitelyal neoplazmanın (PIN) bulunduğu bölgeden gelişmektedir. PIN'nin histopatolojik tanısını koymak zordur ve prostat kanserlerinin belirli bölümünün PIN'den geliştiği düşünülmektedir (Nagle ve ark., 1991; Ware ve ark., 1994). Erken görülen lezyonlardan biri de yavaş gelişen mikroskobik prostat kanseridir (Epstein, 1994). Histolojik incelemeler, prostat kanseri dışındaki nedenlerden dolayı ölen 70-80 yaşındaki erkeklerin % 50'den fazlasında mikroskobik adenokarsinom odağının varlığını göstermiştir (Sheldon ve ark., 1990). Sonuç olarak, 80 yaşlarındaki bir erkek için histolojik prostat kanser oluşumunun kaçınılmaz olduğu söylenilebilir fakat bu

lezyonlar birçok kişinin yaşamı boyunca klinik belirti vermemektedir. Birçok popülasyonda, klinik prostat kanseri insidansı büyük farklılıklar göstermesine rağmen histolojik prostat kanseri eşit sıklıkta görülmektedir (örneğin Japon ve Amerikalı erkekler)(Zaridge ve Boyle, 1987). Bu gizli (latent) histolojik kanserlerin klinik belirti veren tümörlere dönüşmesi prostat tümöregenezinin en önemli basamağıdır. Histolojik prostat kanserlerinden 9/10'u, kişilerin yaşamı boyunca, klinik olarak prostat kanserine dönüşmemektedir (Kallioniemi ve Visakorpi, 1996).

Hemen hemen tüm prostat kanserleri, farklı tümör derecelerine bölünebilen adenokarsinomalardır (Gleason, 1992). Prostat kanserinde, klinik evrelendirme primer tümörün ne derece yayıldığını değerlendirmek ve metastaz yapıp yapmadığını anlamak amacıyla ürolog ve onkologlar tarafından standart olarak kullanılmaktadır. İki evrelendirme sistemi vardır. Bunlardan A-D sistemi (Whitmore-Jewett) Kuzey Amerika'da, TNM (tümör, nodül, metastaz) sistemi Avrupa'da daha çok kullanılmaktadır (Gittes, 1991). Prostat kanserinde en yaygın kullanılan patolojik derecelendirme sistemi Gleason skorlamadır (Gleason, 1992). Hastanın yaşam süresi konusunda fikir veren başlıca prognostik faktör kanserin primer histopatolojik bulgusudur.

2.7. Prostat Kanserinde Kalıtsal Yatkınlık

Birinci derece akrabaları arasında prostat kanserli bir yakını olan bireydeki risk kontrol grubuna göre 2 kat, iki yakını olan bir bireydeki risk 5 kat artmaktadır (Carter ve ark., 1992; Steinberg ve ark., 1990). Prostat kanserine kalıtsal yatkınlığı olan kişi yalnızca risk altında kalmayıp erken yaş prostat kanserine de adaydır. Kalıtsal yatkınlık sadece % 5-10 olarak bildirilmiş ve erken yaş prostat kanserlerinin % 40'nın (55 yaş öncesi tanı konulanlar) kalıtsal bir bozukluktan kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Carter ve ark., 1992).

Segregasyon analizleri, erken yaş prostat kanserlerine otozomal dominant kalıtsal bir genin neden olabileceğini göstermiştir (Carter ve ark., 1992, 1993). Henüz tanımlanamayan bu alelin popülasyonlardaki tahmini frekansı yaklaşık 0.36'dır. Bu alele sahip olan bir kişinin, 85 yaşlarında prostat kanserine yakalanma riski % 88'dir. Prostat kanserli erkek kardeşi olan kişilerin, prostat kanserli babaları olanlara göre daha yüksek riske sahip olması temeline dayanarak X'e bağlı resesif kalıtsal bir genin prostat

kanserine neden olabileceği de ileri sürülmüştür (Narod ve ark., 1995; <http://www.jr2.ox.ac.uk/bandolier/band11/b11-3.html>).

Kalıtsal prostat kanseri (hereditary prostate cancer: HPC) riski bulunan kişiler “Hopkins Kriterleri” olarak adlandırılan özelliklere sahiptir. Bu özellikler: prostat kanserinin birinci kuşak akrabalar arasında en az 3 kişide görülmesi, maternal veya paternal geçişli 3 kuşakta prostat kanseri görülmesi ve 55 yaşın altında en az 2 yakınının etkilenmesidir (Carter ve ark., 1993).

Birçok araştırma grubu, bağlantı analizleri kullanarak kalıtsal prostat kanserli ailelerdeki genetik defekti ortaya koymaya çalışmaktadır. Prostat kanseri ile ilgili genlerin klonlanması ve haritalanması üç nedenden zordur (Ostrander ve Stanford, 2000) Bunlar:

1. Populasyonda çok sayıda sporadik olgu bulunmaktadır. Her 8 erkekten birinin prostat kanseri olabileceği tahmin edilmektedir (Ries ve ark., 1999).
2. Hastalığın görülme yaşına göre kalıtsal ve sporadik olguları ayırmak zordur.
3. Hastalık fenotip ve progresyonu tek bir aile içerisinde bile büyük farklılıklar göstermektedir.

2.8. Kalıtsal Prostat Kanseri Yatkınlık Genleri

İlk prostat kanser lokusu, HPC1 1q24-25'te haritalanmıştır (Smith ve ark., 1996). Bunu PCAP 1q42.2-43, HPCX Xq27-28, CAPB 1p36, HPC20 20q13 ve HPC2/ELAC2 17p'deki lokuslar takip etmiştir (Whittemore ve ark., 1999; Berry ve ark., 2000; Tavtigian ve ark., 2000)

Prostat kanseri ile ilişkilendirilen steroid metabolizmasından sorumlu genler de vardır: AR geni ve vitamin D reseptör geni polimorfizmleri, 5 α -redüktaz tip II (SRD5A2) yanlış anlamlı (missens) varyantları. Vitamin D reseptörü (VDR) geni, hücre proliferasyon ve differasyonunu düzenlemektedir. VDR vitamin D aktivasyonu için gereklidir (Feldman, 1997). Bazı araştırmalar, prostat kanserini, VDR genindeki BsmI, ApaI ve TaqI restriksiyon enzimi parçacık boyu polimorfizmi (restriction fragment length polymorphism, RFLP) ile ilişkilendirmiştir (Verbeek ve ark., 1997). 5 α -redüktaz tip II steroidi prostatta testosteronu daha aktif bir androjen olan dihidrotestosterona dönüştürür. Bu genin

Ala49Thr varyantının enzimin katalitik aktivitesini artırarak ileri dönem prostat kanser riskini de artırdığı düşünülmektedir (Makridakis ve ark., 1999; Jaffe ve ark., 2000).

2.9. Primer Prostat Kanserindeki Genetik Değişiklikler

Sitogenetik çalışmalar, prostat kanserlerinin ortalama % 25'inde (% 16-50) kromozomal anomaliler olduğunu göstermiştir (Babu ve ark., 1990; Brothman ve ark., 1990, Lundgren ve ark., 1992). Klasik sitogenetik analizler, prostat kanser hücrelerinin düşük mitotik hızı, zayıf büyüme ve karmaşık metafaz morfolojisi nedeniyle başarılı sonuçlar verememektedir. Floresans in situ hibridizasyon (FISH) yöntemiyle tümörlerdeki kromozomal bozuklukların yukarıda verilen ortalamadan daha fazla olduğu (% 70) gösterilmiştir (Kallioniemi ve Visakorpi, 1996) (Tablo 1).

Tablo 1: Prostat kanserinde görülen kromozomal düzensizlikler ve ilgili genler (Kallioniemi ve Visakorpi, 1996)

<u>Kromozom kolu</u>	<u>İlgili Genler</u>	<u>Metodlar</u>	<u>Açıklama</u>
Kayıp/aktivite azalması			
5q	APC, α -catenin	LOH, CGH, ekspresyonun azalması	Genellikle nükseden, tümörlerde
6q	—	CGH	
7 (q31.1)	—	Sitogenetik, LOH	
8p (p11-p12/p22)	—	Sitogenetik, LOH CGH, FISH	Erken lezyonlarda bulunur (PIN)

9p	MTS1	CGH, mutasyonlar	Sadece hücre hattı mutasyonları
10p	mxil1	Sitogenetik, LOH, CGH, mutasyonlar	Erken lezyonlarda bulunur (PIN)
11p (p11.2)	KAI1	Kromozom ve gen transferi, azalmış ekspresyon	Metastaz supresor aktivitesi
12 (pter-q13)	—	Kromozom transferi aktivitesi	Tümör supresör
13q	RB1	LOH, CGH, mutasyonlar	
16q(q23-qter)	E-cadherin	LOH, CGH, FISH, azalmış ekspresyon	Zayıf prognoz ile azalmış E-cadherin ekspresyon
17p	p53	LOH, CGH, mutasyonlar fazla ekspresyon, hipermetilasyon	İleri dönem ve zayıf prognoz ile ilişkili
17q	BRCA1	LOH	
18q (cen-q22)	DCC	LOH, CGH, azalmış ekspresyon	
19q	C-CAM	Azalmış ekspresyon	BPH ve PIN'de bulunur
11q	GSTP1	Hipermetilasyon, azalmış ekspresyon	
8q (q24)	myc	LOH, CGH, FISH ve fazla ekspresyon	Nükseden ve ileri dönem primer tümörlerle ilişkili

Artma/aktivasyon			
18q	bcl-2	fazla ekspresyon	Nükseden tümörlerde bulunur
X (p11-q13)	AR	CGH, FISH, mutasyonlar	Nükseden tümörlerde bulunur
Birkaç lokusta	ras Gen ailesi	Mutasyonlar	Batı ülkelerinde görülmez

NOT: LOH, heterozigotluk kaybı; CGH, karşılaştırmalı genomik hibridizasyon; PIN, prostatik intracipithelyal neoplazi; BPH, benign prostatik hiperplazi.

APC: adenomatous polyposis of the colon

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=175100>

MTS1: multiple tumor suppressor 1

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=600160>

KAI1: kangai 1, prostate cancer antimetastasis gene 1

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=600623>

RB1: retinoblastoma

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=180200>

E-cadherin: cadherin 1

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=192090>

p53: tumor supressor protein

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=191170>

BRCA1: breast cancer, type 1, breast cancer 1, early-onset

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=113705>

DCC: deleted in colorectal carcinoma

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=120470>

C-CAM: cavernous angiomatous malformations

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=116860>

GSTP1: glutathione s-transferase, p1

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=134660>

MYC: V-myc avian myelocytomatosis viral oncogene homolog; oncogene myc

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=190080>

Bcl2: B-Cell Cll/Lymphoma 2

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=151430>

AR : androjen reseptörü; dihydrotestosterone receptor, DHTR

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=313700>

RAS: ras proteini

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=605550>

2.10. Telomeraz ve Telomer Kısılması

Son zamanlarda tümör gelişmesinde merak edilen mekanizmalardan biri de telomer stabilizasyonudur. Telomerler yüzlerce ardışık tekrar dizisi (insanlarda TTAGG) içermekte olup telomer boyu her mitozda 50-200 nükleotid kısalmaktadır. İnsanda, 50-100 hücre bölünmesi sonrasında kritik düzeyde dizi kaybolmakta (1.5-4 kb) ve hücre yaşlanmaktadır. Ölümsüz kanser hücrelerinde bölünme sırasında telomer uzunluğunda bir kayıp görülmemektedir. Bu da telomerik dizilerin uzamasını sağlayan telomeraz aktivitesinin artmasından kaynaklanabilir. Normal somatik hücrelerde telomeraz aktivitesi ölçülebilecek sınırların altında iken, prostat kanseri de dahil olmak üzere malign tümörlerde telomeraz aktivitesi artmaktadır. Bazı BPH ve PIN olgularında da telomeraz aktivitesi gözlenmiştir (Kim ve Hruszkewycz, 2001).

Mitotik instabilite ve DNA onarım mekanizması bozuklukları gibi genomik kararsızlıklar da prostat kanseri progresyonu için zemin hazırlayabilir (Kallioniemi ve Visakorpi, 1996).

2.11. Metastaz Yapan Prostat Kanserlerindeki Genetik Değişiklikler

p53 mutasyonları, prostat bezi ile sınırlı tümörlerden çok özellikle kemik metastazı olan prostat kanserlerinde görülmektedir.

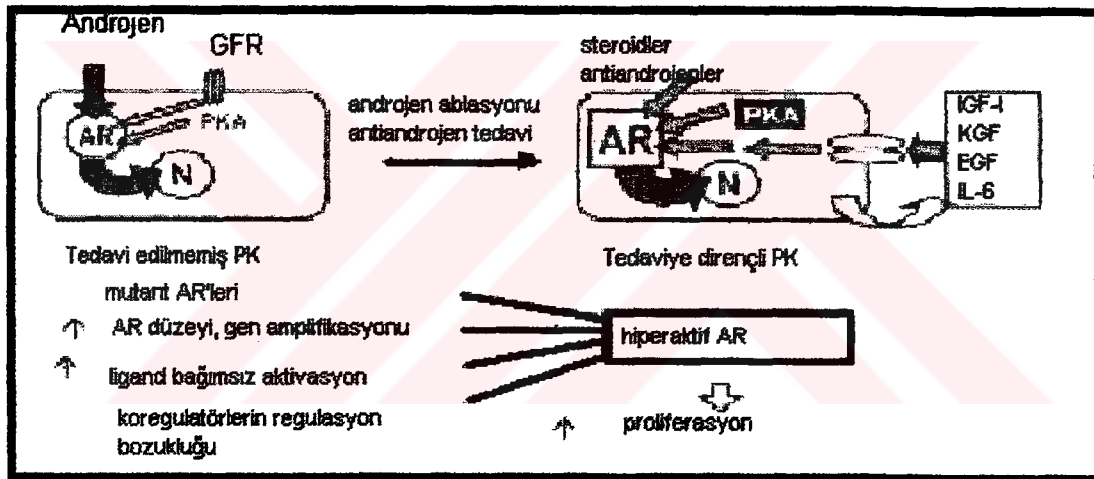
E-cadherin geninin azalmış ekspresyonu da metastatik potansiyel ile bağlantılıdır.

Prostat kanserine özgü metastaz supresör genleri, 11p(11.2-p13) ve 17pter-q23'te lokalizedir (Kallioniemi ve Visakorpi, 1996).

2.12. Hormona Refrakter Prostat Kanserlerindeki Genetik Değişiklikler

Prostat kanseri tedavisindeki en önemli sorunlardan biri endokrin tedavisindeki başarısızlıktır (Gittes, 1991). Nükseden tümör moleküler mekanizmaları ile ilgili birkaç hipotez bulunmaktadır:

1. Hormon refraktör (dirençli) kanserlerde, apoptosisi baskılayan bcl-2 onkogeninin aşırı ekspresyonu (McDonnell ve ark., 1992; Colombel ve ark., 1993).
2. Androjenden bağımsız büyüme mekanizmalarının aktivasyonu.
3. Mutant androgen reseptörlü hücre popülasyonları (Şekil 2) (Eder ve ark., 2001).



Şekil 2. Prostat kanserinde hormona direnç gelişimi mekanizması (Eder ve ark., 2001)

2.13. Hormonal Tedavi Genetik Seleksiyona Sebep Olur

CGH sonuçlarına göre nükseden prostat tümörlerinde, primer tümörlere nazaran genetik bozuklukların sıklığı 3 kat, amplifikasyonlar ise 5 kat fazladır. Sonuç olarak, nükseden ve hormona refrakter tümör karmaşık bir genetik yapıya sahip olup büyük olasılıkla kararlı değildir (Kallioniemi ve Visakorpi, 1996).

CGH sonuçlarına göre nükseden prostat kanserlerinde, en sık görülen genetik değişiklikler 5q delesyonu, 7p, 8q ve Xq insersiyonlarıdır (Kallioniemi ve Visakorpi, 1996).

2.14. Prostat Kanserinde Androjen Reseptörü Geni Mutasyonları ve Tedavi Başarısızlığı

Yapılan araştırmalar, prostat kanserinin tekrarlama nedeninin AR genini etkileyen bazı mekanizmalardan kaynaklanabileceğini göstermektedir. Androjen reseptör geni, steroid bağımlılığında anahtar role sahiptir. Primer tümörlerde az sayıda AR gen mutasyonu olduğu görülürken, metastaz yapan tümörlerde genellikle çok sayıda AR gen mutasyonları bulunmaktadır (Taplin ve ark., 1995). AR amplifikasyonu, tümör hücrelerinde aşırı duyarlılığa neden olmakta ve androjenin azalmasına rağmen hücre bölünmesi devam etmektedir. AR geni amplifikasyonu, gen amplifikasyonunun ilaç direnci ve tedavi başarısızlığına neden olan ilk *in vivo* örneği olabilir (Visakorpi ve ark., 1995).

AR'nün hormon bağlanma bölgesindeki mutasyonlar ise, reseptörün özgüllüğünü değiştirerek hücreyi androjenden-bağımsız bir mekanizma ile proliferasyona itmektedir. Androjen blokajı, ileri prostat kanseri tedavisi için en çok kullanılan yöntemdir (Visakorpi ve ark., 1995).

2.15. Prostat Kanserinin Moleküler Patogenezi

'CpG adası' metilasyon ile π -sınıfı glutation S-transferaz-geni (GSTP1) inaktivasyonu prostat karsinogenezini başlatabilir. GSTP1 'CpG adası' metilasyon değişiklikleri, prostat kanserli DNA örneklerinin % 90'ında ve PIN DNA örneklerinin % 70'inde görülmektedir. Normal prostat epitelyal hücreleri, besin maddeleri aracılığı ile oluşan GSTP1 ekspresyon kaybının yol açtığı neoplastik transformasyona duyarlı olabilir. GST, oksidan ve elektrofilik kanserojenleri glutationa indirgeyerek inaktive etmektedir (Hayes ve Pulfort, 1995). Yağların, ratların karaciğer ve böbreklerinde promutajenik DNA adduktlarına (DNA addukt: örneğin, 7. azotuna benzo(a)pirene bağlanmış guanin gibi hasarlı baz ya da nükleotidlere verilen bir isimdir) yol açtığı ve özellikle sebzelerden elde edilen bazı bileşiklerin de laboratuvar hayvanlarını GST aktivitesini engelleyen kanserojenlere karşı koruduğu gösterilmiştir (Wattenberg, 1985; Fahey ve ark., 1997; Zhang ve ark., 1992). PIN ve prostat kanserli lezyonlar, Amerikada yaşayan 30-40 yaşlarındaki erkeklerin % 29'unun otopsilerinde görülürken (Sakr ve ark., 1994), prostat kanseri tanısı 65-75 yaşları arasında konmaktadır. GSTP1 geni defektif olan normal ve neoplastik prostat hücrelerinin, besin maddelerinden

kaynaklanan oksidan ve elektrofollere daha duyarlı olduğu düşünölmektedir. Uzun yıllar devam eden bu birikim, somatik genom değışikliklerine ve prostat kanseri oluşumuna neden olmaktadır. GSTP1 geni defektif olan normal ve neoplastik prostat hücreleri, besinlerden alınan heterosiklikamin kanserojenlere ve oksidanlara daha duyarlı olabilir. İonize radyasyon, siklogenazlar gibi enzimlerin aktiviteleri, seks steroid hormonları ve besin maddeleri oksidatif strese neden olarak prostat kanseri ve diğerkanserlerin patogeneğinde rol oynayabilir. Reaktif oksidanlar, genomik DNA dahil olmak üzere diğerk hücre elemanlarına zarar vermektedir (Ames ve ark., 1993; Ames ve ark., 1995). Oksidatif bazlar gibi genomik lezyonlara neden olan oksidatif ajanlar, DNA zincirlerinde kırıklara ve DNA-protein crosslinklerine neden olmaktadır (Ames ve ark., 1993). Oksidatif bazlar, mutasyonlarla ilişkilidirler. Son araştırmalar, prostat kanseri hücrelerinin kronik oksidatif stresten kaynaklanan genomik hasara uğrayabileceğini göstermektedir. Besin maddeleri yoluyla alınan mutajenler de prostat kanseri riskini arttırmaktadır. Birçok gıdada, heterosiklik amin kanserojeni, 2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5-β] piridin (PhIP) bulunmaktadır (McManus ve ark., 1990; Snyderwine ve ark., 1994). Dietlerinde PhIP bulunan ratların, küçük prostat kanseri lezyonları geliştirmeye aday oldukları görölmüştür (Shirai ve ark., 1999). Prostat hücrelerinde, GSTP1 ‘CpG adası’ hipermetilasyonu GSTP1 fonksiyon kaybı ve hücrelerin mutajenlere karşı duyarlılığının artmasına neden olur (Nelson ve ark., 2001).

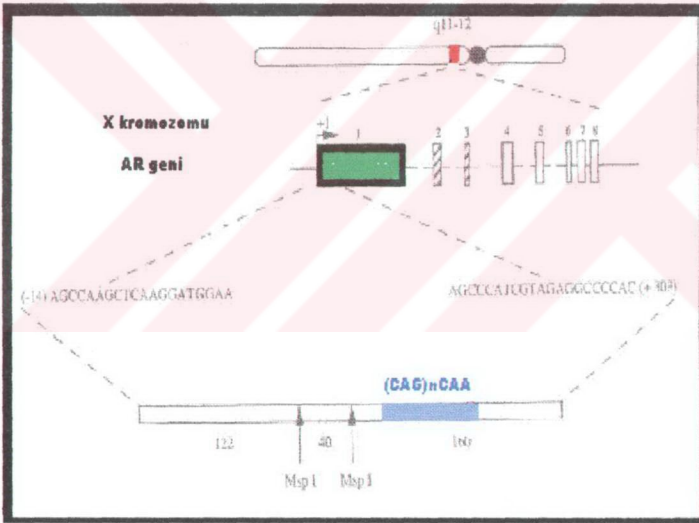
2.16. Prostat Kanserinde Androjen Reseptörü ve Prostat Spesifik Antijen Genleri Polimorfizmlerinin Rolü

Prostat bezinde, normal ve malign hücre bölünmesi dihidrotestosteron ve testosteronun, androjen reseptörü ile karşılıklı etkileşimi sayesinde kontrol edilmektedir. Bu bağlantıdan dolayı, AR geni kişilerin prostat kanserine duyarlılığını belirlemede genetik belirteç olarak kullanılabilir (Coetzee ve ark., 1994).

