



**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PROSTAT KANSERİNDE İNFLAMATUAR GEN VARYANLARI VE  
PROTEİN SEVİYELERİNİN BELİRLENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**EMİNE YAĞCI**

**DANIŞMAN**

**PROF. DR. HÜLYAM KURT**

**Eskişehir  
2021**





**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PROSTAT KANSERİNDE İNFLAMATUAR GEN VARYANLARI VE  
PROTEİN SEVİYELERİNİN BELİRLENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**EMİNE YAĞCI**

**DANIŞMAN**

**PROF. DR. HÜLYAM KURT**

**Eskişehir  
2021**

## TEŞEKKÜR

İlk olarak beni her zaman destekleyen, bu uzun ve zorlu eğitim sürecimde hep yanımda olan sevgili eşim Gökhan YAĞCI, hayatımın kahramanı oğlum Göktuğ YAĞCI, canım babam ve anneme,

Tez çalışmamın her aşamasında benimle birlikte emek veren, bana yol gösteren, bu zorlu süreçte yanımda olup beni her adımında destekleyen sevgili danışmanım Prof. Dr. Hülyam KURT'a, çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen ESOĞÜ Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Didem TURGUT COŞAN ve Doç. Dr. Mehmet Cengiz ÜSTÜNER'e, tez çalışmam için hastaların seçilmesinde ve örneklerin toplanmasında yardımcı olan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Ata ÖZEN'e, doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, bana her konuda destek olan ve yönlendiren değerli hocam Doç. Dr. Cansu ÖZBAYER'e

Teşekkürü borç bilirim.

Şubat 2021

Emine YAĞCI

## ÖZET

# PROSTAT KANSERİNDE İNFLAMATUAR GEN VARYANLARI VE PROTEİN SEVİYELERİNİN BELİRLENMESİ

Prostat kanseri, özellikle yaşlı erkekleri etkileyen, erkeklerde en sık görülen ikinci kanserdir. Prostat kanseri riskinin %42 kadarının, genetik etkiler tarafından açıklanabileceği tahmin edilmektedir ve yüksek morbiditesine rağmen etiyojisi tam olarak bilinmemektedir.

Prostat kanserinin tanısında serum prostat spesifik antijen (PSA) seviyeleri kullanılır. Ancak, PSA'nın serum seviyelerindeki artış kansere özgü değildir ve BPH'li hastalarda da görülebilir. Bu nedenle prostat kanserinde teşhis için daha spesifik biyobelirteçlerin tanımlanmasına ihtiyaç vardır.

Kanser gibi hastalıkların prognozu zayıf kaldığı için modern moleküler biyoloji ve tıp, terapötik ve prognostik öneme sahip yeni genomik belirteçlerin geliştirilmesiyle ilgilenmektedir. Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) en önemli genomik belirteç türlerinden biridir.

İnflamasyon, enfeksiyon veya kimyasallara ve partiküllere maruz kalmanın neden olduğu fizyolojik yaralanmaya karşı karmaşık bir tepkidir. Prostatik inflamasyonda hücrel olarak doğrudan üretilen sitokinlerin yanı sıra, TLR'ler ve NLR'ler gibi doğuştan gelen bağışıklıkta görevli moleküller de özel bir aktiviteye sahiptir. Ayrıca yapılan çalışmalar, kemokinler, siklooksigenazlar ve prostat kanseri geliştirme riski arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir.

Çalışmamız, inflamatuvar süreçte etkili olan kemokinler (CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4), kalıp tanıma reseptörleri (NOD1, NOD2, TLR4) ve siklooksigenaz (COX-2) genlerine ait 8 SNP ve inflamatuvar süreçte görevli IL-1 $\beta$ , LY96 ve TLR4 proteinlerinin serum seviyelerininin prostat kanseri riski ile ilişkisini belirlemek amacıyla planlanmıştır.

Çalışmamızda; 90 hasta (28 BPH, 62 Prostat kanseri tanısı alan) ve 90 sağlıklı bireyden alınan kan örneklerinden DNA izole edilmiştir. Polimorfizmlerin değerlendirilmesi için PCR-RFLP yöntemi kullanılmıştır. Serum protein seviyelerininin belirlenmesi için elisa kiti kullanılmıştır.

Değerlendirilen tüm gruplar için CCR3 rs4987053 ve COX-2 rs689466 varyantları genotip dağılımları ve allel frekanslarının gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdiği belirlenmiştir. rs4987053 varyantı için homozigot, resesif ve dominant modellerde, rs689466 varyantı için heterozigot-dominant modelde genotip dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Ayrıca NOD1 rs5743336 varyantı genotip dağılımlarında non-kanseröz ve prostat kanseri grubu arasında anlamlı fark tespit edilmiştir. rs5743336 varyantı prostat kanseri ve kontrol grubu arasında genotip dağılımları ve allel frekanslarında, ayrıca heterozigot, homozigot ve dominant modelde genotip dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmiştir. Bununla birlikte rs16969415, rs1801157, rs2228014, rs2066847, rs4986791 polimorfizmleri ile prostat kanseri riski arasında anlamlı bir ilişki belirlenmemiştir.