2.16.1. Androjen Reseptörü Geni (Dihidroksitestosteron Geni)

AR, Xq11-12'deki yaklaşık 90 kb'lık tek bir gen tarafından kodlanır (Lubahn, ve ark., 1988). Bu gen 8 ekzon içermektedir. I. ekzon poliglutamin, poliglisin ve poliprolin tekrarları olmak üzere üç homopolimerik aminoasit (aa) tekrarları içerir (Chamberlain ve ark., 1994). AR geni, *prostata özgü antijen* geni de dahil olmak üzere

diğer genlerin ekspresyonunu aktive etmektedir. AR'nün, CDK2, CDK4 ve p16 gibi hücre döngüsünü kontrol eden genlerin çalışmasını da kontrol edebileceği bildirilmiştir (Lu ve ark., 1997). Bu düzenleyici fonksiyon, proteinin 1. ekzon tarafından kodlanan N-terminal bölgesinde yer almaktadır. Bu ekzon aralarında yaklaşık 1.1 kb'lık uzaklık bulunan yüksek derecede polimorfizm gösteren (CAG)_n (Sleddens ve ark., 1992) ve daha az polimorfizm gösteren (GGN)_n tekrarları içermektedir. Glisin kodlayan, (GGN)_n tekrar sayısı, 8-17 arasında değişmektedir ve sağlıklı insanlarda çoğunlukla 16 tekrar ünitesi görülmektedir (Şekil 3). Poliglutamin kodlayan, (CAG)_n tekrar sayısı 9-29 arasında değişmektedir. (CAG)_n alel tekrarlarını uzunluğu etnik gruplar arasında farklılıklar göstermektedir (Sleddens ve ark., 1992; Sleddens ve ark., 1993).



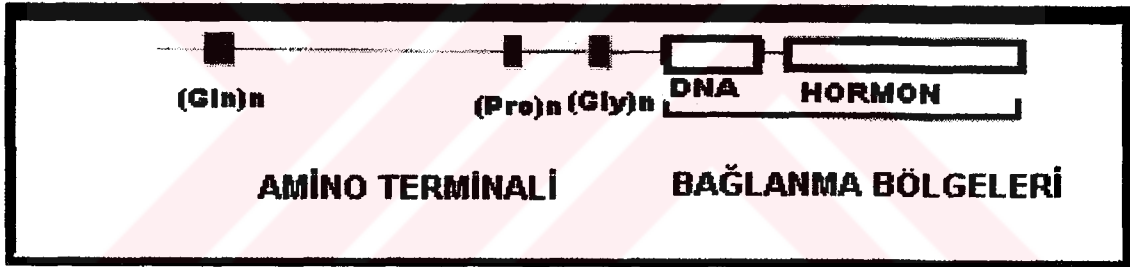
Şekil 3 : Androjen reseptörü geni (Lumbroso ve ark., 1997)

2.16.2. Androjen Reseptörü

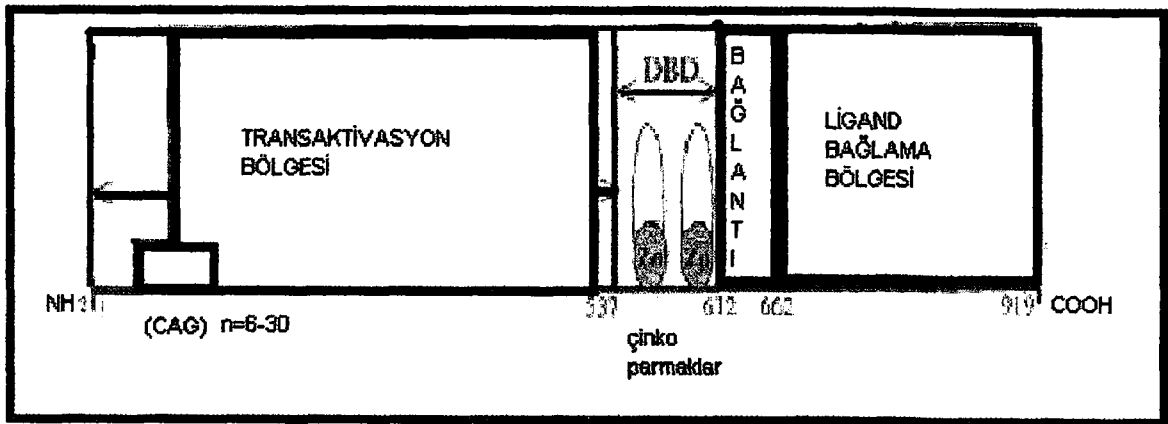
A. Yapısı

AR, liganda bağımlı nükleer transkripsiyon ailesindendir (Evans, 1988; O'Malley, 1990). İlk kez 1969'da tanımlanmış (Fang ve ark., 1969) ve 1988'de

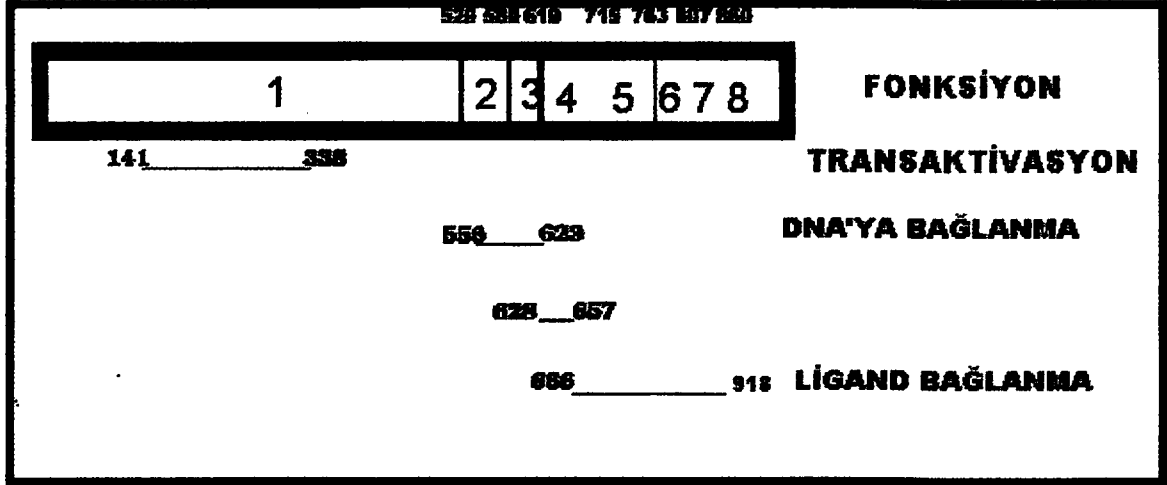
klonlanmıştır (Chang ve ark., 1988). Primer aminoasit dizisi yaklaşık 910-919 aminoasitten oluşur ve 98 kDa ağırlığındadır (Trapman ve ark., 1988). Bu ailede steroid hormon reseptörleri, retinoid ve tiroid hormon reseptörleri, vitamin D reseptörleri ve orfan (bir aileye ait olmayan) reseptörler yer almaktadır (Giguere, 1999; Whitfield ve ark., 1999; Kato, 2000; Peterson, 2000; Reichardt ve ark., 2000). Bu ailenin tüm üyeleri aynı moleküler yapıya sahiptir: C terminal ligand-bağlanma bölgesi (5. ekzon tarafından kodlanır), ARE'in tanınması için gerekli olan iki çinko parmak motifi ve bağlanma bölgesi içeren DNA bağlanma bölgesi (2. ve 3. ekzonlar tarafından kodlanmakta olup bu ekzonlar 152 bp ve 117 bp uzunluğundadır) ve N-terminal transaktivasyon bölgesi (1. ekzon tarafından kodlanır ve bu ekzon 1586 bp uzunluğundadır) (Jenster ve ark., 1993) (Şekil 4, 5 ve 6). Protein, ayrıca 627.-658. aminoasitleri (4. ekzonun proksimali) arasında AR'ünü hücre çekirdeğine yönlendiren nükleer lokalizasyon bölgesine sahiptir (Simental ve ark., 1991).



Şekil 4: Androjen reseptörü (McPhaul ve ark., 1993)



Şekil 5: Androjen reseptörünün moleküler yapısı (Eder ve ark., 2001)



Şekil 6: AR geni ekzonları ve görevleri (Keller ve ark., 1996)

Ligand bağlama ve DNA'ya bağlanma bölgeleri, diğer steroid reseptör bağlanma bölgeleri ile homoloji gösterirken N-terminal bölümü çok farklıdır. N-terminal bölge steroid reseptörler arasında en az korunan ve AR'nin temel transkripsiyon aktivitesi gösteren bölgesidir. DNA ve hormon bağlanma bölgeleri, diğer steroid reseptörler ve türler arasında korunmaktadır (Lubahn ve ark., 1988; Chang ve ark., 1988).

Reseptörde, iki aktivasyon bölgesi tanımlanmıştır. Bunlar AF-1 ve AF-2'dir. AF-1, ligandan bağımsız olarak aktive olur ve N-terminal bölgede yer alır (Jenster ve ark., 1991; Jenster ve ark., 1995). AF-2, hidrofobiktir, liganda bağımlı olarak aktive olur ve ligand bağlanma bölgesinde yer alır (Moilanen ve ark., 1997; Berrevoets ve ark., 1998). Transaktivasyon bölgesi, N-terminalin hemen hemen tamamını kapsar. Burada 100-379. ve 369-494. amino asitler arasında birbirinin üzerine gelen 2 bölge bulunmakta ve ligandan bağımsız olarak çalışmaktadır (Fang ve ark., 1969). Liganda bağımlı olmayan AR'leri, tersiyer yapılarını sağlamlaştırmak ve konstitütif aktivasyonlarını engellemek için ısı şoku proteinleri (heat shock proteins: HSP) 56, 70 ve 90'a bağlanır (Jenster ve ark., 1991). AR'nün, 3'transle edilmeyen bölgeleri farklı olan 10 kb ve 7 kb uzunluğunda iki transkripti birçok dokuda eksprese olmaktadır (Jenster ve ark., 1991).

B. Fonksiyonu

AR hormon yokluğunda ısı şoku protein kompleksine bağlanmakta ve inaktive edilmektedir (Smith, 1993). Hormon ligand bağlanma bölgesine bağlanır bağlanmaz bir seri reaksiyon başlar. Bunlar ısı şoku proteinlerinden ayrılma, hiperfosforilizasyon, dimerizasyon ve reseptörün aktif hale geçmesini sağlayan konformasyonel değişikliklerdir. Bu olaylar sonunda AR, DNA'daki hormona yanıt veren elementlere (hormon-responsive elements) bağlanarak transkripsiyon faktörüne dönüşür. Reseptörün bağlanmasıyla, androjenle-düzenlenen genlerin (androjen-regulated genes) transkripsiyonu başlar (Veltschote ve ark., 1992; Truss ve Beato, 1993; O'Malley, 1994). Androjenle regule edilen genler prostatein (prostatik binding protein), prostata özgü kallikrein 2, 'sex limited' protein, hücre çekirdeği proliferasyon antijeni (proliferating cell nuclear antigen), rat probasin ve prostata özgü antijendir (Page ve Parker, 1988).

AR'nün ligand bağlanma bölgesinde delesyon olması durumunda reseptör aktivitesinin tamamen yitirildiği görülmüştür. Bu nedenle ligand bağlanma bölgesinin, AR aktivitesini kontrol ettiği düşünülmektedir (Edwards ve ark., 1999).

2.17. AR'ndeki Genetik Değişiklikler ve Sonuçları

2.17.1. Androjen Duyarsızlık Sendromu (ADS)

AR'nde çok sayıda mutasyonlar ve genetik değişiklikler tanımlanmıştır. Bunlar ya konjenital (germ-line mutasyonları) ya da somatik hücre mutasyonları olabilir. Bazı germ-hattı mutasyonları, erkek psödohermafroditizmi ile ilişkilidir. Bu durumda, AR fonksiyonu normal erkek gelişimini bozan 'loss of function mutations' ile bozulmuştur. Sonuçta, belirli hedef organlar androjene yanıt verme yeteneğini kaybetmekte ve ADS gelişmektedir. Hastalarda, AR'deki bozulunun şiddetine bağlı olarak testiküler feminizasyon (complete androgen insensitivity sendrome, CAIS) ve parsiyel insensitivite sendromu (partial androgen insensitivity sendrome, PAIS) görülür. Bu bozukluklar kalıtsaldır ve AR geni X kromozomu üzerinde olduğu için kadınlar etkilenmediği halde taşıyıcı olabilmektedir. Bu mutasyonların tanımlanması tanı, tedavi ve mutasyon taşıyıcılarına genetik danışma verilebilmesi için gereklidir (Eder ve ark., 2001).

2.17.2. N-terminal CAG Tekrar Bölgesindeki Uzunluk Farklılıkları

Triplet tekrar artışı ile ilgili düzensizlikler dinamik mutasyonlar olarak tanımlanmaktadır. Bu mutasyonlar özgül triplet tekrar sayılarını önemli ölçüde arttıran nesiller arası kararsızlıklar ile karakterizedir. Bu hastalıklar arasında Frajil X E, Frajil X F, Spinal ve Bulbar Musküler Atrofi (SBMA), Miyotonik Distrofi (DM), Huntington Hastalığı (HD), Spinoserebellar Ataksi Tip 1 (SCA1), Spinoserebellar Ataksi Tip 2 (SCA2), Spinoserebellar Ataksi Tip 3 (SCA3), Spinoserebellar Ataksi Tip 6 (SCA6), Spinoserebellar Ataksi Tip 7 (SCA7), Dentatorubral Pallidoluysian Atrofi (DRPLA) ve Fredreich Ataksisi (FA) (Lumbroso ve ark., 1997; Kara, N, 1999) bulunmaktadır.

AR transaktivasyon bölgesi yüksek derecede polimorfizm gösteren iki bölge içermektedir. AR N-terminal poliglutamin bölgesindeki triplet tekrarları artışları spinal ve bulbar musküler atrofi (SBMA) veya diğer adıyla Kenedi hastalığı (Kennedy disease) olarak kendini göstermektedir (La Spada ve ark., 1991; Neuschimid-Kaspar ve ark., 1996; Ellerby ve ark., 1999). Bu nörodejeneratif hastalık kalıtsaldır ve hastalardaki CAG triplet tekrar sayısı 40'tan fazladır. Bu hastalar jinekomasti ve fertilizasyon azlığı gibi ADS'ye benzer semptomlar da gösterebilirler. Son araştırmalar, caspase-3'ün, elongasyona uğramış reseptörleri parçalayarak poliglutamin hastalıklarının patogenezinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Caspase-3 etkisiyle oluşan kısalmış (truncated) proteinler apoptosise neden olarak hastalıkların patogenezinin etkileyebilir (Ellerby ve ark., 1999; Kobayashy ve ark., 2000). Isı şoku proteinleri, CAG tekrar hastalıklarındaki, 'truncated' proteinlerin toksik agregatlarının oluşumunu azaltmaktadır. Patogeneizde rol oynayan diğer faktörler CREB-bağlanma proteini sequestrasyonu (çözünür halde kümelenme) (McCampell, 2000), artan Ca^{++} kanal aktivitesi ve AR ve c-jun karşılıklı olarak transkripsiyon aktivitesinin etkilenmesidir (Eder ve ark., 2001).

Birkaç çalışmada N-terminal CAG polimorfizminin prostat kanser riski ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Kısa CAG alelerinin, prostat kanser riski, ileri tümör stage ve gradeleri, hatta lenf nodülü-pozitif prostat kanseri metastazları ile bağlantılı olduğu bulunmuştur. Erkeklerde CAG tekrar sayılarının 19-22 altında olması, prostat kanseri için 1.5-2.1'lik artan bir risk oluşturmaktadır (Hardy ve ark., 1997).

(GGC)_n tekrar bölgesi, CAG tekrar bölgesine nazaran, PCR’da daha zor çoğaltılması, daha az polimorfizm ve etnik varyasyon göstermesi nedeniyle daha az çalışılmıştır. Bu çalışmaların sonuçları da çelişkilidir. Örneğin, Irvine ve arkadaşları, uzun (GGN)_n alellerinin (Irvine ve ark., 1997), Hakimi ve arkadaşları, ise kısa (GGN)_n alellerinin (Hakimi ve ark., 1997) prostat kanseri için risk taşıdığını bildirmişlerdir (Tablo 2).

Tablo 2: AR CAG ve GGC tekrarları ile ilgili çalışmalar

Çalışılan Bölge	Hasta ve kontrol Sayısı	Sonuç ve istatistik	Kaynak
AR CAG ve GGC tekrarları	57 sporodik prostat kanserli olgu 39 kontrol	CAG<22 ve 16 dışındaki GGC tekrarları RR (relative risk) =2.1 (p= 0.08)	Irvine ve ark., 1995
AR CAG ve GGC tekrarları	301 prostat kanserli olgu 277 kontrol	CAG<22 veya CAG≥22 ve GGC≤16 veya GGC>16 tekrarı için RO (relative odds; göreceli olasılık) (% 95 CI) değerleri sırasıyla 1.23 (0.88-1.73) ve 1.6 (1.07-2.41) olarak anlamlı bulunmuş. Her iki alelin kısa olması durumunda RO= 2.05 (1.09-4.01)	Stanford ve ark., 1997
AR CAG tekrarları	57 sporodik prostat kanserli olgu 169 kontrol	CAG<20 veya CAG≥20 RR= 2.1 (1.11-3.99)	Ingles ve ark., 1997

AR CAG ve GGC tekrarları	59 sporodik prostat kanserli olgu 370 kontrol	CAG $\leq$ 17 veya CAG $>$ 17 RR=3.7 (1.3-10.5) GGC $\leq$ 14 veya GGC $>$ 14 RR=4.6 (1.3-16.1)	Hakimi ve ark., 1997
AR CAG tekrarları	587 prostat kanserli olgu 588 kontrol	Kısa CAG tekrarları prostat kanser riski [RR = 1.52; % 95 CI=0.92-2.49; p=0.04], metastaz ve yüksek grade prostat kanserleri (RR=2.14; CI =1.14-4.01; p=0.001) ile ilişkili.	Giovannucci ve ark., 1997
AR CAG tekrarları	190 prostat kanserli olgu 186 kontrol	Prostat kanser riski OR (% 95 CI) 1.25 (1.0-1.57) ile değil genç yaşta tanı konulan hastalarla ilişkili (P= 0.07).	Bratt ve ark., 1999
AR CAG ve GGC tekrarları	178 prostat kanserli olgu 195 kontrol	CAG $\leq$ 21 veya CAG $>$ 21 ve GGC $\leq$ 16 veya GGC $>$ 16 OR (% 95 CI) değerleri sırasıyla 1.0 = (0.96-1.03) ve 1.06=(0.7-1.76) prostat kanser riski açısından anlamsız. GGC tekrarları, erken stage tümörleri ile ilişkili grade I (RR _{DFS} = 6.47, % 95 CI 0.57-72.8); Stage T1-T2 (RR _{DFS} = 3.56, % 95 CI 1.13-	Edwards ve ark., 1999

		11.21).	
AR CAG tekrarları	132 sporadik prostat kanserli olgu 105 kontrol	CAG<22 veya CAG≥22 OR (%95 CI)= 1.2 (0.7-2.0)	Correa-Cerro ve ark., 1999
AR CAG tekrarları	98 BPH'li hasta 61 kontrol	CAG tekrar sayısı ve BPH (t test p= 0.85) arasında ilişki yok.	Bousema ve ark., 2000
AR CAG ve GGC tekrarları	190 sporadik prostat kanserli olgu 340 kontrol	CAG<23 veya CAG≥23 ve GGC≤16 veya GGC>16 OR (% 95 CI) değerleri sırasıyla 1.65 = (1.14-2.39) ve 1.12=(0.71-1.78)	Hsing ve ark., 2000
AR CAG tekrarları	455 prostat kanserli hasta 456 kontrol	Prostat kanser riski (p=0.0004), stage (p= 0.018), grade (p= 0.41) veya PSA düzeyi (p= 0.48) ile ilişkısiz. CAG tekrar sayısı ve prostat kanseri görölme yaşı (p= 0.004)	Beiling ve ark., 2001
AR CAG tekrarları	68 BPH'li hasta 197 kontrol	Kısa CAG alleleri BPH [OR (%95 CI)= 0.41 (0.19-0.89)] ile İlişkili.	Shibata ve ark., 2001
AR CAG tekrarları	140 prostat kanserli olgu ve	CAG≤21 veya CAG>21 RR= 1.13	Miller ve ark., 2001

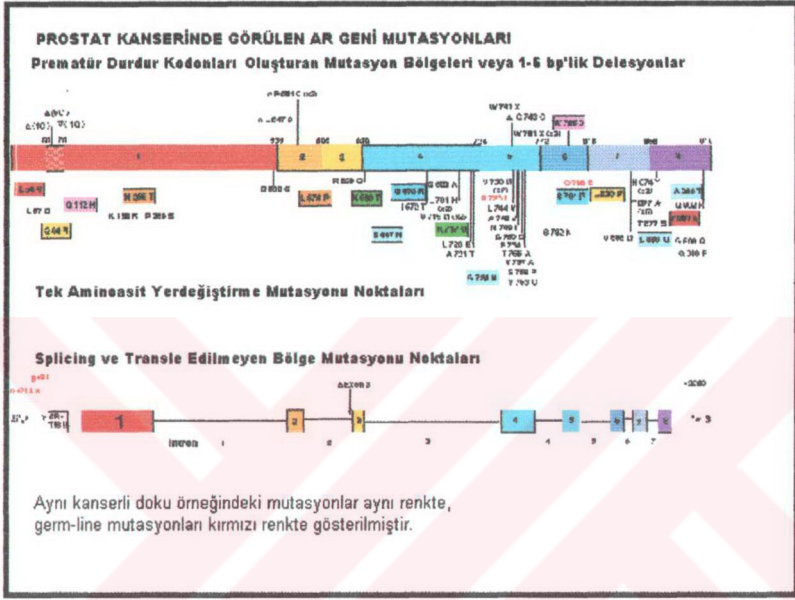
	olguların etkilenmemiş erkek kardeşi 70	(0.5-2.24) CAG≤16 veya CAG>16 RR= 0.98 (0.46-2.06)	
AR CAG ve GGC tekrarları	159 bağımsız hereditör olgu 245 sporadik prostat kanserli olgu 211 kontrol	CAG≤21 veya CAG≥22 RR= 0.81 (0.56-1.17) GGC≤16 veya GGC>16 p=0,007	Chang ve ark., 2002
AR CAG tekrarları	Toplam 1363; Prostat kanserli, BPH'li olgu ve kontrol	CAG≤18 OR=1.47 prostat kanserli olgular OR=0.47 BPH'li olgular	Mononen ve ark., 2002

2.17.3. Nokta Mutasyonları ve Prostat Kanseri

AR ile ilişkili hastalıklar için 300'ün üzerinde somatik ve germ hattı mutasyonu tanımlanmıştır (<http://www.mcgill.ca/androgendb/>, <ftp.ebi.ac.uk/pub/databases/androgen>, <http://www.MC33@musica.mcgill.ca>). AR mutasyonları, androjen insensitivite sendromunda ve SBMA'da fonksiyon kaybına yol açarken, prostat kanserli hücrelerde hipersensitivite ve reseptörün fonksiyon artışına yol açar (Crocitto ve ark., 1997; Culing ve ark., 1993; Ingles ve ark., 1997; Elo ve ark., 1995; Fentom ve ark., 1997; Taplin ve ark., 1995; Veldscholte ve ark., 1994; Zhao ve ark., 2000). Prostat kanserli tümörlerinde çok sayıda mutasyonlar tanımlanmıştır. İlk tanımlanan mutasyon, androjene duyarlı insan prostat kanserli hücre hatlarında yer almaktadır. AR'nün LBD 877. amino asitteki (T877A) nokta mutasyonu, AR'nün sadece androjenle değil progesteron, sentetik progestin R5020, progestagenic antiandrojen cyproterone acetate (CPA), estrodille, nonsteroidal antiandrojenler hidroksiflutamit ve nilutinamit ile de aktivasyon kazanmasını sağlayabilir.

Bu mutasyon, ileri dönem ve metastaz yapan prostat kanserli hastaların tümörlerinde bulmakta ve prostat tümör hücrelerinin büyümesine ve androjenden bağımsız prostat hücresi gelişimine neden olmaktadır. Dolayısıyla bu mutasyon, androjen ablasyon tedavisi ve antiandrojen kullanımında, AR aktivitesini engellemek yerine aktivasyonunu sağlayabilir (Eder ve ark., 2001).

AR'nün LBD 715. amino asitteki (V715M) mutasyonu, ileri dönem prostat kanserli biyopsi materyalinden tanımlanmıştır. Bu mutant reseptörler de sadece androjenle değil progesteron, adrenal androjenler, birkaç androjen metaboliti ve yüksek derecede antiandrojenlerle de aktive edilmektedir. Çift mutasyonlu AR (L701A ve T877A), diğerlerine ilave olarak kortizon ve kortizol gibi glukokortikoidlerle aktive olabilir. Erkeklerde, in vivo sirkülasyondaki glukokortikoid konsantrasyonunun bu mutant reseptörleri aktive etmek için yeterli olduğu düşünülmektedir. Bu glukokortikoidlere duyarlı AR mutantlarının prostat tümör progresyonunu etkilediği düşünülmektedir. Bunlar ileri dönem prostat kanseri için yeni yöntemlerin geliştirilmesi gereğini göstermektedir (Şekil 7).



Şekil 7: Prostat kanserinde görülen androjen reseptörü geni mutasyonları (<http://www.mcgill.ca/androgendb/>)

2.18. Androjen Reseptörü ve Prostat Karsinogenezi

Anrojenlerin, AR'ne bağlanması HSP'lerden ayrılmaya, dimerizasyon, fosforilasyon, ARE ile etkileşme, koregulatorlerin katılımlına, preiniasyon kompleksi oluşumuna ve androjenle regule edilen genlerin transkripsiyonuna neden olur (Prins, 2000).

Immunohistokimyasal çalışmalar, AR'nün primer, daha çok metastaz yapan ve hormona dirençli prostat kanserlerinde bulunduğunu açığa çıkarmıştır (Culig ve ark., 2000; Winter ve ark., 1990; Baumann ve ark., 1999; Trapman ve Cleutjens, 1997; Winter ve ark., 1990; Baumann ve ark., 1999). AR immuno-reaktivitesi hastalığın prognozu ve hormon tedavisine verilen yanıtın süresi açısından heterojenite göstermektedir (Winter ve ark.,

1990; Baumann ve ark., 1999; Winter ve ark., 1990; Baumann ve ark., 1999). AR aktivasyonu, normal prostatta olduğu gibi androjene duyarlı prostat kanserinde, proliferatif, apoptotik tümör büyümesini kontrol eden olaylara neden olur (Matsushima ve ark., 1999). Androjenlerin, sikline bağımlı kinaz 2 ve 4 ekspresyonunu artırdığı ve hücre döngüsü inhibitörü p16'nın aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (Lu ve ark., 1997). Bununla birlikte, prostat kanserli hücrelerde AR aktivasyonu, antiapoptotik faktör olduğu sanılan p21 (WAF 1/CIP 1)'in aktivasyonunun artmasına neden olmaktadır (Lu ve ark., 1999). p21 ekspresyonu, yüksek Gleason skoru ve hızlı proliferasyon gösteren ve ilerlemiş prostat kanserlerinde önemli derecede artmıştır (Aaltomaa ve ark., 1999). AR, antiapoptotik faktör Bcl-2 (Kolar ve ark., 2000) ve transforming growth factor β (TGF- β) sentezi üzerinde hem pozitif hem de negatif düzenleyici etki göstermektedir (Kim ve ark., 1996; Kyprianou ve Isaacs, 1989; Wikstrom ve ark., 2000). Androjenler, Insulinelike Growth Factor-binding protein (IGFBP)-5 sentezini stimule etmekte ve IGF-I fonksiyonunu indirekt olarak etkilemektedir. Bununla birlikte AR, nötral endopeptidazı inhibe ederek nöropeptit etkili prostat kanserli hücre büyümesini indirekt olarak kontrol eder (Sadi ve ark., 1991).

AR amplifikasyonu, primer kanserlerde ender, reküren tedaviye dirençli kanserlerde ise yaygındır [% 20 (Moul ve ark., 1995), % 30 (Visakorpi ve ark., 1995)]. AR amplifikasyonu, androjensiz ortamda da kanser hücrelerinin ekspansiyonuna neden olur. AR amplifikasyonu, androjen deprivasyon tedavisine yanıtın gecikmesi (>12 ay) durumunda görülür (Moul ve ark., 1995). AR amplifikasyonu, daha etkili ikinci sıra kombinasyon androjen blokajı (CAB) terapötik cevabı, daha uzun yaşam süresi ve daha yüksek PSA ekspresyonu ile de ilişkilidir (Moul ve ark., 1995; Keivisto ve Helin, 1999; Palmberg ve ark., 2000). Sonuç olarak, prostat kanseri hücreleri AR amplifikasyonu ve fazla ekspresyonu sayesinde androjensiz ortamda da yaşamını sürdürebilir (Taplin ve Ho, 2001).

AR geni mutasyonları ile androgen independence (AI) progresyonu arasında paralel bir mekanizma bulunmuştur. Bu mutasyonlar AR'nün tüm kodlama bölgesi, splicing ve translasyon olmayan bölgelerine yayılmıştır. Prostat kanserinde, AR geninde tanımlanan sıcak mutasyon noktaları 5. ekzondadır (Gottlieb ve ark., 1999). Bu mutasyonlar, ya reseptörün düşük androjen konsantrasyonunda ya da antiandrojenler ve nonandrojenik

ligandlarla da aktivasyonuna izin vermektedir. Sonuç olarak mutant reseptörlü prostat kanserleri, androjensiz ortamda daha iyi varlığını sürdürür (Prins, 2000). AR mutasyonları daima reseptör fonksiyonlarını artırmaya yönelik değildir. LBD'deki aminoasit 619. mutasyonu DNA'ya bağlanmayı engellemekte ve AR'nün transkripsiyon aktivitesini kaybetmesine neden olmaktadır (Takahashi ve ark., 1995).

Lokelize prostat kanserli hastalarda yapılan çalışmalar, primer tümörlerde AR mutasyonlarının çok ender olduğunu göstermektedir. Uzak metastaz yapan tümörlerde ise AR mutasyon sıklığı oldukça yüksektir (Ingles ve ark., 1997; Evans ve ark., 1996; Marcelli ve ark., 2000). AR mutasyon sıklığı, yüksek stage'lerde ve hatta ablasyon tedavisi öncesinde de artmaktadır (Marcelli ve ark., 2000; Bantel ve Tilley, 1996; Gaddipati ve ark., 1994; Tilley ve ark., 1996). Bu bulgular, AR mutasyonlarının tümör başlangıcını tetikleyen bir faktör olmayabileceğini ve bu mutasyonların androjen reseptör tedavisi sonucundan çok tedavi öncesinde oluşabileceğini göstermiştir. Androjen deprivasyon tedavisi, mutant klonlar için seçici bir ortam hazırlayabilir. Bu teori, AR mutasyonlarının özellikle antiandrojen tedavisi sonucunda metastatik prostat kanserlerinde bulunmasıyla desteklenmektedir (Ingles ve ark., 1997; Brinkmann ve Trapman, 2000; Culing ve ark., 1997; Taplin ve ark., 1999). Hormona refrakter prostat kanserlerinde bulunan mutasyon tiplerinin hastaya verilen hormonal tedaviye bağlı olması dikkat çekicidir. Örneğin, kombine androjen blokajı (combined androgen blockade: CAB) ile flutamit tedavisi gören hastalarda, flutamide bağlı kemik metastazlarında AR mutasyonlarının arttığı fakat androjen ablasyon monoterapisi uygulanan hastalarda artmadığı bildirilmiştir (Taplin ve ark., 1999). Bu bulgular, her antiandrojen tedavisinin belirli AR mutantları için seçici bir ortam oluşturduğu ve bu mutantların çoğalması için avantaj sağladığını göstermektedir. AR mutasyonu olan hastaların olmayanlara nazaran daha kısa süre yaşadıkları söylenemez. Sonuç olarak, AR mutasyonu, uzak metastaz bölgelerinde yeni klonal fenotiplerin oluşturulma mekanizmasında rol oynayabilir (Taplin ve Ho, 2001).

AR CAG tekrar bölgesi tarafından kodlanan poliglutamin tekrarları, AR reseptör transaktivasyonu ile ters orantı göstermektedir. Kısa CAG tekrar uzunluğu polimorfizmi (<22) artan prostat kanser riski ile ilişkilendirilmiştir (Irvine ve ark., 1995; Sartor ve ark., 1999). Bu aleller, genellikle Afrika'dan göç etmiş Amerikalı erkeklerde en sık (% 75 kısa

alel, median 18), Avrupa'dan göç etmiş Amerikalılarda daha az sıklıkta (% 62 kısa alel, median 21) ve Asya'dan göç etmiş Amerikalılarda daha da az sıklıkta (% 49 kısa alel, median 22) bulunmuştur. Sonuç olarak, AR kısa CAG tekrarları prostat kanseri riski yüksek ırklarda daha yaygındır. Kısa CAG tekrarları reseptör aktivitesindeki artışa bağlı olarak erken yaş prostat kanserleri ve erken tümöregenezle ilişkilidir (Bratt ve ark., 1999; Hardy ve ark., 1996). GGN ve GGC polimorfizmi de prostat kanser riskini etkileyebilir fakat fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir (Irvine ve ark., 1995; Correa-cerro ve ark., 1999; Platz ve ark., 1998; Stanford ve ark., 1997). Prostat kanseri ile AR polimorfik CAG ve GGC alellerinin bağlantısının çalışıldığı çok sayıda fakat farklı sonuçlar veren araştırma bulunmaktadır (Tablo 1). Prostat kanseri progresyonunda önemli olan bir diğer mekanizma da AR'nün ligandan bağımsız aktivasyonudur. Uyarıcı özellikteki bu faktörler arasında insuline-like growth faktör (IGF-I), keratinocyte growth factor (KGF), epidermal growth factor (EGF) ve cAMP, bütürat, IL-6 ve bombesin gibi hücre sinyal regülatörleri ve protein kinaz A gibi sinyal basamaklarındaki aktivatörler sayılabilir (Mou ve ark., 1995; Ruizeveld ve ark., 1994).

AR gibi steroid reseptörlerin aktivasyonu, reseptöre özgü veya genel koregülatörlere bağlıdır (Robyr ve ark., 2000). Son zamanlarda tanımlanan AR'ne özgü koregülatörler ARA54, ARA55, ARA24, ARA160 ve FLH2'dir (Muller ve ark., 2000; Yeh ve ark., 1999). CBP, SRC-1, ARA70 ve TRAM-1 gibi steroid reseptör koregülatörleri ve BRCA-1, RB ve Her2/neu gibi onkojenik moleküller de AR aktivasyonunu etkiler (Robyr ve ark., 2000). Koaktivatörlerin, değişen regülasyonu veya mutasyonları, prostat kanseri büyüme mekanizmasını da değiştirir (Taplin ve Ho, 2001).

Kısaca, yüksek aktiviteli AR'leri prostat karsinogenezine yardım eder. Sonuç olarak, polimorfik farklılıklar veya mutasyon aracılığı ile kısalmış poliglutamin tekrarları, reseptör hipersensitivitesi veya aktivasyonunun artmasına neden olan mutasyonlar ve gen amplifikasyonları prostat kanseri progresyonunu tetikleyen mekanizmalar olabilir. Androjen deprivasyon tedavisi, farklı AR fenotiplerinin seçimine neden olmakta ve tümör dokusundaki AR statüsünü değiştirmektedir. Koregülatörler, AR aktivasyonunun değişmesine neden olup androjene bağlı prostat kanserinden androjen bağımsızlığına geçişte yardım etmektedir (Taplin ve Ho, 2001).

2.19. Kallikrein 3 (KLK3); Prostata Özgü Antijen Geni (Prostate-specific Antigen: PSA veya APS)

Prostata-özgü antijen ilk kez seminal plazmada tanımlanmıştır (Hara ve ark., 1971) ve prostat epitel hücrelerinden izole ve purifiye edilmiştir (Wang ve ark., 1979). Bu antijenin, serumdaki konsantrasyonlarının (serbest ve total PSA düzeyleri) takibi prostat kanseri tanısında ve izlenmesinde yararlıdır (Stamey ve ark., 1987; Oesterling ve ark., 1988).

2.19.1. Biyomoleküler Özellikleri:

PSA'nın, yalnızca prostat epitelyal hücrelerinden salgılandığı kabul edilmekle birlikte (Papsidero ve ark., 1981), az miktarda periüretral ve perianal glandlarda da salgılanmaktadır. PSA, moleküler ağırlığı 34 kD olan 237 amino asitten oluşan tek zincirli bir glikoproteindir (Wang ve ark., 1979; Lilja, 1985). PSA, doku kallikreini (KLK2) ve glandular kallikrein (KLK1) gibi kallikrein ailesinden olan bir serin proteazdır (Riegman ve ark., 1991). Yüksek derecede homoloji gösteren bu üç gen 19q13.2-13.4'de kallikrein lokusunda kümelenmiştir (Scheidlich ve ark., 1987). PSA geni, 2 promotor, 5 ekzon ve 4 introndan oluşmaktadır ve yaklaşık 6 kilobaz uzunluğundadır. PSA geninde, üç tane ARE tanımlanmıştır (Cleutjens ve ark., 1997; Cleutjens ve ark., 1996).

2.19.2. PSA Geni Regülasyonu

PSA geninin transkripsiyonu, PSA mRNA'sı ve PSA proteini düzeyinin artmasına neden olur. Transkripsiyon, DNA bağlanma bölgesine özgü transkripsiyon faktörlerinin, PSA geninin 5' promotör bölgesine bağlanmasıyla başlar (Şekil 8).

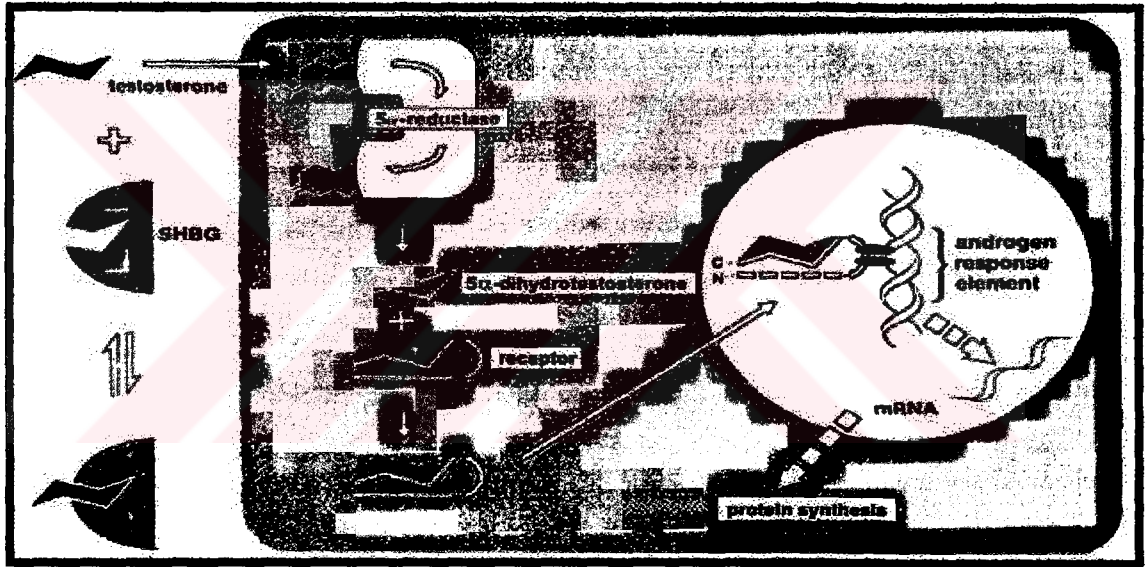
PSA mRNA'sı veya PSA proteini sadece normal prostat epitelyal hücrelerinde değil, BPH dokusunda, primer ve metastaz yapan prostat kanseri hücrelerinde de gözlenmektedir (Nadji ve ark., 1981).

A. Androjene Bağlı Prostat Dokusu

PSA geninin ekspresyonu, normal prostat hücrelerinde, BPH dokusunda ve androjene-bağımlı prostat kanserinde, doğrudan androjenlerin androjen reseptörlerine bağlanmasıyla düzenlenir (Carso-Juria ve ark., 1990). AR transkripsiyonu, hedef genin

promotör bölgesinde yer alan ARE bağlanarak gerçekleştirir. PSA geni promotörlerinden biri ARE içermektedir. Promotörün, -158 pozisyonunda G/A polimorfizmi bulunmaktadır. Buradaki iki alelik formun AR ile farklı şekillerde etkileşeceği ve prostat kanser risk oranını değiştireceği düşünülmektedir. Kısa CAG aleli ve PSA GG genotipli bireylerin 5 kat daha yüksek prostat kanser riski gösterdiği bildirilmiştir (Xue ve ark., 2000).

Ayrıca AR genel ve özgül transkripsiyon faktörlerine bağlanarak sağlam bir başlangıç kompleksi oluşturur. Buna dayanarak, androjene bağlı dokularda PSA gen ekspresyonu primer olarak androjenlerce düzenlenmesine rağmen transkripsiyon faktörlerinden etkilenebilir (Forman ve ark., 1990).



Şekil 8 : Androjene bağlı PSA geni ekspresyonu (Bruchovsky ve ark., 1993)

PSA transkripsiyonunun, androjenler dışında dokuya özgü kofaktörlerden de etkilendiği düşünülmektedir (Rennie ve ark., 1993; Adler ve ark., 1991). D vitamini, sodyum bitürat ve insulin-like growth factor'lerin (IGF) PSA sentezini stimule ettiği; epidermal growth factor (EGF), fibroblast growth factor (FGF), dimetilsülfoksit (DMSO), fenretinidin ve dimetilforamidinin de inhibe ettiği düşünülmektedir (Culig ve ark., 1994).

PSA'nın, bazı büyüme faktörlerinin çalışmasını düzenleyebileceği öne sürülmüştür. In vitro deneyler, PSA'nın major insulin-like growth factor binding proteini (IGFBP-3) proteoliz ederek serbest IGF'lerin açığa çıkmasına neden olduğunu göstermektedir. IGFleri, bazı hücreler üzerinde güçlü mitojenik ve antiapoptotik etkiye sahiptir ve hücrelerin proliferasyon ve diferansiasyonunun kontrolünde gereklidir (Iwamura ve ark., 1996; Cramer ve ark., 1996). Sodyum bitürat ve insulin-like growth factor'lerin (IGF) PSA sentezini stimule ettiği; epidermal growth factor (EGF), fibroblast growth factor (FGF), dimetilsülfoksit (DMSO), fenretinidin ve dimetilforamidinin ise transkripsiyonu inhibe ettiği düşünülmektedir (Culig ve ark., 1994).

PSA'nın, bazı büyüme faktörlerinin çalışmasını düzenleyebileceği öne sürülmüştür. In vitro deneyler, PSA'nın major insulin-like growth factor binding proteini (IGFBP-3) proteoliz ederek serbest IGF'lerin açığa çıkmasına neden olduğunu göstermektedir. IGFler bazı hücreler üzerinde güçlü mitojenik ve antiapoptotik etkiye sahiptir ve hücrelerin proliferasyon ve diferansiasyonunun kontrolünde gereklidir (Iwamura ve ark., 1996; Cramer ve ark., 1996).

B. Androjenden Bağımsız Prostat Dokusu

Kastrasyon sonrası, androjene bağlı PSA gen ekspresyonunun kesilmesinden dolayı serum PSA düzeyi ve kastrasyona bağlı apoptosis nedeniyle tümör hacmi küçülmektedir. Serum PSA'sının kastrasyon sonrası yükselmesi daha önceleri androjene bağımlı olan genin nonandrojenik olarak çalışmaya başladığını göstermektedir (Gleave ve ark., 1993).

2.20. Prostat Kanseri Gen Tedavisi

Prostat kanseri tanısı ve tedavisindeki gelişmelere rağmen, hastaların % 27-53'ünde standart tedavi yöntemleri başarısız olmaktadır. Hastaların, % 19'unda ise tanı konulduğunda hastalık ilerlemiş durumdadır (Brawley ve ark., 2000). Primer tedaviye cevap vermeyen veya ileri dönem prostat kanserli hastalar için yeni tedavi yöntemleri üzerinde çalışılmaktadır. Prostat kanserinin bazı özellikleri gen tedavisinin uygulanabilmesi için uygundur. Prostat kanseri, yavaş geliştiği için ortadan kaldırılamamış olsa da uzun süreli takip edilebilir. Gen tedavisine verilen yanıt PSA,

biyopsi ve görüntüleme yöntemleri ile takip edilebilir. Gen tedavisi, bu yavaş büyüyen ve morbiditesi düşük olan tümörlere tekrar tekrar uygulanabilir (Tindall ve Scardino, 2001).

Prostat kanseri gen tedavisi 2 farklı şekilde gerçekleştirilebilir:

1. Mutasyona uğrayan, tümör baskılayıcı genlerin apoptosisi artıracak genlerle değiştirilmesi: Apoptosiz, hücre ölümü ile sonuçlanan biyolojik bir prosestir. Hormona refrakter prostat kanserli hastalara, rekombinant p53 adenovirüsleri kullanılarak gen tedavisi uygulanmıştır. Tedavi edilen 17 hastadan 3'ünün tümörlerinde % 25 küçülme olmuştur (Logothetis ve ark., 1999). Bcl-2, Caspase-3 ve Caspase-7 gibi apoptozisi uyuracak genler de kullanılabilir (Shalev ve ark., 2001).

2. Konakçı bağışıklık sistemini uyuracak ve tümöre özgü tümör infiltrasyon sitotoksik T lenfosit aktivasyonunu sağlayacak genin nakledilmesi: Bu yöntem, uygun gen transfeksiyonundan sonra tümör hücrelerinin sitokin üretmesini sağlamaya yöneliktir.

İki intihar gen terapisi yöntemi üzerinde çalışılmaktadır. Bu yöntemler Herpes simplex virus timidin kinaz (HSV-tk) ve *Escherichia coli* sitozin deaminaz (CD) gen tedavileridir. Bu tedavilerde kullanılan öncü ilaçlar ganciclovir (GCV) ve 5-fluorositozindir (5-FC). Bu gen tedavisi sistemleri, nekroz ve apoptosiz yoluyla tümörün yok etmektedir (Singhal ve Kaiser, 1998).

Ko ve arkadaşları, prostat kanserindeki metastatik bölgeleri tedavi etmek için intihar gen tedavisi yöntemini kullanmışlardır. Bu yöntemde osteokalsin promotörü ile HSV-tk geni içeren rekombinant adenovirüsü kullanılmıştır. Stromal osteoblastlar, kemikte kanser hücre büyümesini desteklemektedir. Osteokalsin mRNA'sının yüksek düzeyde ekspresyonunu sağlayarak öncü ilaç acyclovirinin toksik ajana dönüşmesi sağlanmaktadır. Sonuç olarak metastaz gelişimi engellenmektedir. Tedavinin murin ve insan osteosarkoma hücre hatlarının gelişimini in vitro ve murin osteosarkoma hücrelerinin gelişimlerini in vivo olarak da durdurduğu bildirilmiştir (Ko ve ark., 1996).

E. coli'den izole edilen, sitozini urasile dönüştüren CD geni memelilerde bulunmaz. Bu enzim, 5-FC'yi, RNA ve DNA sentezini inhibe eden 5-florourasile dönüştürür. CD/5-FC gen tedavisinin, tümör hücrelerini öldürmede HSV-tk/GCV sisteminden daha başarılı olduğu birkaç prelinik çalışmada gösterilmiştir. Bunun

nedeninin 5-FC ve metabolitlerinin hücre zarından daha iyi difüzyona uğraması olabileceği düşünülmektedir (Singhal ve Kaiser, 1998).

Sadece HSV-tk geni eksprese eden tümör hücreleri, GCV'yi fosforile forma dönüştürebilir. GCV'in fosforile formu, hücre zarından geçemeyen toksik bir ajandır, hücre içinde birikir ve hücre bölünmesi sırasında yeni sentezlenen DNA'nın yapısına girer (Thompson, 1999).

Genetik mühendisleri PSA üreten hücrelerde çoğalabilen adenovirüsler üretmişlerdir. Bu virüsler, nu/nu mouse (bağışıklık sistemi tamamen çökmüş olan fare) xenograft modellerinde tek intratümoral enjeksiyon ile büyük prostat kanseri tümörlerini küçültmekte ve PSA üretimini durdurmaktadır (Latham ve ark., 2000).

2. 21. Tek Nokta Polimorfizmleri

Tek nokta polimorfizmleri (single nucleotide polymorphism; SNP), genomdaki tek nukleotidin (adenin, timin, sitozin veya guanin) değişmesi ile oluşan DNA dizileridir. Örneğin, bir SNP DNA dizisinin AAGGCTAA'dan ATGGCTAA olarak değişmesiyle oluşabilir. SNP'lerin 2/3'ü sitozinin timine değişmesiyle oluşmaktadır. SNP'ler, insan genomundaki 3×10^9 baz boyunca insan genomundaki her 100-300 bazda bir oluşur (<http://www.ornl.gov/hgmis/faq/snps.html#snps>). İnsan genomunda 1.6-3.2 milyon SNP bulunduğu düşünülmektedir (Stoneking, 2001). Tek nokta polimorfizmleri, genomun hem kodlayan hem de kodlamayan (non-coding) bölgelerinde oluşur. SNP'lerin büyük bir kısmı hücre fonksiyonu üzerinde etkisizdir, fakat bilim adamları bir kısmının hastalık predispozisyonuna yol açabileceklerini veya ilaca verilen yanıtı etkileyebileceklerini belirtmektedir (<http://www.ornl.gov/hgmis/faq/snps.html#snps>).

İnsan popülasyonlarında, DNA dizisinin % 99.9'unun aynı olmasına rağmen, geriye kalan binde birlik fark insanların hastalıklara, bakteri, virüs, toksin ve kimyasallar gibi çevresel faktörlere, ilaç ve diğer tedavilere verdiği yanıtta önemli etkiye sahiptir. SNP'lerin bu özellikleri gelişen farmasötik ürünlerde, medikal tanı ve biomedikal araştırmalarda onların önemini artırmıştır. SNP'ler evrime dirençlidir (nesilden nesile değişmemektedir) ve popülasyon çalışmalarında takip edilmeleri kolaydır (<http://www.ornl.gov/hgmis/faq/snps.html#snps>).

Bilim adamları SNP haritalarının, kanser, diyabet, vasküler hastalıklar ve bazı mental hastalıklarla ilişkili çoklu genlerin tanımlanmasına yardımcı olacağını

düşünmektedir. SNP haritalarının oluşturulmasında farklı ırklardan 24 gönüllünün kanları kullanılmaktadır. İnsan genomunun, SNP haritasını oluşturmak üzere İnsan Genom Projesi'ni (Human Genome Project) yürüten gruplar ve SNP Consortium adı verilen geniş farmasötik şirketler grubu çalışmaktadır (<http://www.ornl.gov/hgmis/faq/snps.html#snps>).

Tanımlanan 142 milyon SNP, genom üzerinde ortalama 1.91 kilobaz aralıklarla bulunmaktadır. Kodlanan bölgelerdeki SNP yoğunluğu, kodlamayan bölgelere göre daha da fazladır (Chakravarti, 2001).



III. MATERYAL VE METOD

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Üroloji Servisi'nde tedavi gören ve histopatolojik tanıları konan yaşları 47-85 arasında değişen 65 prostat kanserli hasta, yaşları 47-89 arasında değişen 60 BPH'lı hasta ve hasta grubu ile aynı yaş ve sosyoekonomik konuma sahip PSA değerleri 4.0 ng/ml'nin altında 52 erkek ve 30 kadın kontrol kişiden kan alınarak DNA'lar saflaştırıldı ve PCR yapıldı. Tüm hasta ve kontrollerin AR CAG ve GGC tekrar bölgeleri ile PSA geni ARE bölgesi polimorfizmleri değerlendirildi. Çalışmamızda Etik Kurul onayı alınarak olgulara bilgilendirilmiş onay formu imzalatıldı.

3.1. DNA İzolasyonu

Her olgudan EDTA içeren vakumlu tüplere 5 ml tam kan alındı. Kandan DNA izolasyonu 'Salting out' yöntemi kullanılarak yapıldı (Miller ve ark., 1988).

3.1.1. SOLÜSYONLAR

Lizis Tamponu: 320 mM Sucrose (Merck)

10 mM Tris (Merck) pH 7.5

4 mM MgCl₂ (Merck)

% 1 Triton X 100 (Sigma)

Distile suyla 1000 ml'ye tamamlanır. Solüsyon hazırlandıktan sonra otoklavlanır.

Ten Tamponu: 10 mM Tris (Merck) pH:8

2 mM EDTA (Merck)

400 mM NaCl (Merck)

Distile suyla 50 ml'ye tamamlanır. Solüsyon hazırlandıktan sonra otoklavlanır.

Proteinaz K (Sigma) Solüsyonu:

10 ml 500 mM'lık Tris (pH 8) solüsyonu içine 100 mM'lık CaCl₂'den 0.1 ml katılır ve 100 mg proteinaz K solüsyona eklenir. Bu şekilde 10 mg/ml proteinaz K solüsyonu hazırlanmış olur.

%10 SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) (Merck)

10 gr SDS alınır ve 100 ml distile su içinde çözülür.

Doymuş NaCl Solüsyonu (6M): (Doymuş tuz çözeltisi) 7 g tartılıp, distile su ile 20 ml'ye tamamlandıktan sonra otoklavlanır.

TE Solüsyonu: 10 mM Tris pH 7.5

1 mM EDTA

Bunu hazırlamak için 500 mM Tris pH 7.5 stok solüsyonundan 1 ml, 100 mM EDTA stok solüsyonundan 0.5 ml alınır ve distile su ile 50 ml'ye tamamlanır.

3.1.2. DNA İzolasyon Yöntemi

I. Gün:

1. 5 ml EDTA'lı tüm kan 50 ml'lik polipropilen tüpe alındı.
2. Kan örneğinin üç katı hacimde (15 ml) lizis tamponu konuldu. Kapağı kapatılıp tüp birkaç kez ters yüz edildi.
3. 2200 rpm'de 4°C'de 15 dakika santrifüj yapıldı. Üstteki süpernatant atıldı.
4. Lizis tamponu ile yıkama işlemi iki kez daha yapıp aynı devirde ve sıcaklıkta santrifüj edildi.
5. Üstteki süpernatant atıldı. Dipte kalan temiz çökelti üzerine 3 ml TEN tamponu konuldu ve kısa süre vortekslendi. Sonra 200 µl % 10'luk SDS ve 50 µl Proteinaz K ilave edildi ve elle tüpe yumuşak bir şekilde vurularak karıştırıldı.
6. Bir gece 37°C'de inkübatörde hafif çalkalamayla inkübe edildi.

II. Gün:

7. Ertesi gün örneklerin üzerine 1 ml 6 M'lık NaCl solüsyonundan konuldu ve 30 saniye hızlı bir şekilde elle çalkalandı veya kısa bir süre vortekslendi.
8. 2600 rpm'de 15 dakika santrifüj yapıldı.
9. Üstteki süpernatant 15 ml'lik bir tüpe alındı ve tekrar 3300 rpm'de oda ısısında 30 dakika santrifüj edildi.
10. Süpernatant başka bir 15 ml'lik bir tüpe alındı (dipteki çökeltinin süpernatant karışmamasına dikkat edildi). Çökelti atıldı.

11. Süpernatantın iki katı hacimde absolü etil alkol ilave edilerek DNA çöktürüldü.
12. Plastik pastör pipeti ucu ile DNA alındı ve içinde 1 ml % 70'lik etil alkol bulunan Eppendorf tüpüne konuldu.
13. 10 dakika mikrofüjde santrifüj yapıldıktan sonra üstteki alkol ince uçlu pastör pipeti ile çekilerek atıldı. Dipte çöktürülen DNA, tüplerin ağzı açık bırakılarak, 37°C'de etüvde 10 dakika kadar bekletilerek alkol uçuruldu.
14. DNA örneği üzerine 150 µl TE tamponu katıldı ve tüplerin ağzı kapatıldıktan sonra 37°C'de etüvde çözünmesi için birkaç saat bırakıldı.
15. DNA örnekleri çözündükten sonra 10 µl stok DNA örneği, içinde 1 ml distile su bulunan Eppendorf tüpüne alındı. Vortekslendikten sonra spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm'de optik dansite ölçülerek DNA'nın miktarı ve saflığı tayin edildi.
16. Stok DNA örnekleri -20°C'de saklandı.

3.1.3. DNA Miktarının Tayini

Elde edilen DNA'lardan 10'ar µl örnek alındı ve 1 ml distile su eklenerek karıştırıldı. UV spektrofotometrede (Vilber Lourmat), 260 ve 280 nm dalga boylarında okundu. 260 nm dalga boyunda okunan değer DNA solüsyonu içindeki DNA miktarını, 280 nm'de okunan değer ise solüsyondaki protein miktarını göstermektedir. 260 ve 280 nm dalga boyunda okunan değerlerin birbirlerine oranının (OD_{260}/OD_{280}) 1.5'in altında olmaması gerekir. Eğer bu değer 1.5'in altında ise DNA ekstraksiyonun tekrarlanması gerekir. Çünkü PCR reaksiyonunda kullanılan DNA yeteri kadar temiz değilse, bu kirlilik reaksiyonu inhibe edebilir. 260 nm dalga boyunda bulunan değer 1.5 ve üzerinde ise elde edilen DNA'nın konsantrasyonu:

$OD_{260} \times \text{Sulandırma Katsayısı} (100) \times 50 \mu\text{g/ml}$ (çift zincirli, ds DNA'lar için standart değer)

çarpılarak bulunur (Sambrook ve ark., 1989).

3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu 65 prostat kanserli, 60 BPH'li hasta ve 82 kontrol olmak üzere toplam 207 kişiye uygulandı. İki AR geninde (CAG ve GGC) biri PSA geninde olmak üzere üç polimorfik bölge değerlendirildi.

3.2.1. AR Geni CAG Tekrar Bölgesi PCR Koşulları

```

961  tgggtgctcc  cgcaagtttc  cttctctgga  gcttcccgcga  ggtgggcagc  tagetgcagc
1021 gactaccgca  tcatcacagc  ctggtgaact  cttctgagca  agagaagggg  aggcggggta
      ARG F→
1081  agggaagtag  gtggaagatt  cagccaagct  caaggatgga  agtgcagtta  gggctgggaa
1141  ggggtctacc  tcggccgcgc  tcgaagacct  accgaggagc  ttccagaat  ctgttccaga
1201  gcgtgcgcga  agtgatccag  aaccggggcc  ccaggcacc  agaggccgcg  agcgcagcac
1261  ctcccgccgc  cagtttgctg  ctgctgcagc  agcagcagca  gcagcagcag  cagcagcagc
1321  agcagcagca  gcagcagcag  cagcagcagc  agcaagagac  tagccccagg  cagcagcagc
1381  agcagcaggg  tgaggatggt  tctccccaag  cccatcgtag  agggcccaca  ggctacctgg
1441  tcctggatga  ggaacagcaa  ccttcacagc  cgcagtcggc  cctggagtgc  caccgcagca
      ←ARG R
1501  gaggttgctg  cccagagcct  ggagccgcgc  tggccgccag  caaggggctg  ccgcagcagc

```

Şekil 9: AR geni CAG tekrar bölgesinin nükleotid dizisi

AR geni CAG polimorfizmi Young yöntemi modifiye edilerek çalışıldı. PCR ile çoğaltılan bölgenin nükleotid dizisi ve primerlerin hibridizasyon bölgeleri Şekil 9'da görülmektedir. Bu bölge ARG-F 5'-TGC GCG AAG TGA TCC AGA ACC-3' (Forward) ve ARG-R 5'-CTC ATC CAG GAC CAG GTA GCC-3' (Reverse) primerleri kullanılarak çoğaltıldı. PCR, 25 µl'lik reaksiyon hacminde, 1xPCR reaksiyon tamponu, 2 mM MgCl₂, 200 µM deoksiribonükleosid trifosfatlar, her primerden 20 pmol, 5µl DMSO, 100 ng genomik DNA ve 1 U Taq DNA (Promega, MBI Fermentas, MBI Pfu Taq polimeraz) polimeraz kullanılarak Techne termosaykilda yapıldı. Taq DNA polimeraz 'Hot Start' olarak ilave edildi (enzim başlangıç denatürasyonundan sonra ilave edildi).

Reaksiyon şartları:

- 94°C'de 3 dakika başlangıç denatürasyonu;
- 94°C'de 45 saniye denatürasyon
- 56°C'de 45 saniye hibridizasyon 35 döngü
- 72°C'de 45 saniye sentez
- 72°C'de 10 dakika son ekstensiyon şeklinde idi.

PCR ürünleri %2'lik Prona Nu Micropor agarozda ayrıştırılıp görüntülendi (Young ve ark., 2000). Bu primerler 224 bp'lik bir ürün oluşturur. Bu ürün 14 CAG tekrarına karşılık gelmektedir.

3.2.2. AR Geni GGC Tekrar Bölgesi PCR Koşulları

```

2221  ttgctctggc  cggaccgcgc  cccctccgc  cgcctcccca  tccccacgct  cgcacaaagc
2281  tggagaaccc  gctggactac  ggcagcgctt  gggcggtgct  ggcggcgagc  tgccgctatg
2341  gggacctggc  gagcctgcat  ggcgcgggtg  cagcgggacc  cggttctggg  tcaccctcag

      GGC F→

2401  ccgccgtctc  ctcactcttg  cacactctct  tcacagccga  agaaggccag  ttgtatggac
2461  cgtgtggttg  tgggtggggt  ggtggcgggc  gcggcgggcg  cggcgggcgc  ggcggcgggc
2521  gcggcgggcg  cggcgaggcg  ggagctgtag  cccctacagg  ctacactcgg  cccctcagg
2581  ggctggcggg  ccaggaagc  gacttcaccg  cacctgatgt  gtggtaccct  ggcggcatgg
2641  tgagcagagt  gccctatccc  agtcccactt  gtgtcaaaag  cgaatgggc  ccctggatgg

      ←GGC R

2701  atagctactc  cggaccttac  ggggacatgc  gtttgagagc  tgccagggac  catgttttgc
2761  ccattgacta  ttactttcca  cccagaaga  cctgcctgat  ctgtggagat  gaagctcttg
  
```

Şekil 10: AR geni GGC tekrar bölgesinin nükleotid dizisi

AR geni GGC polimorfizmi Tanaka'nın yöntemi doğrultusunda çalışıldı (Tanaka ve ark., 1995). PCR ile çoğaltılan bölgenin nükleotid dizisi ve primerlerin hibridizasyon bölgeleri Şekil 10'da görülmektedir. Bu bölge 5'-ACA CTC TCT TCA CAG CCGA-3' (Forward) ve 5'-ACT G GG ATA GGG CAC TCT GCT-3' (Reverse) primerleri kullanılarak çoğaltıldı.

PCR, 25 µl'lik reaksiyon hacminde, 1xPCR reaksiyon tamponu, 1.5 mM MgCl₂, 200 µM dATP, dCTP, dTTP, 50 µM dGTP, 150 µM 7-deaza GTP, her primerden 0.4 µM, 5µl DMSO, 150 ng genomik DNA ve 0.1 U Taq DNA polimeraz (Promega, MBI Fermentas, MBI Pfu Taq polimeraz) polimeraz kullanılarak Techne termosaykılada yapıldı. Taq DNA polimeraz Hot Start olarak ilave edildi.

Reaksiyon şartları,

95°C'de 5 dakika başlangıç denatürasyonu

95°C'de 1 dakika denatürasyon

60°C'de 1 dakika hibridizasyon

35 döngü:

72°C'de 1 dakika sentez

72°C'de 7 dakika son ekstensiyon şeklinde idi.

PCR ürünleri %2'lik Prona micropore agaroz jelde ayrıştırılıp görüntülendi (Tanaka ve ark., 1995). Bu primerler, 18 GGC tekrarına karşılık gelen 245 bp'lik bir ürün oluşturur.

3.2.3. PSA Geni ARE Bölgesi PCR Koşulları

```

1 gaattccaca ttgtttgctg cacgttggat ttgaaatgc tagggaactt tgggagactc
61 atatttcttg gctagaggat ctgtggacca caagatcttt ttatgatgac agtagcaatg
121 tatctgtgga gctggattct gggttgggag tgcaaggaaa agaattgtact aaatgccaag
181 acatctatct caggagcatg aggaataaaa gttctagttt ctggtctcag agtgggtcag
241 ggatcaggga gtctcacaat ctctgagtg ctggtgtctt agggcacact tggctttgga
301 gtgcaaagga tctaggcacg tgaggctttg tatgaagaat cggggatcgt acccaccccc

```

PSA F→

```

361 tgtttctgtt tcactcctgg cgtgtctcct ctgctttgt cccctagatg aagtctccat
421 gagctacagg gcctgggtga tccagggtga tctagtaatt gcagaacagc aagtgcctagc
481 tctccctccc ctccacagc tctgggtgtg ggagggggtt gtccagcctc cagcagcatg
541 gggagggcct tggtcagcct ctgggtgcca gcagggcagg gccggagtcc tggggaatga
601 agg ttttata gggctccttg gggaggctcc ccagcccc

```

←PSA R

Şekil 11: PSA geni ARE nükleotid dizisi

PSA geninin, promotor bölgesinin -158 pozisyonunda G/A polimorfizmi bulunmaktadır. PCR ile çoğaltılan bölgenin nükleotid dizisi ve primerlerin hibridizasyon bölgeleri Şekil 11'de görülmektedir.

Xue ve arkadaşlarının yöntemi doğrultusunda, bu bölge 5'-TTG TAT GAA GAA TCG GGG ATC GT-3' (Forward) ve 5'-TTC CCC AGG AGC CCT ATA AAA-3' (Reverse) primerleri kullanılarak çoğaltıldı. PCR, 25 µl'lik reaksiyon hacminde, 2 mM MgCl₂, 200 µM deoksiribonükleosid trifosfatlar, her primerden 20 pmol, 50 ng genomik DNA ve 1 U Taq DNA polimeraz kullanıldı.

Reaksiyon şartları

94°C'de 10 dakika başlangıç denatürasyonu

94°C'de 1 dakika denatürasyon

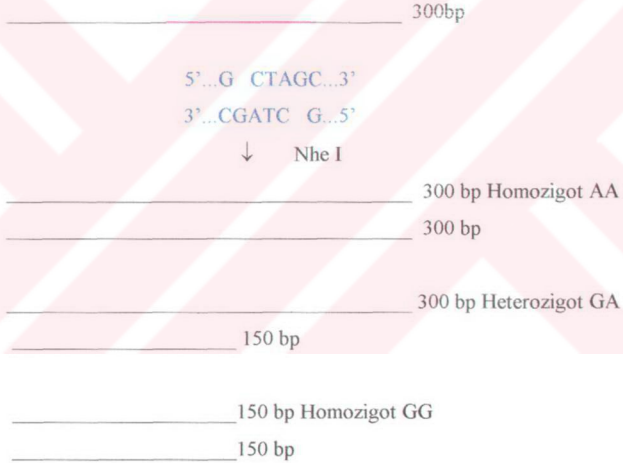
59°C'de 1 dakika hibridizasyon 35 döngü

72°C'de 40 saniye sentez

72°C'de 5 dakika son ekstensiyon şeklinde idi. Bu primerler 300 bp uzunluğunda bir ürün oluşturur (Xue ve ark., 2000).

Nhe I restriksiyon enzimi kesimi PCR ürünleri tanıma bölgesi

5'...G CTAGC...3' ve 3'...CGATC G...5' olan *NheI* restriksiyon enzimi ile kesildi. 7- μ l PCR ürünü, 1.5 ünite *NheI* restriksiyon enzimi ile 1.5 μ l 10xNEB2 tamponu, 0.15 μ l 100xBSA ve 6 μ l su içerisinde 37°C'de 4 saat kesildi ve % 2'lik agaroz jelde ile incelendi (Xue ve ark., 2000).



3.3. Agaroz Jel Elektroforezi

3.3.1. Solüsyonlar:

1. 5x TBE tamponu: 54 gr Tris bazı (Merck)

27.5 gr Borik asit (Merck)

20 ml 0.5 M Edta (pH 8.0) (Merck)

Distile su ile 1 litreye tamamlanır.

2. **Etidium Bromid (EtBr)** (Sigma): Stok solüsyondan 10mg/ml, çalışma solüsyonu ise 0.5 µg/µl olarak hazırlandı.

3. **Jel yükleme tamponu** (Sigma): 6X konsantrasyon [% 0.25 w/v Bromfenol blue, % 0.25 w/v Xylene cyanol FF, % 40 sükröz,]. Hazır olarak satın alındı.

4. 'Size Markers' (Moleküler Standartlar):

a. **100 bp DNA Ladder** (Fermentas): 80, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 ve 1000 bp olmak üzere 11 farklı fragman içermektedir.

b. **pBR322 DNA/AluI Marker** (Fermentas): 90,100, 226, 257, 281, 403, 521, 656, 659 ve 908 bp olmak üzere toplam 10 fragman içermektedir.

c. **pBR322 DNA/BsuI (HaeI) Marker** (Fermentas): 80, 89, 104, 123, 124, 184, 192, 231, 234, 267, 434, 458, 502, 540 ve 587 bp olmak üzere 15 fragman içermektedir.

3.3.2. Jelin Hazırlanışı

% 2 agaroz jeller hazırlandı (Prona ve Promega). Prona Nu Micropre tri ve tetra nükleotid ayrıştırma işlemleri için uygundur. Tampon solüsyon olarak 1x TBE kullanıldı. % 2'lik jel için 2.4 gr agaroz tartıldı ve 120 ml 1 X TBE içinde kaynatıldı. 80 °C'ye kadar soğutulup tarağı yerleştirilen jel kabına döküldü. En az 1 saat bekledikten sonra PCR ürünleri jele yüklendi. Elektforez yürütüldükten sonra jel mililitresinde 0.5 µg EtBr olan suda çalkalanarak 30 dakika boyandı.

3.2.3. Agaroz Jel Elektforezi Sonuçlarının Değerlendirilmesi:

AR CAG ve GGC tekrarlarında 25 µl'lik PCR ürünü ve 6X jel yükleme tamponundan 4 µl karıştırılarak jele yüklendi. Elektforez (Consort) 125 volt'da 2.5-3 saat süreyle yapıldı. Elektforez sonunda, jel >320 nm boyunda transillüminatörde (Vilbert Lourmart) incelenerek markır ve DNA'ların gittikleri mesafelerden yararlanarak, DNA fragmanlarının uzunluğu hesaplandı. Jel fotoğrafları, UVI görüntü analiz sisteminde çekildi.

IV. BULGULAR

Bu çalışmaya, 2000-2002 yılları arasında OMÜ Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'nda prostat kanseri ve BPH ön tanısı ile serum PSA ölçümü istenen hastalar dahil edildi. Yaşları 47-85 arasında değişen 65 prostat kanserli ve yaşları 47-89 arasında değişen 60 BPH'lı hasta değerlendirilmeye alındı. Kontrol grubunu, hasta grubu ile aynı yaş ve sosyoekonomik konuma sahip PSA değerleri 4.0 ng/ml'nin altında 52 erkek ve 30 kadın oluşturdu. İki AR geninde (CAG ve GGC) biri PSA geninde olmak üzere üç polimorfik bölge değerlendirildi.

4.1. AR CAG Tekrar Bölgesi Bulguları

CAG tekrar ortalaması prostat kanserli hastalarda 19.5, BPH'li hastalarda 16.5, erkek kontrollerde 19.75 ve kadın kontrollerde de 19.62 olarak hesaplandı (Tablo 3, Grafik 1). Medyan prostat kanserli ve BPH'li hastalarda 23, erkek kontrollerde 21 ve kadın kontrollerde de 15 ve 20 olarak bulundu. CAG tekrar sayısı prostat kanserli hastalarda 6-31, BPH'li hastalarda 6-27, erkek kontrollerde 7-32 ve kadın kontrollerde de 9-32 arasında değişmektedir.

Şekil 12'de prostat kanserli ve BPH'li hastaların ve kontrollerin agaroz jel sonuçları görülmektedir.

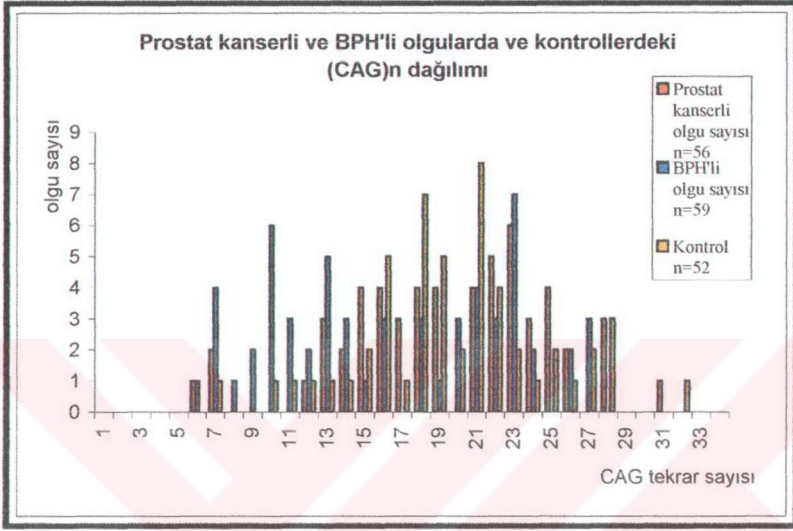


Şekil 12. Prostat kanserli hastalarda AR CAG tekrar bölgesi amplifikasyon sonuçları

Tablo 3: Prostat kanserli, BPH'li hastalarda ve kontrollerdeki AR (CAG)n dağılımı

CAG Tekrar Sayısı	Prostat Kanserli Hastalar (n=56)	BPH'li Hastalar (n=59)	Total Kontroller (n=108)	Erkek Kontroller (n=52)	Kadın Kontroller* (n=56)
6	1	1			
7	2	4	1	1	
8		1			
9		2	1		1
10		6	1	1	
11		3	2	1	1
12	1	2	1	1	
13	3	5	2	1	1
14	2	3	2	1	1
15	4	1	9	2	7
16	4	3	7	5	3
17	3		12	1	5
18	4	3	8	7	5
19	4	1	8	5	4
20		3	14	2	7
21	4	4	8	8	4
22	5	3	10	4	5
23	6	7		2	
24	3	2	8	1	4
25	4		4	2	2
26	2	2	6	1	2
27		3		2	
28	3		6	3	3
29					
30					
31	1		1		
32				1	1
Ortalama	19,5	16,5	19,7	19,75	19,62

*Kadınlardaki iki allel değerlendirilmiştir



Grafik 1: Prostat kanserli ve BPH'li hastalarda ve kontrollerdeki (CAG)n dağılımı

Kısa ve uzun CAG tekrarlarının (<21 ve ≥ 21) prostat kanserli ve BPH'li hastalarda ve kontrollerde dağılımları Tablo 4, Tablo 5 ve Grafik 2'de görülmektedir. Prostat kanseri, BPH, erkek kontrol ve kadın kontrol gruplarındaki kısa CAG alellerinin dağılımı sırasıyla % 50, % 64, % 54 ve % 52.5'dir.

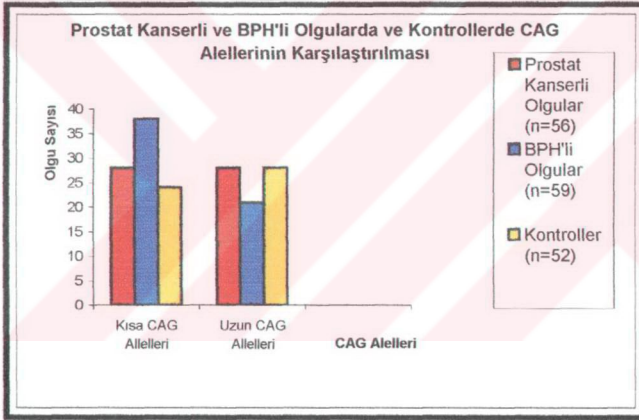
Tablo 4: Prostat kanserli hastalarda kısa AR CAG alellerinin karşılaştırılması

CAG Tekrar Sayısı	Prostat Kanserli Hastalar	Toplam Kontroller (%)	Erkek Kontroller (%)	Kadın Kontroller (%)	OR (% 95 CI)
≥ 21	28 (50)	45 (42)	24 (46)	21 (50)	1.00
< 21	28 (50)	63 (58)	28 (54)	35 (50)	0.9 (0.402-1.826)
Toplam	56 (100)	108 (100)	52 (100)	56 (100)	

Tablo 5: BPH'li hastalarda kısa CAG alellerinin karşılaştırılması

CAG Tekrar Sayısı	BPH'li Hastalar (%)	Total Kontroller (%)	Erkek Kontroller (%)	Kadın Kontroller (%)	OR (% 95 CI)
≥21	21 (36)	45 (42)	24 (46)	21 (37.5)	1.00
<21	38 (64)	63 (58)	28 (54)	35 (62.5)	1.6 (0.724-3.325)
Toplam	59 (100)	108 (100)	52 (100)	56 (100)	

Tablo 6'da serum PSA ölçüm düzeyleri ve CAG alellerinin karşılaştırılması görülmektedir.

**Grafik 2:** Prostat kanserli ve BPH'li olgularda ve kontrollerde CAG alellerinin karşılaştırılması

Tablo 6: Serum PSA düzeyleri ve CAG alellerinin karşılaştırılması

PSA Düzeyi (ng/ml)	Prostat Kanserli Hastalarda Ortalama CAG Tekrar Sayısı	BPH'li Hastalarda Ortalama CAG Tekrar Sayısı
0-4.0	17.5 (n=4)	17.3 (n=26)
4.1-10	15.3 (n=4)	12 (n=10)
10.1-20	18.1 (n=9)	16.3 (n=7)
>20.0	20.3 (n=34)	19 (n=9)

4.2. AR GGC Tekrar Bölgesi Bulguları

GGC tekrar ortalaması prostat kanserli hastalarda 15.5, BPH'li hastalarda 15.2, erkek kontrollerde 14.1 ve kadın kontrollerde de 17.6 olarak hesaplandı (Tablo 7, Grafik 3). Medyan prostat kanserli hastalarda 16, BPH'li hastalarda 16 ve 17, erkek kontrollerde 13 ve kadın kontrollerde de 15 ve 20 olarak bulundu. GGC tekrar sayısı prostat kanserli hastalarda 9-22, BPH'li hastalarda 8-20, erkek kontrollerde 4-25 ve kadın kontrollerde de 8-26 arasında değişmektedir.

Şekil 13'de prostat kanserli ve BPH'li hastaların ve kontrollerin agaroz jel sonuçları görülmektedir.

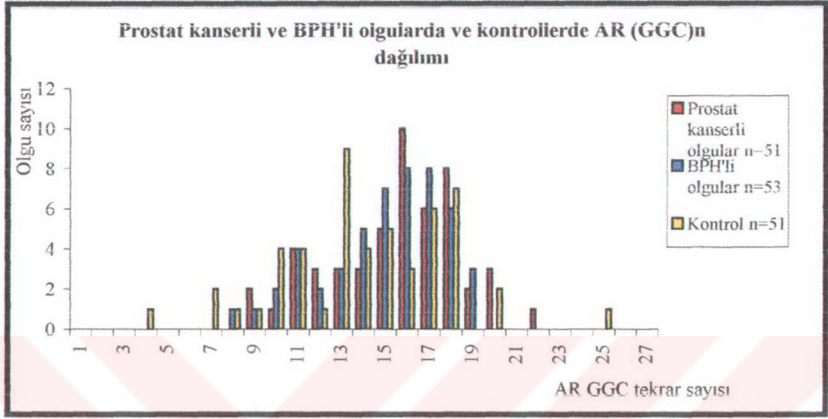


Şekil 13: Prostat kanserli hastaların AR GGC tekrar bölgesi amplifikasyon sonuçları

Tablo 7: Prostat kanserli, BPH'li hastalarda ve kontrollerdeki AR (GGC)n dağılımı

GGC Tekrar Sayısı	Prostat Kanserli Hastalar (n=51)	BPH'li Hastalar (n=53)	Total Kontroller (n=111)	Kadın Kontroller ^a (n=60)	Erkek Kontroller (n=51)
7			2		2
8		1	2	1	1
9	2	1	1		1
10	1	2	4		4
11	4	4	4		4
12	3	2	3	2	1
13	3	3	6	5	10
14	2	4	7	4	3
15	5	7	15	10	5
16	1	7	7	4	3
17	6	10	8	2	6
18	8	3	13	6	7
19	2	1	4	4	
20	3		12	10	2
21			1	1	
22	1		10	10	
23					
24					
25			1		1
26			1	1	
Ortalama	15,5	15,2	16,8	18,8	14,3

^aKadın kontrollerde 2 allel bulunduğu düşünülerek değerlendirilmiştir.



Grafik 3: Prostat kanserli ve BPH'li hastalarda ve kontrollerdeki (GGC)n dağılımı

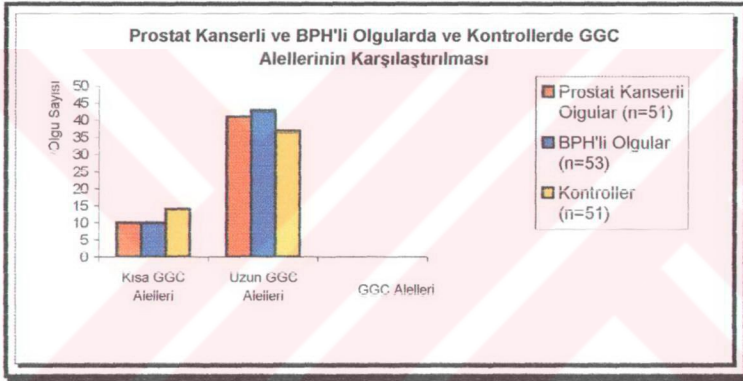
Kısa ve uzun GGC tekrarlarının (<13 ve ≥ 13) prostat kanserli ve BPH'li hastalarda ve kontrollerde dağılımları Tablo 8, Tablo 9 ve Grafik 4'de görülmektedir. Prostat kanseri, BPH, erkek kontrol ve kadın kontrol gruplarındaki uzun GGC alellerinin yüzdesi sırasıyla 80, 84, 72.5 ve 95'tir.

Tablo 8: Prostat kanserli hastalarda kısa AR GGC alellerinin karşılaştırılması

GGC Tekrarı Sayısı	Prostat Kanserli Hastalar (%)	Total Kontrol (%)	Erkek Kontrol (%)	Kadın Kontrol (%)	OR (% 95 CI)
≥ 13	41 (80)	94 (87)	37 (72.5)	57 (78)	1.00
<13	10 (20)	17 (23)	14 (27.5)	3 (22)	1.551 (0.615-3.913)
Toplam	51 (100)	108 (100)	51 (100)	60 (100)	

Tablo 9: BPH'li hastalarda kısa AR GGC alellerinin karşılaştırılması

GGC Tekrar Sayısı	BPH'li Hastalar (%)	Total Kontrol (%)	Erkek Kontrol (%)	Kadın Kontrol (%)	OR (% 95 CI)
≥13	43 (84)	94 (87)	37 (72.5)	57 (95)	1.00
<13	10 (16)	17 (13)	14 (27.5)	3 (5)	1.627 (0.647-4.095)
Toplam	53 (100)	108 (100)	51 (100)	60 (100)	

**Grafik4:** Prostat kanserli ve BPH'li oğularda ve kontrollerde GGC alellerinin karşılaştırılması

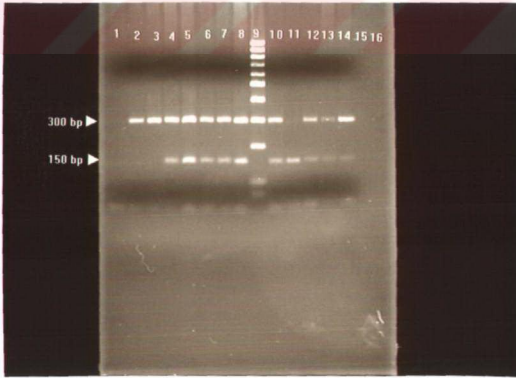
Tablo 10'da serum PSA ölçüm düzeyleri ve GGC alellerinin karşılaştırılması görülmektedir.

Tablo 10: Serum PSA düzeyleri ve GGC alellerinin karşılaştırılması

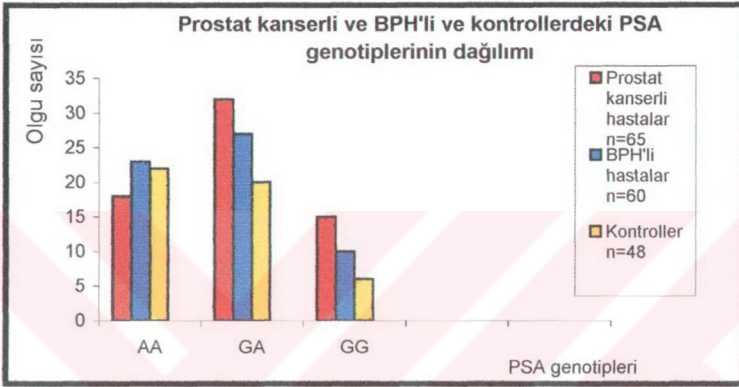
PSA düzeyi (ng/ml)	Prostat Kanserli Hastalarda Ortalama GGC Tekrar Sayısı	BPH'li Hastalarda Ortalama GGC Tekrar Sayısı
0-4.0	14.8 (n=3)	14.6 (n=26)
4.1-10	14.4 (n=5)	14.4 (n=10)
10.1-20	15 (n=8)	14.25 (n=4)
>20.0	15.8 (n=28)	14.8 (n=8)

4.3. PSA ARE Bölgesi Bulguları

PSA genotiplerinin, prostat kanserli ve BPH'li hastalarda ve kontrollerde dağılımları Tablo 11 ve Tablo 12'de görülmektedir. Prostat kanseri, BPH, erkek kontrol ve kadın kontrol gruplarındaki risk oluşturan GG genotipi yüzdesi sırasıyla 23, 17, 12 ve 24'tür (Tablo 13 ve 14). PSA geni, RFLP sonuçları Şekil 13'de görülmektedir.

**Şekil 14:** PSA geni, RFLP sonuçları

Prostat kanserli ve BPH'li hastalar ve kontrollerdeki PSA genotiplerinin dağılımı Grafik 5'te görülmektedir. Tablo 15'te serum PSA ölçüm düzeyleri ve GGC alellerinin karşılaştırılması görülmektedir.



Grafik 5: Prostat kanserli ve BPH'li hastalarda ve kontrollerde PSA genotiplerinin dağılımı

Tablo 11: Prostat kanserli hastalarda ve kontrollerdeki PSA geni polimorfizmi

PSA Genotipi	Prostat kanserli Hastalar (%)	Total Kontrol (%)	Erkek Kontrol (%)	Kadın Kontrol (%)
A/A	18 (28)	31 (40)	22 (46)	9 (31)
GA	32 (49)	33 (43)	20 (48)	13 (45)
G/G	15 (23)	13 (17)	6 (12)	7 (24)
Toplam	65 (100)	77 (100)	48 (100)	29 (100)

Tablo 12. BPH'li hastalarda ve kontrollerdeki PSA geni polimorfizmi

PSA Genotipi	BPH'li Hastalar (%)	Total Kontrol (%)	Erkek Kontrol (%)	Kadın Kontrol (%)
A/A	23 (38)	31 (42)	22 (46)	9 (31)
G/A	27 (45)	33 (45)	20 (48)	13 (45)
G/G	10 (17)	13 (17)	6 (12)	7 (24)
Toplam	60 (100)	74 (100)	48 (100)	29 (100)

Tablo 13: Prostat kanserli hastalarda GG genotipi dağılımı

PSA Genotipi	Prostat kanserli Hastalar (%)	Total Kontrol (%)	Erkek Kontrol (%)	Kadın Kontrol (%)	OR (% 95 CI)
GG olmayan	50 (77)	64 (40)	42 (88)	22 (76)	1.00
GG	15 (23)	13 (17)	6 (12)	7 (24)	2.1 (0.748-8.9)
Toplam	65 (100)	77 (100)	48 (100)	29 (100)	

Tablo 14: BPH'li hastalarda GG genotipi dağılımı

PSA Genotipi	BPH'li Hastalar (%)	Total Kontrol (%)	Erkek Kontrol (%)	Kadın Kontrol (%)	OR (% 95 CI)
GG olmayan	50 (83)	64 (40)	42 (88)	22 (76)	1.00
GG	10 (17)	13 (17)	6 (12)	7 (24)	1.4 (0.470-4.173)
Toplam	6 (100)	77 (100)	48 (100)	29 (100)	

Tablo 15: Serum PSA düzeyleri ve GG alellerinin karşılaştırılması

PSA düzeyi (ng/ml)	Prostat Kanserli Hastalarda (n=58) PSA Genotipleri		BPH'li Hastalarda (n=57) PSA Genotipleri	
	GG	GG olmayanlar	GG	GG olmayanlar
0-4.0	2	2	4	24
4.1-10	0	6	4	8
10.1-20	3	8	2	6
>20.0	8	29	0	9

Erken yaş prostat kanserleri ve BPH, CAG tekrar sayısı ile ilişkilendirildi [OR: 1.88; % 95 CI: (0.25-15.77) ve OR: 5.06; % 95 CI (0.68-58.51)] , GGC tekrar sayıları ve PSA GG genotipi ile ilişkilendirilemedi (Tablo 16 ve Tablo 17).

Tablo 16: Prostat kanserli olgularda ve kontrollerde yaş ve CAG tekrar sayıları, GGC tekrar sayıları ve PSA genotiplerinin karşılaştırılması

Yaş	CAG tekrar Sayısı	Prostat Kanserli Olgu Sayısı	Kontrol Sayısı	OR (% 95 CI)
<60	<21	5	8	1.00
	≥21	3	9	1.88 (0.25-15.77)
≥60	<21	22	20	1.00
	≥21	25	15	0.7 (0.273-1.59)
GGC Tekrar Sayısı				
<60	<13	2	4	1.00
	≥13	8	13	0.81 (0.06-7.39)
≥60	<13	8	10	1.00
	≥13	33	24	2.3 (0.691-7.659)
PSA Genotipi				
<60	A/A veya A/G	6	14	1.00
	G/G	0	3	Değerlendirilemedi
≥60	A/A veya A/G	44	27	1.00
	G/G	15	4	0.43 (0.1-1.57)

Tablo 17: BPH'li olgularda ve kontrollerde yaş ve CAG tekrar sayıları, GGC tekrar sayıları ve PSA genotiplerinin karşılaştırılması

Yaş	CAG tekrar Sayısı	BPH'li olgu Sayısı	Kontrol Sayısı	OR (% 95 CI)
<60	<21	9	8	1.00
	≥21	2	9	5.06 (0.68-58.51)
≥60	<21	29	20	1.00
	≥21	19	15	1.2 (0.473-2.77)
GGC Tekrar Sayısı				
<60	<13	4	4	1.00
	≥13	6	13	2.17 (0.29-58.51)
≥60	<13	6	10	1.00
	≥13	37	24	2.57 (0.826-7.99)
PSA Genotipi				
<60	A/A veya A/G	10	14	1.00
	G/G	2	3	1.07 (0.10-15.04)
≥60	A/A veya A/G	40	27	1.00
	G/G	8	4	1.3 (0.370-4.93)

Yüksek ve düşük Gleason skorlu prostat kanserli olgular ile PSA GG genotipi ile ilişkilendirildi [OR: 2.7; % 95 CI: (0,87-8,66)] (Tablo 18).

Tablo 18: Yüksek ve düşük Gleason skorlu prostat kanserli olgularda kısa ve uzun CAG alellerinin, kısa ve uzun GGC alellerinin ve PSA genotiplerinin karşılaştırılması

	Kısa CAG Aleleri ^a	Uzun CAG Aleleri ^a	Toplam	OR (% 95 CI)
Kontroller	28	24	52	1.0
Yüksek Skorlu Olgular ^a	16	12	28	1.14 (0,453-2,885)
Düşük Skorlu Olgular ^b	4	4	8	

	Kısa GGC Aleleri ^c	Uzun GGC Aleleri ^c	Toplam	OR (% 95 CI)
Kontroller	14	37	51	1.00
Yüksek Skorlu Olgular ^a	5	16	21	1,21 (0,373-3,93)
Düşük Skorlu Olgular ^b	2	10	12	

	PSA Genotipi		Toplam	OR (% 95 CI)
	A/A veya A/G	GG		
Kontroller	42	6	48	1.00
Yüksek Skorlu Olgular ^a	23	9	32	2.7 (0,87-8,66)
Düşük Skorlu Olgular ^b	10	1	11	

a Yüksek Skorlu ≥ 7 , b Düşük Skorlu < 7

c Kısa < 21 CAG tekrarı, d Uzun ≥ 21 CAG tekrarı

e Kısa < 13 GGC tekrarı, f Uzun ≥ 13 GGC tekrarı

Not: Tüm olguların Gleason skoru sonuçları elde edilemediği için bazı olgulara ait sonuçlar değerlendirmeye alınmadı.

V. TARTIŞMA

Bu çalışma, androjen metabolizmasında görevli iki genin üç polimorfik bölgesinin prostat kanseri ve BPH riskini etkileyip etkilemediğini belirlemek amacıyla yapıldı.

Prostat kanserinde, AR amplifikasyonları, AR geni mutasyonları ve AR geni 1. ekzonda yer alan mikrosatellit değişiklikleri görülür. Epidemiyolojik araştırmalar, CAG tekrar ortalamasının Afrika'dan göç etmiş Amerikalılarda kısa, beyaz ırkta orta uzunlukta ve Asyalılarda uzun olduğunu göstermiştir (Edwards ve ark., 1992). Prostat kanseri insidansı, Afrika'dan göç etmiş Amerikalılarda en yüksek, beyaz ırkta orta ve Asyalılarda en düşüktür. Bu bulgular prostat kanseri riski ile CAG tekrar uzunluğu arasında bir ilişki olabileceğini göstermektedir (Stanford ve ark., 1997).

Araştırmamızda CAG tekrar ortalaması prostat kanserli hastalarda 19.5, BPH'li hastalarda 16.5, erkek kontrollerde 19.75 ve kadın kontrollerde de 19.62 olarak bulundu. Prostat kanserli hastaların ve kontrollerin ortalama AR CAG tekrar sayısı büyük ölçüde benzerlik gösterirken, bu sayının BPH'de daha düşük olduğu görülmektedir. Medyan erkek kontrollerde 21, prostat kanserli ve BPH'li hastalarda 23, kadın kontrollerde 15 ve 20 olarak bulundu. Kontrollerdeki medyan ve ortalama CAG sayısı bu konudaki literatür ile paralellik göstermektedir (Edwards ve ark., 1997; Bratt ve ark., 1999). CAG tekrar uzunluğu frekans dağılımı, prostat kanserli hastalarda ve kontrollerde büyük benzerlik göstermektedir. Bu bulgularımız Bratt ve arkadaşlarının çalışmaları ile benzerlik göstermektedir (Bratt ve ark., 1999). BPH'li hastalar ve kontrollerdeki CAG tekrar uzunluğu frekans dağılımı karşılaştırıldığında, BPH'li hastalarda CAG tekrar sayısının daha düşük olduğu görülmektedir.

Kısa CAG tekrarları, AR'nün yüksek transkripsiyon aktivitesi ile ilişkili olduğu için kısa CAG tekrarı olan erkeklerin prostat kanseri riskinin uzun tekrarı olanlara göre daha yüksek olduğu ileri sürülmüştür (Irvine ve ark., 1995). In vitro, deneylerde de poliglutamin kümelerinin transaktivasyon fonksiyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Chamberlain ve ark., 1994). Araştırmamızda, prostat kanserli olgularla kontroller karşılaştırıldığında kısa ve uzun (CAG)n tekrar farkları istatistiksel olarak anlamsız bulundu [(OR, 0.9; %95 CI,(0.402-1.826)]. Bu bulgu literatürdeki sonuçların bir bölümüyle paralellik gösterirken (Edwards ve ark., 1999; Bratt ve ark., 1999; Lange ve

ark., 2000; Beiling ve ark., 2001; Chang ve ark., 2002) bir bölümüyle de çalışmaktadır (Irvine ve ark., 1999; Stanford ve ark., 1997; Ingles ve ark., 1997; Hakimi ve ark., Giovannucci ve ark., 1997) (Tablo 2).

Araştırmamızda, kısa CAG aleli (≤ 21) olan erkeklerin, BPH riskinin % 60 oranında arttığı bulunmuştur [OR, 1.6; % 95 CI, (0.724-3.325)]. CAG tekrar polimorfizmi, prostat büyümesini etkileyerek prostat kanser riskini ve BPH riskini değiştirebilir. BPH, prostatik büyümenin bir sonucu iken, prostat kanserindeki büyüme malin bir büyümedir ve çevre faktörleri tarafından da etkilenebilir. Bu nedenle BPH'ndeki bağlantının prostat kanserine göre daha yüksek olması beklenmektedir (Bousema ve ark., 2000). Bizim sonuçlarımız da bu hipotez ile paralellik göstermektedir. BPH ve CAG alel bağlantısı ile ilgili çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Bousema ve ark., BPH ve CAG alelleri arasındaki ilişkiyi istatistiksel olarak anlamsız bulurken Shibata ve arkadaşları kısa CAG alellerinin BPH için risk faktörü oluşturduğunu bulmuştur (Bousema ve ark., 2000; Shibata ve ark., 2001).

Yaş, yüksek grade ve stage ile CAG tekrar bağlantısı da kesinlik kazanmamıştır. Giovannucci ve arkadaşları, yüksek grade ve stage prostat kanserleri ve metastaz yapan prostat kanserleri ile CAG tekrar sayısı arasında yüksek ilişki bulmuştur (RR, 2.44; % 95 CI, 1.32-4.55) (Giovannucci ve ark., 1997). Araştırmamızda, düşük (<7) ve yüksek Gleason skorlu (≥ 7) prostat kanserli olgular, kısa ve uzun CAG alellerine göre karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamsız olmakla birlikte kısa CAG alelerine doğru bir eğilim bulundu (OR, 1.14; % 95 CI, 0.457-3.325).

Kısa CAG aleleri, erken yaş prostat kanserleri (<60) için % 88'lik artan bir risk taşımaktadır (OR, 1.88; % 95 CI, 0.25-15.77). Çalışılan 55 prostat kanserli hastadan yalnızca 8'inin 60 yaşından küçük olması nedeniyle % 88'lik artan risk istatistiksel bir anlam taşıyor olabilir. Daha güvenilir bir sonuç elde edebilmek için erken yaş prostat kanserli hasta grubunun genişletilmesi gerekmektedir. Bratt ve arkadaşları, erken yaş prostat kanserlerini kısa CAG tekrarları ile ilişkili bulmuşlardır. Kısa CAG tekrarı olan prostatik adenokarsinom hücrelerinin daha proliferatif olması nedeniyle tümör gelişiminin daha hızlı olduğu tahmin edilmektedir (Bratt ve ark., 1999). Kısa CAG tekrarları, erken yaş BPH için % 500'lük bir risk oluşturmaktadır (OR, 5.06; % 95 CI, 0.68-58.51). Çalışılan 59 BPH'li hastadan sadece 11'inin 60 yaşından küçük olması nedeniyle erken yaş BPH'li hasta grubu da genişletilerek çalışılmalıdır. Bratt ve

arkadaşlarının yorumu BPH için de geçerli olabilir (Bratt ve ark., 1999). Kısa CAG tekrarı olan prostat hücrelerinin büyümesi daha hızlı olabilir.

AR geni CAG tekrar sayısı ve serum PSA değerleri arasında bir bağlantı kurulamadı.

AR geni GGC uzunluk polimorfizmi, AR geni CAG polimorfizmine göre daha az çalışılmıştır. CAG tekrarları ile karşılaştırıldığında, GGC bölgesinin PCR ile çoğaltılması daha zordur, bu bölge daha az polimorfizm göstermektedir ve etnik gruplar arasındaki fark önemli değildir.

Çalışmamızda, GGC tekrar ortalaması prostat kanserli hastalarda 15.5, BPH'li hastalarda 15.2, erkek kontrollerde 14.1 ve kadın kontrollerde de 17.6 olarak bulundu. Medyan prostat kanserli hastalarda 16, BPH'li hastalarda 16 ve 17, erkek kontrollerde 13 ve kadın kontrollerde de 15 ve 20 olarak bulundu. GGC tekrar sayısı prostat kanserli hastalarda 9-22, BPH'li hastalarda 8-20, erkek kontrollerde 4-25 ve kadın kontrollerde de 8-26 arasında değişmektedir. GGC tekrar uzunluğu frekans dağılımı, prostat kanserli ve BPH'li hastalarda ve kontrollerde de benzerlik göstermekle birlikte hasta grubunda bu alellerin daha uzun olduğu görülmektedir. GGC tekrarları, CAG tekrarlarına göre daha az polimorfizm göstermektedir.

Poliglisin kümelerinin, normal prostat hücresindeki etkisi kanıtlanmamış olmakla birlikte prostat tümör gelişiminde düzenleyici rolü olduğu düşünülmektedir (Edwards ve ark., 1999). *In vitro* poliglisin kümelerinin tam delesyonunun, hormonla regule edilen AR'nün aktivitesi üzerinde etkisi olmadığı bildirilmiştir (Jenster ve ark., 1994). Gao ve arkadaşları ise aynı mutasyonun MMTV (mouse mammary tumor virus) lusiferaz geninin aktivitesini bozduğunu bildirmiştir (Gao ve ark., 1996). (GGC)n dizisi, transaktivasyon bölgesinde yer aldığına göre tek aminoasit dizisinin değişmesi bile reseptörün bağlanma afinitesini bozabilir (Edwards ve ark., 1999).

Çalışmamızda, uzun (GGC)n tekrarlarının % 50'lik artan prostat kanseri riski taşıdığı bulundu [OR, 1.551; %95 CI, (0.615-3.913)]. Uzun GGC alellerinin % 60'lık artan BPH riski taşıdığı bulundu [OR, 1.627; %95 CI, (0.647-4.095)]. Bu konudaki bulgular da oldukça çelişkilidir. Irvine ve arkadaşları, uzun GGC alelleri ve prostat kanseri arasında bir ilişki bulurken; Stanford ve arkadaşları ile Hakimi ve arkadaşları bu ilişkiyi kısa GGC alelleri ile prostat kanseri arasında bulmuşlardır.

Düşük (<7) ve yüksek Gleason skorlu (≥ 7) prostat kanserli olgular, kısa ve uzun GGC alellerine göre karşılaştırıldığında, aradaki bağlantının prostat kanseri ve uzun GGC alelleri ile olan bağlantıdan daha zayıf olduğu görüldü (OD, 1.25; % 95 CI, 0.373-3.93). Tüm hastaların patoloji sonuçlarına ulaşamaması veya Gleason skora yapılamaması nedeniyle değerlendirmeye alınan hasta sayısı az olduğu için aradaki ilişki gerçek değerinden uzak olabilir.

Uzun GGC alelleri erken yaş prostat kanseri riskini yaklaşık 2 misli artırırken (OR, 2.17; % 95 CI, 0.29-58.51), ileri yaş prostat kanserleri riskini de yaklaşık 2.5 misli artırmaktadır (OR, 2.57; % 95 CI, 0.826-7.99).

Prostat kanseri ve BPH'leri ile AR CAG ve GGC tekrarları arasındaki bağlantının araştırıldığı çalışmaların sonuçları oldukça çelişkilidir. Bunun nedenleri araştırma planı, çalışma gruplarının seçimi (sporodik veya herediter olgular; kadın veya erkek kontrol grupları vb.), kullanılan istatistiksel yöntemler (Chang ve ark., 2002), çalışılan populasyonun genetik yapısı, çalışma gruplarının kanserojen maddelerle olan etkileşimi ve çevresel faktörlerdeki farklılıklar olabilir (Beilin ve ark., 2001). Ayrıca, erkek kontrol grubunun klinik olarak ürolojik sorunları olmayan kişilerden seçilmesine rağmen bu kişilerde asemptomatik prostat kanseri ve BPH olabilir. Bu sorunu gidermek amacıyla, Edwards ve arkadaşları ile Bratt ve arkadaşlarının çalışmalarında olduğu gibi kadın kontrol grubu da çalışıldı (Edwards ve ark., 1999; Bratt ve ark., 1999). Hasta grubu, kadın kontrollerin alelleri veya total aleller değerlendirildiğinde sonuçlar anlamsız bulundu. Kadınlarda bu genlerin ekspresyonu farklı olabilir.

AR geni GGC tekrar sayısı ve serum PSA değerleri arasında bir bağlantı kurulamadı.

Bu çalışmada, AR CAG ve GGC tekrar bölgeleri PCR ile çoğaltıldıktan sonra fragment analizi için tri ve tetra nükleotid görüntülemesi için uygun olan Nu Micropore agaroz jel kullanıldı. Çoğaltılan bölgenin uzunluğu regresyon analizi kullanılarak hesaplandı. Kontroller ve hasta gruplarının CAG ve GGC tekrar sayıları karşılaştırıldı.

Serum PSA konsantrasyonu, prostat kanseri progresyonunu takip etmek amacıyla kullanılan bir markıdır. PSA, prostat karsinogenezinde rol oynayabileceği gibi normal prostat gelişiminde de etkilidir. PSA geninin, promotör bölgesinin -158 pozisyonunda G/A polimorfizmi bulunmaktadır. Buradaki iki alelik formun AR ile

farklı şekillerde etkileşeceği ve prostat kanser riskini değiştireceği düşünülmektedir (Xue ve ark., 2000).

PSA GG genotipi, prostat kanseri riskini yaklaşık % 210 artırırken (OR, 2.1; % 95 CI, 0.748-8.9), BPH riskini de % 40 (OR, 1.4; % 95 CI, 0.470-4.173) artırmaktadır.

PSA GG genotipi, erken yaş prostat kanserleri ve BPH'leri ile ilişkilendirilemedi [Prostat kanseri: Değerlendirilemedi; BPH: [OR, 1.07 ; %95 CI, (0.1-15.04)].

Yüksek Gleason skorlu (≥ 7) 32 prostat kanserli hastadan, 9 tanesi GG genotipine sahiptir. Yüksek skorlu olgularda, PSA GG genotipi, 2.7 kat risk taşımaktadır [(OR, 2.7; % 95 CI, (0.87-8.66)]. PSA GG genotipinin, yüksek Gleason skorlu (≥ 7) prostat kanserli hastalarla bağlantısını incelemek amacıyla hasta ve kontrol sayısını artırmak gerekmektedir.

CWR22 insan prostat kanseri 'xenograft' sistemi kullanılarak, hormona duyarlı prostat kanserinden hormona refrakter prostat kanserine progresyonun moleküler mekanizması araştırılmıştır. Bu sistemle, hormona duyarlı CWR22 tümörleri ile hormona refrakter CWR22R tümörlerinde 5184 gen karşılaştırılmış 172 tanesinin aktivitesinin azaldığı veya arttığı görülmüştür (Bubendorf ve ark., 1999). Bu bulgular prostat kanserinde çok sayıda genin etkili olduğunu göstermektedir.

Prostat kanseri risk faktörleri sadece genetik faktörlerden oluşmamaktadır. Yüksek yağ ve kalsiyum tüketimi, prostat kanseri risk faktörleri arasında yer almaktadır. Son araştırmalar, yağ ve kalsiyumun daha önce düşünüldüğü gibi prostat kanseri riskini artırmayıp lokalize hastalıktan ileri dönem hastalığa progresyonda önemli olduğunu göstermektedir. 1200 kişiyi kapsayan bu araştırmada, daha çok yağ tüketenlere oranla düşük yağ diyeti (yağ oranı günlük kalori ihtiyacının % 30'unu geçmemektedir) uygulanan lokalize prostat kanserli hastalarda, ileri dönem hastalık geliştirme riskinin % 50 oranında düştüğü bulunmuştur. Prostat kanseri için multigenik bir kalıtım kalıbı olduğu söylenebilir. Hastalık oluşumu için bir gen yeterli değildir. Prostat kanseri ile ilişkilendirilen çok sayıda gen bulunmaktadır. İlişkilendirilen genlerin birbirleriyle ve çevreyle etkileşimleri araştırılmalıdır. Hasta grubunun sınırları iyi belirlenmelidir. Kalıtsal ve sporadik olgularda farklı genler etkili olabilir. Araştırılan genin, prostat kanserinin hangi özellikleri için anlamlı (yaş, skor, grade vb.) olduğu belirlenmelidir.

VI. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmaya, 2000-2002 yılları arasında OMÜ Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'nda prostat kanseri ve BPH ön tanısı ile serum PSA ölçümü istenen hastalar dahil edildi. Yaşları 47-85 arasında değişen 65 prostat kanserli ve yaşları 47-89 arasında değişen 60 BPH'lı hasta değerlendirilmeye alındı. Kontrol grubunu, hasta grubu ile aynı yaş ve sosyoekonomik statüye sahip PSA değerleri 4.0 ng/ml'nin altında 52 erkek ve 30 kadın oluşturdu. İki AR geninde (CAG ve GGC) biri PSA geninde olmak üzere üç polimorfik bölge değerlendirildi.

- AR geni 1. ekzon üzerindeki kısa ve uzun CAG tekrarlarının, prostat kanseri için risk oluşturmadığı bulundu (OR, 0.9; %95 CI, (0.402-1.826). Kısa CAG tekrarları, erken yaş prostat kanseri ve BPH için risk oluşturabilir [Prostat kanseri: (OR, 1.88; %95 CI, (0.25-15.77); BPH: (OR, 0.9; %95 CI, (0.402-1.826))]. Erken yaş prostat kanseri ve BPH hasta sayıları artırılarak (150 hasta ve 150 kontrol) bu bölge çalışmalıdır.
- AR geni GGC tekrar bölgesi, prostat kanserli ve BPH olgular için hastalık riskini belirlemede yarar sağlayabilir [Prostat kanseri: (OR, 1.55; %95 CI, (0.615-3.913); BPH: (OR, 1.6; %95 CI, (0.647-4.095))]. Hasta ve kontrol sayısı artırılarak bu bölge de çalışmalıdır.
- GA veya AA genotiplerine göre PSA GG genotipi, 2.1 kat prostat kanseri riski (OR, 2.1; % 95 CI, 0.748-8.9) ve % 40 BPH riski (OR, 1.4; % 95 CI, 0.470-4.173) taşımaktadır. Yüksek skorlu olgularda, PSA GG genotipi, 2.7 kat risk taşımaktadır [(OR, 2.7; % 95 CI, (0.87-8.66)]. PSA GG genotipinin, yüksek Gleason skorlu (≥ 7) prostat kanserli hastalarla ilişkisini daha güvenli güvenli bir şekilde göstermek amacıyla hasta ve kontrol sayısı artırılarak çalışmaya devam edilmelidir.

VII. KAYNAKLAR

- Aaltotomaa, S., Lipponen, P., Eskelinen, M., Ala-Opas, M., Kosma, V. M. (1999). Prognostic value and expression of p21 (waf1/cip1) protein in prostate cancer. *Prostate*, **39**, 8-15.
- Adler, A. J., Scheller, A., Hoffman, Robins, Y., Robins, D. M. (1991). Multiple components of a complex androgen-dependent enhancer. *Mol. Endocrinol.*, **5**, 1587-1596.
- Anafarta, K., Göğüş, O., Bedük, Y., Arıkan, N. (1998). Temel Üroloji, Editörler, Göğüş, O. Günel Kitabevi, Ankara, 648-750.
- Armstrong, B. E. and Doll, R. (1975). Environmental factors and cancer incidence and mortality in different countries with special reference to dietary practices. *Int. J. Cancer*, **15**, 617-631.
- Babu, V. R., Miles, B. J., Cerny, J. C. Weiss, L., and Van Dyke, D. L., (1990). *Cancer Genet. Cytogenet.*, **66**, 93-99.
- Bauman, C. T., Lim, C. S., Hager, G. L. (1999). Intracellular localization and trafficking of steroid receptors. *Cell Biochem. Biophys*, **31**, 119-127.
- Beilin, J., Harewood, L., Frydenberg, M., Mameghan, H., Martyres, R. F. Farish, J. S., Yue, C., Deam, D. R. Byron, K. A., Zajac J. D. (2001). A case-control study of the androgen receptor gene CAG repeat polymorphism in Australian prostate carcinoma subjects. *Cancer*, **92**, 941-9.
- Bentel, j. M., Tilley, W. D. (1996). Androgen receptors in prostate cancer. *J. Endocrinol.*, **151**, 1-11.
- Berg, P. (1997). Gene Chips. *Willams Inference Center*, **24**, 10-12.
- Berrevoets, C. A., Doesburg, P., Steketee, K., Trapman, J., Brinkmann, A. O. (1998). Functional interactions of the AF-2 activation domain core region of the human androgen receptor with the amino-terminal domain and with the transcriptional coactivator TIF2 (Transcriptional intermediary factor 2). *Mol. Endocrinol.*, **12**, 1172-1183.
- Berry, R. (2000). Evidence for a prostate cancer-susceptibility locus on chromosome 20. *Am. J. Hum. Genet.*, **67**, 82-91.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., and Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Gene.*, **32**, 314-331.

- Bousema, T. J., Bussemakers, J. G., Houwelingen, K. P., Debruyne, M. J., Verbeek, L. M., Rosette, J., Kiemeny, L. A. (2000). Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and the androgen receptor gene and the risk of benign prostatic hyperplasia. *European Urology*, **37**: 234-8.
- Bratt, O., Borg, A., Kristoffersson, U., Lundgren, R., Zhang, Q-X and Olson, H. (1999). CAG repeat length in the androgen receptor gene is related to age at the diagnosis of prostate cancer and response to endocrine therapy, but not to prostate cancer risk. *British Journal of Cancer*, **81**(4), 672-676.
- Brawley, O. W., Giovannucci, E., and Kramer, B. S. and Kramer, B. S. (2000). Epidemiology of prostate cancer, in Vogelzang N. J., Scardino, P. T., Snipey, W. U., Comprehensive Textbook of Genitourinary Oncology. Philadelphia, Lippincott, Williams and Wilkins, 2000, 534-544.
- Brinkmann, A. O., Trapman, J. (2000). Prostate cancer schemes for androgen escape. *Nat. Med.*, **6**, 628-629.
- Brothman, A. R., Peehl, D., M., Patel, A. M. McNeal, J. E. (1990). *Cancer Res.*, **50**, 3795-3803.
- Bubendorf, L. (2001). High-throughput microarray technologies: From genomics to clinics. *European Urology*, **40**: 231-8.
- Canadian Cancer Statistics. Toronto: National Cancer Institute, 1997. 14.
- Cancer Facts and Figures, 2000. Atlanta, GA, American Cancer Society.
- Carso-Juria, M. A., Schrader, W. T., O'Malley, B. W. (1990). Steroid receptor family: structure and functions. *Endocr. Rev.*, **11**, 201-220.
- Carter, B. S., Bova, G. S., Beaty, T. H., Steinberg, G. D., Childs, B., Isaacs, W.B. Walsh, P. C. (1993). *J. Urol.*, **150**, 797-802.
- Carter, B. S., Beaty, T. H., Steinberg, G. D., Childs, B., ve Walsh, P. C. (1992). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 3367-3371.
- Chang, B., Zheng, S., hawkins, G. A., Isaacs, S. D., Willey, K. E., Turner, A., Carpten, J. D., Bleecker, E. R., Walsh, P. C., Trent, J. M., Mayers, D. A., Isaacs, W. B., Xu, J. (2002). Polymorphic GGC repeats in the androgen receptor gene are associated with hereditary and sporadic prostate cancer risk. *Hum. Genet.*, **110**, 122-129.
- Chang, C., Kokontis, J., and Liao, S. (1988). Molecular cloning of human and rat complementary DNA encoding androgen receptors. *Science (Washington DC)*, **240**, 324-326.
- Chodac, G. W., Keller, P., Schoenber, H. W. (1989). Assesment, of screening for prostate cancer using the digital and rectal examination. *J. Urol.*, **141**, 1136-1138.

- Chakravarti, A., (2001). Single nucleotide polymorphism:...to a future of genetic medicine. *Nature*, **409**, 822-823.
- Chamberlain, N. L., Driver, E.D. and Miesfeld, R., L. (1994) The length and location of CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor N-terminal domain affect transactivation function. *Nucleic Acids Res.*, **22**, 3181-86.
- Clements, J., Mukhtar, A. (1994). Glandular kallikreins and prostate-specific antigen are expressed in the human endometrium. *J. Clin. Endocr. Metab.*, **78**, 1536-1539.
- Cleutjens, K. B. J. M., van der Korput, H. A. G. M., van Eekelen, C. C. E. M., van Rooij, H. C. J., Faber, P. W., Trapman, J. (1997). An androgen response element in a far upstream enhancer region is essential for high, androgen regulated activity the prostate-specific antigen promoter. *Molec., Endocr.*, **11**, 148-161.
- Cleutjens, K. B. J. M., van Eekelen, C. C. E. M., van der Korput, H. A. G. M., Brinkmann, A. O., Trapman, J. (1996). Two androgen response regions cooperate in steroid hormone regulated activity of the prostate-specific antigen promoter. *J. Biol. Chem.*, **271**, 6379-6388.
- Coetzee, G. A. and Ross, R. K. (1994). Prostate cancer and androgen receptor. *J. Natl. Cancer Inst.*, **86**, 872-873.
- Coffey, D. S. (2001). Similarities of prostate and breast cancer: Evolution, diet, and estrogens. *Urology*, **57 (suppl 4A)**, 31-38.
- Cohen, P., Peehl, DM., Lamson, G., Rosenfeld, R. G. (1991). Insulin-like growth factors (IGFs), IGF receptors, and IGF-binding proteins in primary cultures of prostate epithelial cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **73**, 401-407.
- Colombel, M., Symmans, F., Gil, S., O'Toole, K. M., Chopin, D., Benson, M., Olsson, C. A., Korsmeyer, S., and Buttyan, R. (1993). *Am. J. Pathol.*, **143**, 390-400.
- Correa-Cerro, L., Wohr, G., Haussler, Berthon, P., Drelon, E., Mangin, P., Fournier, G., Cussenot, O., Kraus, P., Just, W., Paiss, T., Cantu, J. M., Vogel, W. (1999). (CAG)_n and (GGC)_n repeats in the human androgen receptor gene are not associated with prostate cancer in a French-German population. *Eur. J. Hum. Genet.*, **53**, 252-263.
- Cramer SD, Chen Z, Peehl DM. (1996). Prostate-specific antigen cleaves parathyroid hormone-related protein in the PTH-like domain: Inactivation of PTHrP-stimulated cAMP accumulation in mouse osteoblasts. *J Urol.*, **156**, 526-531.
- Crawford, E. D., and DeAntoni, E. P. (1994). Early detection of prostate cancer: Challenges and controversies. In: Early detection of prostate cancer: Molecular markers. Srivastava, S., Lippman, S. M., Hong, W. K., Mulshine, J. L., eds. Armonk: Futura Publishing Co. Inc. 199-210.

- Crocitto, L. E., Henderson, B. E., Coetzee, G.. (1997). Identification of two germline point mutations in the 5'UTR of the androgen receptor gene in men with prostate cancer. *J. Urology*, **158**, 1599-1601.
- Culig Z. Hobisch A, Cronauer, M.V. (1994). Androgen receptor activation in prostate tumor lines by insulin-like growth factor-I, keratinocyte growth factor, and epidermal growth factor. *Cancer Res*, **54**, 5474-5478.
- Culig, Z., Hobisch, A., Cronauer M. V. (1993). Mutant androgen receptor detected in an advanced-stage prostatic carcinoma is activated by adrenal androgens and progesterone. *Mol. Endocrinol.*, **7**, 1541-1550.
- Culig, Z., Hobisch, A., Hittmair, A. (1997). Hyperactive androgen receptor in prostate cancer: what does it mean for new therapy concepts? *Histol. Histopathol.*, **12**, 781-786.
- De Winter, J. A., Trapman, J., Brinkmann, A. O. (1990). Androgen receptor heterogeneity in human prostatic carcinomas visualized by immunohistochemistry. *J. Path.*, **160**, 329-332.
- Dearnaley, D. P. (1994). Cancer of prostate. *Br. Med. J.*, **308**, 780-784.
- Dede, N.Ö. (2002). Yaşlı nüfusun sessiz devrimi. *Cumhuriyet Bilim ve Teknik*, **796**, 2-3.
- Driscoll, S. G., Taylor, S. H. (1980). Effects of prenatal maternal estrogen on the male urogenital system. *Obstet. Gynecol*, **56**, 537-542.
- Dumas, F., Gala, J. L., Berteau, P., Brasseur, F., Eschwege, P., Paradis, V., Bedossa, P., Benoit, G., Loric, S. (1999). Molecular expression of PSMA mRNA and protein in primary renal tumors. *Int. J. Cancer*, **80**, 799-803.
- Eder, M., Battmer, K., Kafert, S., Stucki, A., Ganser, Hertenstein B. (1999). Monitoring of BCR-ABL expression using real-time RT-PCR in CML after bone marrow or peripheral blood stem cell transplantation. *Leukemia*, **13**, 1383-1389.
- Eder, I. E., Culig, Z., Putz, T., Nesseser-Menardi, C., Bartsch, G., Klocker, H. (2001). Molecular biology of the androgen receptor: From molecular understanding to clinic. *Eur. Urol.*, **40**, 241-251.
- Epstain, J. L. (1994). *Am. J. Pathol.*, **21**, 527-541.
- Edwards, A., Hammond, H. A., Jin, L., Caskey, C. T. and Chakraborty, R. (1992). Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups. *Genomics*, **12**: 241-45.
- Edwards, S. M., Badzioch, M. D., Minter, R., Hamoudi, R., Collins, Arders-Jones, A., Dowe, A., Osborne, S., Kelli, J., Shearer, R., Easton, D. F., Sauders, G. F., Dearley,

- D. P. and Eeles, A. E. (1999). Androgen receptor polymorphisms: Association with prostate cancer risk, relapse and overall survival.
- Ellerby, L. M., Hackam, A. S., Propp, S. S., Ellerby, H. M., Rabizadej, S., Cashman, N.R., Trifiro, M. A., Pinsky, L., Wellington, C. L., Salvesen, G. S., Hayden, M. R., Bredesen, D. E. (1999). Kennedy's disease: Caspase cleavage of the androgen Receptor is a crucial event in cytotoxicity. *J. Neurochem.*, **72**, 185-195.
- Elo, J. P., Kvist, L., Leinonen, K. (1995). Mutated human androgen receptor gene detected in a prostatic cancer patient is also activated by estradiol. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **80**, 3494-3500.
- Evans, B. A., Harper, M. E., Daniels, C. E. (1996). Low incidence of androgen receptor gene mutations in human prostatic tumors using single strand conformation polymorphism analysis. *Prostate*, **28**, 162-171.
- Evans, R. M. (1988). The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science*, **240**, 889-895.
- Fahey, J. W., Zhang, Y., and Talalay, P. (1997). Broccoli sprouts: an exceptionally rich source inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **91**, 2399-2403.
- Fang, S., Anderson, K. M., Liao, S. (1969). Receptor proteins for the androgens. On the role of specific proteins in selective of 17- β - hydroxy-5- α -androstane-3-one by rat ventral prostate in vivo and in vitro. *J. Biol. Chem.*, **244**, 6584-6595.
- Feldman, D., (1997). Androgen and vitamin D receptor gene polymorphisms: The long and short of prostate cancer risk. *J. Natl. Cancer Inst.*, **89**, 109-111.
- Fenton, M. A., Shuster, T. D., Fertig, A. M. (1997). Functional characterization of mutant androgen receptors from androgen-independent prostate cancer. *Clin. Cancer Res.*, **3**, 1383-1388.
- Friedman, G. D., Hiatt, R. A., Qesenberry, C. P. (1991). Case-control study of screening for prostate cancer by digital rectal examinations. *Lancet*, **337**, 1526-1529.
- Gaddipati, J. P., McLeod, D. G., Heidenberg, H. B. (1994). Frequent detection of codon 877 mutation in the androgen receptor gene in advanced prostate cancers. *Cancer Res.*, **54**, 2861-2864.
- Gala, J. L., Loric, S., Guiot, Y., Heusterspreute, M., Hanon, F., Van Cangh, P., De Nayer, P., Philippe, M. (2000). Circulating urothelial PSMA expressing cells in invasive bladder cancer. *Clin. Cancer Res.* (in press).
- Garnick, M. B. (1993). Prostate cancer: screening, diagnosis and management. *Ann. Intern. Med.*, **118**, 804-818.

- Giguere, V.(1999). Orphan nuclear receptors: From gene to function. *Endocr. Rev.*, **20**, 689-725.
- Gioannucci, E., Stampfer, M. J., Krithivas, K., Brown, M., Brufsky, A., Talcott, J., Hennekens, C. H. and Kantoff, P. W. (1997). The CAG repeat within the androgen receptor gene and its relationship to prostate cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 1194.
- Gleave, M., Hsieh J- T., Gao, C., von Eschenbach, A. C., Chung, L. W. K. (1991). Acceleration of human prostate cancer growth in vivo by factors produced by prostate and bone fibroblasts. *Cancer Res.*, **51**, 3753-3763.
- Greenlee, R., Murray, T., Bolden, S., Wingo, P. (2000). Cancer Statistics, 2000. *CA Cancer J. Clin.*, **50**, 7-33.
- Griffiths, K., Morton, M. S., Denis, L.J. (1998). Diet and prostate disease. Oxford, United Kingdom, International Prostate Health Council.
- Geller, J., Albert, J.D., Vik, A. (1988). Advantages of total androgen blockade in the tretment of advanced prostate cancer. *Semin Oncol.*, **15** (Suppl 1), 53-61.
- Gittes, R.F.(1991). Carcinoma of the prostate: review article. *N. Engl. J. Med.*, **324**, 236-245.
- Gleason, D. F.(1992). *Hum. Pathol.*, **23**, 273-279.
- Gottlieb, B., Beitel, L. K., Lumbrosso, R., Pinsky, L., Trifiro, M. (1999). Update of the androgen receptor gene mutations database. *Hum. Mutat.*, **14**, 103-114.
- Guinan, P. D., Sodoughi, Alsheik, H., Ablin, R. J., Alrenga, D., Bush, I. M. (1976). Impotence therapy and cancer of prostate. *Am. J. Surg.*, **131**, 599-600.
- Hakimi, J. M., Rondinelli, R. H., Schoenberg, M. and Barrack, E. R. (1996). Androgen-gene structure and function in prostate cancer. *World J. Urol.* **14**: 329-337.
- Hakimi, J. M., Schoenberg, M., Rondinelli, R. H., Piantadosi, S., Barrack, E.R. (1997). Androgen receptor variants with short glutamine or glycine repeats may identify unique subpopulations of man with prostate cancer. *Clin. Cancer Res.*, **3**, 1599-1608.
- Hara, M., Koyanogi, Y., Inoue, T., Fukutara, T. (1971). Some physio-chemical characteristics of 'gamma-seminoprotein', an antigen component specific for human seminal plasma. Forensic immunologic study of body fluids and secretion. *Jpn. J. Legal.Med.*, **25**, 322.
- Hardy, D. O. Scher, H. I., Bogenreider, T., Sabbatini, P., Zhang, Z. F., Nanus, D. M., and Cattral, J. F. (1996). Androgen receptor CAG repeat lengths in prostate cancer: correlation with age of onset. *J. clin. Endocrinl. Metab.*, **81**, 4400-4405.

- Hayes, J. D., and Pulford, D. J. (1995). The glutathione S-transferase-supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprevention and drug resistance. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **30**, 445-600.
- Ho, S. M., Lee, K. F., Lane, K. (1997). Neoplastic transformation of the prostate. In: Naz RK, ed. Prostate: basic and clinical aspects. New York: CRC Press Boca Raton; 74-114.
- Hsing, A. W., Gao, Y. T., Wu, G., Wang, X., Deng, J., Chen, Y. L., Sesterhenn, I. A., Mostofi F. K., Benichou, J., Chang, C. (2000). Polymorphic CAG and GGN repeat lengths in the androgen receptor gene and prostate cancer risk: a population-based case-control study in China. *Cancer Res.*, **60**, 5111-5116.
- Ingles, S. A., Ross, R. K., Yu, M. C., Irvine, R. A., La Pera, G., Haile, R. W. and Coetzee, G. A. (1997). Association of prostate cancer risk with genetic polymorphisms in vitamin D receptor and androgen receptor. *JNCI*, **89**, 1194.
- Irvine, R. A., Yu, M. C., Ross, R. K. and Coetzee, C. A. (1995). The CAG and GGC microsatellites of the androgen receptor gene are in linkage disequilibrium in men with prostate cancer. *Cancer Res.*, **55**: 1937-40.
- Iwamura M, Hellman J, Cockett A.T. (1996). Alteration of the hormonal bioactivity of parathyroid hormone-related protein (PTHrP) as a result of limited proteolysis by prostate-specific antigen. *Urology*, **48**, 317-325.
- Jackson, J. A., Waxman, J., Spiekerman, A. M. (1989). Prostatic complications of testosterone replacement therapy. *Arch. Intern. Med.*, **149**, 2365-2366.
- Jacobsen, S., J., Bergstralh, E. J., Katusic, K. (1998). Screening digital rectal examination and prostate cancer mortality: a population-based case control study. *Urology*, **52**, 173-179.
- Jaffe, J. M. (2000). Association of SRD5A2 genotype and pathological characteristics of prostate tumors. *Cancer Res.*, **60**, 1626-1630.
- Jenster, G., van der Korput, H.A.G.M., van Vroonhoven, C., van der Kwast, T. H., Trapman, J., Brinkmann, A. O.(1991). Domains of the human androgen receptor involved in steroid binding, transcriptional activation, and subcellular localization. *Mol. Endocrinol.*, **5**, 1396-1404.
- Jenster, G., Trapman, J., Brinkmann, A. O.(1993). Nuclear import of the human androgen receptor. *Biochem. J.*, **293**, 761-768.
- Jenster, K., ve ark., van der Korput, HAGM, Trapman, J., Brinkmann, A. O.(1995). Identification of two transcription activation units in the N-terminal domain of the human androgen receptor. *J. Biol. Chem.*, **270**, 7341-7346.
- Kara, N. (1999). Fragil-X sendromlu hastaların ve taşıyıcıların tanısında sitogenetik ve

moleküler genetik yöntemlerin kullanılması.

- Kallioniemi, O. P., Visakorpi, T. (1996). Genetic basis and clonal evolution human prostate cancer. *Advances in Cancer Research*, **68**, 225-255.
- Kato, S. (2000). The function of vitamin D receptors in vitamin D action. *J. Biochem.* (Tokyo), **127**, 717-722.
- Kelloff, G. J., Lieberman, R., Steele, V. E., Boone, C. W., Lubet, R. A., Kopelovich, L., Malone, W. A., Crowell, J. A., Higley, H. R. and Sigman C. C. (2001). Agents, biomarkers, and cohorts for chemopreventive agent development in prostate cancer. *Urology*, **57** (Suppl 4A): 46-51.
- Kim, N. W., and Hruszkewycz, A. M. (2001). Telomerase activity modulation in the prevention of prostate cancer. *Urology*, **57** (Suppl 4A): 148-153.
- Kirby, R. S. ve Christmas, T. J. (1993). Benign Prostatic Hyperplasia. Mosby-Year Book Europe, limited, Lynton House, 7-12 Tavistock Square, London WC1H9LB, England.
- Kazemi-Esfarjani, P., Trifiro, M. A. and Pinsky, L. (1995). Evidence for a repressive function of the long polyglutamine track in the human androgen receptor: possible pathogenetic relevance for the CAG expanded neuronopathies. *Hum. Mol. Genet.*, **4**: 523-7.
- Keilholz, U. (1998). New prognostic factors in melanoma: mRNA tumor markers. *Eur. J. Cancer*, **34** (suppl. 3), S37-S41.
- Kim, I. Y., Kim, J. K., Zelner, D. J., Ahn, H. J., Sensibar, J. A., Lee, C. (1996). Transforming growth factor- β 1 is a mediator of androgen regulated-growth arrest in an androgen-responsive prostatic cancer cell line, LNCaP. *Endocrinology*, **137**, 991-999.
- Klocker, H., Culing, Z., Hobisch, A., Hittmair, A., Bartsch, G., Peterziel, H. and Cato, A. C. B. (1998). Androgen receptor mutations in prostate cancer. In: Molecular biology of prostate cancer. New York: Walter de Gruyter, 81-88.
- Ko, S. C., Cheon, J., Kao, C. (1996). Osteocalcin promotor based toxic gene therapy for the treatment of osteosarcoma in experimental models. *Cancer Res.*, **56**, 4614-4619.
- Kobayashi, Y., Kume, A., Li, M., Doyu, M., Hata, M., Ohtsuka, K., Sobue, G. (2000). Chaperones Hsp70 and Hsp40 suppress aggregate formation and apoptosis in cultured neuronal cells expressing truncated androgen receptor protein with expended polyglutamine tract. *J. Biol. Chem.*, **275**, 8772-8778.
- Kolar, I. Y., Murray, P. G., Scott, K., Harrison, A., Vojtesek, B., Dusek, J. (2000). Relation of Bcl-2 expression to androgen receptor, p21WAF/CIP1, and cyclin D1

status in prostate cancer. *Mol. Pathol.*, **53**, 15-18.

Koivisto, P. A., Helin, H. J. (1999). Androgen receptor gene amplification increases tissue PSA protein expression in hormone-refractory prostate cancer. *J. Pathol.*, **189**, 219-223.

Kyprianou, N., Isaacs, J. T. (1989). Expression of transforming growth factor- β in the rat ventral prostate during castration-induced programmed cell death. *Mol. Endocrinol.*, **3**, 1515-1522.

La Spada, A., Wilson, E. M., Lubahn, D. B., Harding, A. E., and Fishchbeck, K. H. (1991). Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature*, **352**, 77-79.

Labrie, F., Luthy I., Veilleux, R. (1987). New concepts on the androgen sensitivity of prostate cancer. In: Prostate cancer, New York, Alan R Liss; 145-172.

Labrie, F., Belanger, A., Dupont, A., Luu-The, V., Simard, J., and Labrie, C. (1993). *Clin. Invest. Med.*, **16**, 475-492.

Levesque, M. A., Yu, H., D'Costa, M., Diamandis, E. P. (1995). Prostate-specific antigen expression by various tumors. *J. Clin. Lab. Anal.*, **9**, 123-126.

Lilja H. (1985). A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid is the predominant seminal vesicle protein. *J Clin Invest*; **76**:1899-1903.

Lu, S., Tsai, S. Y., and Tsai, M. J. (1997). Regulation of androgen-dependent prostatic cancer cell growth: androgen regulation of CDK2, CDK4 and Ck1 p16 genes. *Cancer Res.*, **57**, 4511-4516.

Lu, S., Liu, M., Epner, D. E., Tsai, S. Y., Tsai, M. J. (1999). Androgen regulation of the cyclin-dependent, kinase inhibitor, p21 gene through an androgen response element in the proksimal promotor. *Mol. Endocrinol*, **13**, 376-384.

Lubahn, D. B., Joseph, D. R., Sar, M., et al. (1998). The human androgen receptor: complementary deoxyribonucleic acid cloning, sequence analysis and gene expression in prostate. *Mol. Endocrinol.*, **2**: 1265-1275.

Lumbroso, S., Lobaccaro, J., Vial, C., Sassolas, G., Ollagnon, B., Belon, C., Pouget, J., Sultan C. (1997). Molecular analysis of the androgen receptor gene in Kennedy's Disease. *Horm. Res.*, **47**, 23-29.

Lundgren, R., Kristoffersson, U., Heim, S., Limon, J., Henrikson, H., and Mittelman, F. (1992). *Genes Chrom. Cancer*, **10**, 16-24.

Makridakis, N. M. (1999). Association of mis-sense substitution in SRD5A2 gene with prostate cancer in African-American and Hispanic men in Los Angeles, USA. *Lancet*, **354**, 975-978.

- Marcelli, M., Ittmann, M., Mariani, S. (2000). Androgen receptor mutations in prostate cancer. *Cancer. Res.*, **60**, 944-949.
- Matsushima, H., Goto, T., Hosaka, Y., Kitamura, T., Kawabe, K. (1999). Correlation between proliferation, apoptosis, and angiogenesis in prostate carcinoma and their relation to androgen ablation. *Cancer*, **85**, 1822-1827.
- McCampel, A., Taylor, J. P., Taye, A. A., Robitsceh, Li, M., Walcott, J., Chai, Y., Paulson, H., Sobue, G., Fischbeck, K. (2000). CREB-binding protein sequestration by expended polyglutamine. *Hum. Mol. Genet.*, **9**, 2197-2202.
- McDonnell, T., J., Troncoso, P., Brisbay, S. M., Logothetis, C., Chung, L. W., Hsieh, J. H., Tu, S. M., Campbell, M. L. (1992). *Cancer Res.*, **52**, 6940-6944.
- McManus, M. E., Burgess, W. M., Veronese, M. E. (1990). Metabolism of 2-acetylaminoflourene and benzo(a)pyrane and activation of food-derived heterocyclic amine mutagens by human cytochromes P-450. *Cancer.Res.*, **50**, 3367-3376.
- McPhaul, M. J., Marcelli, M., Zoppi, S., Griffin, J. E., and Wilson, J. D. (1993). Genetic basis of endocrine disease 4: the spectrum of mutations in the androgen receptor gene that causes androgen resistance. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **76**, 17-23.
- Mensink, E., van de Lacht, A., Schattenberg, A., Linders, E., Schaap, N., De Witte, T. (1998). Quantitation of minimal residual disease in Philadelphia chromosome positive chronic myeloid leukemia patients using real-time quantitative RT-PCR. *Br. J. Haematol.*, **102**, 768-764.
- Mettlin, C., Lee, F., Drago, J., Murphy, G. P. (1991). Findings in the detection of early prastate cancer in 2,425 men. *Cancer*, **67**, 2949- 2956.
- Miller, S. A., Dykes, D. D., Polsky, H. F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl. Acid. Res.*, **16**, 1215.
- Miller, E. A. Stanford, J. L., Hsu, L., Noonan, E. Ostrander E. A. (2001). Polymorphic repeats in the androgen receptor gene in high risk subships. *Prostate*, **48**, 200-205.
- Moilanen, A., Rouleau, N., Ikonen, T., Palvimo, J. J., Janne, O. A., (1997). The presence of a transcription activation function in the hormone-binding domain of androgen receptor is revealed by studies yeast cells. *FEBS Lett.*, **412**, 355-358.
- Mononen, N., Ikonen, T., Autio V., Rökman, A., Matikainen, M. P., Tammela, T. L., Kallioniemi, O. P., Koivisto, P. A., Scheutker, J. (2002). Androgen receptor CAG polymorphism and prostate cancer risk. *Hum. Genet.*, **111(2)**, 166-171.
- Monroe, K. R., Yu, M. C., Kolonel, L. N., Coetzee, G. A., Wilkens, L. R., Ross, R. K., and Henderson, B. E. (1995). Evidence of an X-linked or recessive genetic

- component to prostate risk. *Nat. Med.*, **1**, 827-829.
- Moul, J.W., Srivastava, S., McLeod, D. G. (1995). Molecular implications of the antiandrogen withdrawal syndrome. *Semin Urol.*, **13**, 157-163.
- Muller, J. M., Isele, U., Metzger, E. (2000). FHL2, a novel tissue-specific coactivator of the androgen receptor. *EMBO J.*, **19**, 359-369.
- Nadji M, Tabei SZ, Castro A, Chu, TM, Murphy GP, Wang MC, Morales AR (1981). Prostate- specific antigen: an immunohistologic marker for prostatic neoplasms. *Cancer* ; **48**:1229.
- Nagle, R. B., Brawer, M. K., Kittleson, J., ve Clarks, V. (1991). *Am. J. Pathol.*, **138**, 119-128.
- Nam, R. K., Jewett, M. A. S. and Krahn, M. D. (1998). Prostate cancer. *CMAJ*, **159**, 685.
- Nam, K. R., Elhaji, Y., Krahn, M. D., Hakimi, J., Minnie, H., Chu, W., Sweet, J., Trachtenbarg, J., Jewett, M. A. S. and Narod, S. A. (2000). Significance of the repeat polymorphisms of the androgen receptor gene in prostate cancer progression. *The Journal of Urology*, **164**, 567-572.
- Narod, S., Dupond, A., Cusan, L., Diamond, P., Gomez J-L., Suburu, R. and Labrie F. (1995). The impact of family history on early detection of prostate cancer. *Nat. Med.*, **1**, 99-101.
- Nelson, W. G., Marzo, A. D., DeWeese, T. L. (2001). The molecular pathogenesis of prostate cancer: Implications for prostate cancer prevention. *Urology*, **57 (Suppl, 4A)**, 39-45.
- Neuschimid-Kaspar, F., Gast, A., Peterziel, H., Schneikert, J., Muigg, A., Muigg, A., Radmayr, C., Klocker, H., Bartsch, G., Cato, A. C.(1996). CAG-repeat expansion in androgen receptor in Kennedy's disease is not a loss of function mutation. *Mol. Cell Endocrinol.*, **117**, 149-156.
- O'Malley, B. (1990). The steroid receptor superfamily: more excitement predicted for the future. *Mol. Endocrinol.*, **4**, 363-369.
- Oesterling, J. E., Chan, D. W., Epstein, J. I., Kimball, A. W., Bruzek, D. J., Rock, R. C., Brendler, C. B., Walsh, P. C. (1988). Prostate specific antigen in preoperative and postoperativeevaluation of localized prostatic cancer treated with radical prostatectomy. *J. Urol.*, **139**, 766-772.
- Oishi, K., Boyle, P., Barry, M.J., Farah, R., Gu, F., L., Guess, H., Jacobsen, S., Jimenes Cruz, F., Kimeney, L., O'Leary, M. P., Saitoh, M., Yatani, R. (1998). Epidemiology and natural history of benign prostatic hyperplasia , Fourth International Consultation on Benign Prostatic Hyperplasia. Geneva, WHO.

- Ostrander, E., and Stanford, J. L. (2000). Genetics of prostate cancer: too many loci, too few genes. *Am. J. Hum. Genet.*, **67**, 1367-1375.
- Özen, H.A. ve Özkardeş, H. (1996). Benign Prostat Hiperplazisi, MedikoGraphics, Meşrutiyet Caddesi, Bayındır-2 Sokak 62 Kocatepe Ankara.
- Page, M. J., Parker, M. G. (1982). Effect of androgen on transcription of rat prostatic binding protein genes. *Mol. Cell Endocrinol.*, **28**, 343-355.
- Paiss, T., Bochum, S., Herkommer, K., Maier, C., Roesch, K., Taweemonkonsap, T., Haeussler, J., Hautmann, R.E., Vogel, W. (2001). Hereditary prostate cancer in Germany. *Eur. Urol.* ; **39 (suppl 4)**: 12-18.
- Palmberg, C., Koivisto, P., Kakkola, L., Tammela, T. L., Kallioniemi, O. P., Visakorpi, T. (2000). Androgen receptor gene amplification at primary progression predicts response to combined androgen blockade as second line therapy for advanced prostate cancer. *J. Urol.*, **164**, 1992-1995.
- Papsidero LD, Kuriyama M, Wang M, Horoszewicz JS, Leong SS, Valenzuela L, Murphy GP, Chu TM (1981). Prostate antigen: a marker for human prostate epithelial cells. *J Natl Cancer Inst*; **66**: 37-42.
- Peterson, C. M. (2000). Estrogen and progesterone receptors: An overview from the year 2000. *J. Soc. Gynecol. Investig.*, **7 (suppl)**, S3-S7.
- Platz, E. A. Giovannucci, E., Dahl, D. M. (1998). The androgen receptor gene GGN microsatellite and prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **7**, 379-384.
- Potosky, A. L., Miller, B. A., Albertsen, P. C. and Kramer, B. S. (1995). The role of increasing detection in the rising incidence of prostate cancer. *JAMA*, **273**, 548.
- Prins, G. S. (2000). Molecular biology of the androgen receptor. *Mayo Clin. Proc.*, **75 (Suppl)**, S32-S35.
- Pumper, K. (1997). Prostate cancer. A- 8036 Graz, Austria.
- Reichardt, H. M., Tronche, F., Berger, S., Kellendonk, C., Schutz, G. (2000). New insights into glucocorticoid and mineralocorticoid signaling: Lessons from gene targeting. *Adv. Pharmacol.*, **47**, 1-21.
- Rennie, P. S., Bruchovsky, N., Leco, K. J., Sheppard, P. C., McQueen, S. A., Cheng, H., Snoek, Hamel, A., Bock, M. E., MacDonald, B. S., Nickel, B. E., Chang, C., Liao, P. A., Matusic, R. J. (1993). Characterization of two cis-acting DNA elements involved in the androgen regulation of probasin gene. *Mol. Endocrinol.*, **7**, 23-36.
- Ries, L., Kosary C.L., Miller, B., Clegg, L., Edwards, B.(1999). SEER Cancer Statistics

- Review, 1973-1996. National Cancer Institute, Bethesda, MD.
- Rifkin, M. D., Zerrhouni, E. A., Gatsoris, C. A. (1990). Comparison of magnetic resonance imaging and ultrasonography in staging early prostate cancer results of multi-institutional cooperative trial. *N. Eng. J. Med.*, **323**, 621-626.
- Rao, A., and Cramer, S. D. (1999). Identification a polymorphism in the ARE 1 region of the PSA promotor. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, **40**, 65.
- Roberts, J. T., Essenhight, D. M. (1986). Adenocarcinoma of prostate in 40-year-old-body-builder [Letter]. *Lancet*, **2**, 742.
- Robyr, D., Wolffe, A. P., Wahli, W. (2000). Nuclear hormone receptor coregulators in action diversity for shared tasks. *Mol. Endocrinol.*, **14**, 329-347.
- Ross, R. K., Coetzee, G. A., Reichardt, J., Skinner, E., and Henderson, B. E. (1995). Does the racial-ethnic variation in prostate cancer risk have a hormonal basis? *Cancer (Phila.)*, **75**, 1778-82.
- Riegman PHJ, Vlietstra RJ, van der Korput JAGM, Brinkmann AO, Trapman J. (1991). The promoter of the prostate-specific antigen gene contains a functional androgen responsive element. *Mol Endocrinol*; **5**:1921-1930.
- Ruizeveld de Winter, J. A., Janssen, P. J., Sleddens, H. M. (1994). Androgen receptor status in localized and locally progressive hormone refractory human prostate cancer. *Am. J. Path.*, **144**, 735-746.
- Sadi, M. V., Walsh, P. C., Barrack, E. R. (1991). Immunohistochemical study of androgen receptors in metastatic prostate cancer. Comparison of receptor content and response to hormonal therapy. *Cancer*, **67**, 3057-3064.
- Sakr, W. A., Grignon, D. J., Crissman, J. D. (1994). High grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) and prostatic adenocarcinoma between the ages of 20-69: an autopsy study of 249 cases. *In Vivo*, **8**, 439-443.
- Sheldon, C. A., Williams, M., ve Fraley, E. E. (1990). *J. Urol.*, **124**, 626-636.
- Schedlich LJ, Bennetts BH, Morris BJ. (1987). Primary structure of a human glandular kallikrein gene. *DNA*; **6**:429.
- Schröder, F. H., Boyle, P. (1993). Screening for prostate cancer - necessity or non sense? *Eur. J. Cancer*, **29A**, 656-661.
- Shibata, A., Stamey, A. T., McNeal, J. E., Cheng, I., and Peehl, D. M. (2001). Genetic polymorphism in the androgen receptor and type II 5 α -reductase genes in prostate enlargement. *J. Urology*, **166**, 1560-1564.
- Shirai, T., Sano, M., Tamato, S. (1997). The prostate: a target for carcinogenicity of 2-

- amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5- β] pyridine (PhIP) derived from cooked foods. *Cancer Res.*, **57**, 195-198.
- Simental, J. A., Sar, M., Lane, M. V. (1991). Transcriptional activation and nuclear targeting signals of the human androgen receptor. *J. Biol. Chem.*, **266**: 510-518.
- Singhal S., and Kaiser, L. R. (1998). Cancer chemotherapy using suicide genes. *Surg. Oncol. Clin. North Am.*, **7**, 505-536.
- Sleddens, H. F., Oostra, B. A., Brinkmann, A. O. and Trapman, J. (1992). Trinucleotide repeat polymorphism in the androgen receptor gene (AR). *Nucleic Acids Res.*, **20**, 1492-7.
- Sleddens, H. F., Oostra, B. A., Brinkmann, A. O. and Trapman, J. (1993). Trinucleotide (GGN) repeat polymorphism in the human androgen receptor (AR) gene. *Hum. Mol. Genet.*, **2**, 493-8
- Smith, D. F. (1993). Dynamics of heat-shock protein 90 progesterone receptor binding and the disactivation loop model for steroid receptor complexes. *Mol. Endocrinol.* **1993**, 1418-1429.
- Smith, J. R. (1996). Major susceptibility locus for prostate cancer on chromosome 1 suggested by a genome-wide search. *Science*, **274**, 1371-1374.
- Snyderwine, E. G. (1994). Some perspectives on the nutritional aspects of breast cancer research. Food-derived heterocyclic amines as etiologic agents in human mammary cancer. *Cancer*, **74**, 1070-1077.
- Stamey, T. A., Yang, N., Hay, A. R., McNeal, J. E., Freiha, F. S. (1987). Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *New Eng. J. Med.*, **317**, 909-916.
- Stanford, J., Just, J., Gibbs, M., Wicklund, K., Neal, C., Blumenstein, B. and Ostrander, E. (1997). Polymorphic repeats in the androgen receptor gene: molecular markers of prostate cancer risk. *Cancer Res.*, **57**: 1194-8.
- Steinberg, G. D., Carter, B. S., Beaty, T. H., Childs, B., Walsh, P. C. (1990). Family history and the risk of prostate cancer. *Prostate*, **17**, 337-347.
- Stoneking, M. (2001). Single nucleotide polymorphisms: From the evolutionary past... *Nature*, **409**, 821-822.
- Sun, Z., Pan, J. and Balk, S. P. (1997). Androgen receptor-associated protein complex binds upstream of the androgen-responsive elements in the promoters of human prostate-specific antigen and kallikrein 2 genes. *Nucleic Acids Res.*, **25**: 3318.
- Xu, J., Mayers, D., Freije, D., Isaacs, S., Wiley, K., Nusskern, D., Ewing, C., Wilkens,

- Bujnovszky, P., Bova, G. S., Walsh, P., and Isaacs, W. (1998). Evidence for a prostate cancer susceptibility locus on the X chromosome. *Nature Genetics*, **20**, 175-179.
- Xue, W., Irvine, R. A., Yu, M. C., Ross, R. K., Coetzee, G. A., and Ingles, S. A. (2000). Susceptibility to prostate cancer: interaction between genotypes at the androgen receptor and prostate-specific antigen loci. *Cancer Research*, **60**, 839-841.
- Tanaka, F., Doyu, M., Ito, Y., Matsumoto, M., Mitsuma, T., Abe, K., Aoki, M., Itoyama, Y., Fishchbeck, K.K., and Sobue, G. (1996). Founder effect in spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA). *Human Molecular Genetics*, **5**(9), 1253-1257.
- Taplin, M. E. and Ho, S. (2001). The endocrinology of prostate cancer. *J. Clin. Endoc. Metab.*, **86** (8), 3467-3477.
- Taplin, M. E., Bubley, G. J., Shuster, T. D. (1995). Mutation of the androgen-receptor gene in metastatic androgen-independent prostate cancer. *N. Engl. J. Med.*, **332**, 1393-1398.
- Taplin, M. E., Bubley, G. J., Ko, Y. J. (1999). Selection for androgen receptor mutations in prostate cancers treated with androgen antagonist. *Cancer Res.*, **59**, 2511-2515.
- Tatvigian, S. V., Simard, J., Teng, D. H. F., Abtin, V., Baumgard, M., Beck, A., Camp, N. J., Carillo, A. R., Chen, Y., Dayananth, P., Desrochers, M., Dumont, M., Farnham, J. M., Frank, D., Frye, C., Ghaffary, S., Gupte, J. S., Hu, R., Iliev, D., Janecki, T., Kort, E. N., Laity, K., Leavitt, A., Leblanc, G., Morrison, J. M., Pederson, A., Penn, B., Peterson, K. T., Reid, J. E., Richards, S., Schroeder, M., Smith, R., Snyder, S. C., Swedlund, B., Swensen, J., Thomas, A., Tranchant, Woodland, A., Labrie, F., Skolnick, M. H., Neuhaussen, S., Romments, J., and Cannon-Albright, L. A. (2001). A candidate prostate cancer susceptibility gene at chromosome 17p. *Nature Genetics*, **27**, 172-180.
- Thompson, T. C. (1999). In situ gene therapy for prostate cancer. *Oncol. Res.*, **11**, 1-8.
- Tindal, D. J., and Scardino, P. J. (2001). State of research for prostate cancer: Except from the report of the prostate cancer progress review group. *Uroloji*, **57** (Supplement 4A), 29-30.
- Tilley, W. D., Buchanan, G., Hickey, T. E., Bentel, M. (1996). Mutations in the androgen receptor gene are associated with progression of human prostate cancer to androgen independence. *Clin. Cancer Res.*, **2**, 277-285.
- Trapman, J., Klaassen, P., Kuiper, G.G. (1988). Cloning, structure and expression of cDNA encoding the human androgen receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **153**, 241-248.
- Truss, M., Beato, M. (1993). Steroid hormone receptors: Interaction with deoxyribonucleic acid and transcription factors. *Endocr. Rev.*, **14**, 459-479.

- Vastag, B. (2002). Orta düzeylerde PSA'nın prostat kanseri sonlanımlarıyla ilişkili olmadığı sonucuna varıldı. *JAMA*, **287**, 969-970.
- Veltchote, J., Berrevoets, C. A., Zegers, N. D., vander Kvast, T. H., Grootegoed, J. A., Mulder, E. (1992). Hormone-induced dissociation of the androgen receptor-heat-shock protein complex. Use of a new monoclonal antibody to distinguish transformed from non transformed receptors. *Biocemistry*, **31**, 7422-7430.
- Verbeek, W., Gombart, A. F., Shiohara, M., Cambell, M., Coeffler, H. P. (1997). Vitamin D receptor: No evidence for allele-specific mRNA stability in cells which are heterozygous for the *TaqI* restriction enzyme polymorphism. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **238**, 77-80.
- Visakorpi, T., Hyytinen, E., Koivisto, P., Tanner, M., Keianen, R., Palmberg, C., Palotie, A., Tammela, T., Isola, J., Kallionemi, O. P. (1995). In vivo amplification of the androgen receptor and progression of human prostate cancer. *Nature Genet.*, **9**, 401- 406.
- Yatani, R., Chigusa, I., Akazaki, K., Stemmerman, G., Welsh, R., and Correa, P. (1984). *Int. J. Cancer*, **29**, 611-616.
- Yeh, S., Chang, H. C., Miyamoto, H. (1999). Differential induction of the androgen receptor transcriptional activity by selective androgen receptor coactivators. *Keio. J. Med.*, **48**, 87-92.
- Young, I. E., Kurian, K. M., Mackenzie, M., Kunkler, I. H., Cohen, B. B., Hooper, M. L., Wyllie, A. H., Steel, C. M. (2000). The CAG repeat within the androgen receptor gene in male breast cancer patients. *J Med Genet*, **37**, 139-140.
- Yu, H., Diamandis, E. P. (1995). Measurement of prostate-specific antigen level in the serum of females and prostatectomized males with ultrasensitive immunoassay technique. *J. Urol.*, **153**, 1004-1008.
- Wang, M. C., Valenzuela, L. A., Murphy, G. P., Chu, T. M. (1979). Purification of a human prostate specific antigen. *Invest. Urol.*, **17**, 159-163.
- Wilson, C. M., McPhaul, M. (1994). A and B forms of androgen receptor are present in human genital skin fibroblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 1234-1238.
- Willets, W. C. (1997). Specific fatty acids and risks of breast cancer prostate cancer: dietary intake. *Am. J. Clin. Nutr.*, **66** (suppl 6), 1557S-1563S.
- Whitfield, G. K., Jurutka, P. W., Haussler, C. A., Haussler, M. R. (1999). Steroid hormone receptors: Evolution, ligands, and molecular basis of biologic function. *J. Cell Biochem.*, (suppl 32-33), 110-112.

- Whittemore, A. S., Lin, I. G., Oakley-Girvan, I., Gallagher, R. P., Halpern, J., Kolonel, L. N., Wu, A. H., Hsiao, C. L. (1999). No evidence of linkage for chromosome 1q42.2-43 in prostate cancer. *Am. J. Hum. Genet.*, **65**, 254-256.
- Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM. (1979). Purification of a human prostate specific antigen. *Invest Urol*, **17**:159-163.
- Ware, J. I. (1994). *Am. J. Pathol.*, **145**, 983-993.
- Wattenberg, L. W. (1985). Chemoprevention of cancer. *Cancer Res.*, **45**, 1-8.
- Wikstrom, P., Bergh, A., Damber, J. E. (2000). Transforming growth- β 1 and prostate cancer. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, **34**, 85-94.
- Zaridze, D. G. and Boyle, P. (1987). *Br. J. Urol.*, **59**, 493-502.
- Zarghami, N., Levesque, M., D'Costa, M., Angelopoulou, K., Diamandis, E. P. (1997) Frequency of expression of prostate-specific antigen mRNA in lung tumors. *Am. J. Clin. Pathol.*, **108**, 184-189.
- Zarghami, N., Diamandis, E. P. (1996). Detection of prostate-specific antigen mRNA and in protein in breast tumors. *Clin. Chem.*, **42**, 361-366.
- Zhang, Y., Kensler, T. W., Cho, G. G. (1994). Anticarcinogenic activities of sulforaphane and structurally related synthetic norbornyl isothiocyanates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **91**, 3147-3150.
- Zoubek, A., Dockhorn-Dworniczak, B., Gatterer-Menz, I., Smith, T. L., Jurgens, H., Gadner, H., Kovar, H. (1996). Does expression of different EWS chimeric transcripts define clinically distinct risk groups of Ewing tumor patients? *J. Clin. Oncol.*, **14**, 1245-1251.

VIII. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sezgin GÜNEŞ

Doğum Yeri: Tolbuhin

Doğum Tarihi: 08. 06. 1969

Medeni Durumu: Evli, iki çocuklu

Yabancı Dil: İngilizce

E-Mail: sezgingunes@yahoo.com

Eğitim Durumu: 1976-1978 Otez Pairsi İlokulu (BULGARİSTAN)

1978-1981 Demetevler İlkokulu (ANKARA)

1981-1987 Yenimahalle Mustafa Kemal Lisesi (ANKARA)

1987-1992 ODTÜ Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

İlk Görev Yeri: 1992-1995 Bayındır Tıp Merkezi (ANKARA)

Yüksek Lisans: 1995-1999 OMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A. B. D.

Yüksek Lisans Tez Konusu: ‘*M. tuberculosis* Tanısında Polimeraz Zincir Reaksiyonu Tekniğinin Kullanımı’

Görev Değişikliği: 1999- OMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A. B. D., Araştırma Görevlisi

Doktora: 1999-2002 OMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A. B. D.

Doktora Lisans Tez Konusu : Prostat Kanserli ve Benign Prostat Hiperplazili Olgularda Androjen Reseptörü ve Prostata Özgü Antijen Genleri Polimorfizmleri