Serum IL-1 $\beta$ , LY96 ve TLR4 protein seviyelerinde tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmiştir. İnflamatuar protein seviyeleri ve gen varyantlarının genotip dağılımlarına göre analizinde, TLR4 serum seviyesi ile varyantlar arasında anlamlı fark belirlenemezken, IL-1 $\beta$  serum seviyeleri ile rs689466 varyantı arasında anlamlı bir fark saptanmıştır. Ayrıca, LY96 serum seviyeleri ile rs2228014, rs5743336 varyantları arasında da anlamlı bir fark belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Prostat kanseri, inflamasyon, polimorfizm, kemokin, TLR4, NOD1, COX-2, LY96, IL-1 $\beta$ .

## **SUMMARY**

### **DETERMINATION OF INFLAMMATORY GENE VARIANTS AND PROTEIN LEVELS IN PROSTATE CANCER**

Prostate cancer is the second most common cancer in men, affecting especially older men. It is estimated that up to 42% of prostate cancer risk can be explained by genetic influences, and its etiology is not known exactly despite its high morbidity.

Serum prostate-specific antigen (PSA) levels are used in the diagnosis of prostate cancer. However, the increase in serum levels of PSA is not specific to cancer and may occur in patients with BPH as well. Therefore, more specific biomarkers are needed to diagnose prostate cancer.

Because the prognosis of diseases such as cancer remains poor, modern molecular biology-medicine is concerned with the development of genomic markers of therapeutic and prognostic importance. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) are one of the most important types of genomic markers.

Inflammation is a complex response to infection or physiological injury caused by exposure to chemicals and particles. In addition to cytokines produced directly cellular in prostatic inflammation, molecules involved in innate immunity such as TLRs and NLRs also have a special activity. Additionally, studies have shown an association between chemokines, cyclooxygenases, and the risk of developing prostate cancer.

Our study was planned to determine the relationship between with risk of prostate cancer the 8 SNPs belonging to the chemokines-chemokine receptor (CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4), pattern recognition receptors (NOD1, NOD2, TLR4), and cyclooxygenase (COX-2) genes that are effective in the inflammatory process, and the serum levels of TLR4, LY96, IL-1 $\beta$  proteins involved in the inflammatory process.

In our study; DNA was isolated from blood samples taken from 90 patients and 90 healthy individuals. PCR-RFLP method was used for the evaluation of polymorphisms. The ELISA kit was used to determine serum protein levels.

It was determined that genotype distributions and allele frequencies of rs4987053 and rs689466 variants showed a statistically significant difference between the groups for all evaluated groups. Besides, a significant difference was found

between the non-cancerous/the prostate cancer groups in rs5743336 variant genotype distributions. However, no significant relationship was found between polymorphisms the rs16969415, rs1801157, rs2228014, rs2066847, rs4986791, and risk of prostate cancer.

A statistically significant difference was found between all groups in serum IL-1 $\beta$ , LY96, and TLR4 protein levels. In the comparative analysis of inflammatory protein levels and gene variants according to genotype distributions, a significant difference was found between serum levels of IL-1 $\beta$  and variant of rs689466. A significant difference was determined between serum levels of LY96 and rs2228014, rs5743336 variants.

**Keywords:** *Prostate cancer, inflammation, polymorphism, chemokine, TLR4, NOD1, COX-2, LY96, IL-1 $\beta$ .*

# İÇİNDEKİLER

<b>KABUL VE ONAY SAYFASI</b> .....	iii
<b>ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR</b> .....	iv
<b>ÖZET</b> .....	v
<b>SUMMARY</b> .....	vii
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	ix
<b>TABLO DİZİNİ</b> .....	xii
<b>ŞEKİL DİZİNİ</b> .....	xiii
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b> .....	xiv
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1. Giriş ve Amaç .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	5
2.1. Prostat Kanseri Tanımı .....	5
2.2. Epidemiyoloji .....	7
2.3. Mortalite .....	8
2.4. Etiyoloji .....	9
2.4.1. Demografik risk faktörleri .....	10
2.4.1.1. Yaş .....	10
2.4.1.2. Irk/etnik çeşitlilik .....	10
2.4.2. Hormonal, davranışsal ve yaşam stili risk faktörleri .....	10
2.4.2.1. Hormonlar ve büyüme faktörleri .....	10
2.4.2.2. Diyet .....	11
2.4.3. Obezite .....	12
2.4.4. Fiziksel Aktivite .....	12
2.4.5. Meslek .....	13
2.4.6. Kronik inflamasyon .....	13
2.4.7. Cinsel yolla bulaşan hastalıklar .....	14
2.4.8. Benign prostat hiperplazisi .....	14
2.4.9. Genetik faktörler .....	15
2.4.9.1. Aile öyküsü .....	15
2.4.10. Prostat kanseri: yüksek riskli populasyonlar .....	15
2.4.11. Diğer faktörler .....	15
2.5. Polimorfizm .....	15
2.6. İnflamasyon ve Kanser .....	16
2.7. Prostat Kanseri, BPH ve İnflamasyon .....	18
2.7.1. Kemokinler ve kemokin reseptörleri .....	20
2.7.2. Kalıp tanıma reseptörleri .....	22
2.7.2.1. Nod benzeri reseptörler .....	22
2.7.2.2. Toll benzeri reseptörler .....	23
2.7.3. Siklooksijenazlar .....	25
2.7.4. Lenfosit antijen 96 .....	25
2.7.5. İnterlökin-1 $\beta$ .....	26
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b> .....	28
3.1. Gereç .....	28
3.1.1. Kullanılan kimyasallar ve kitler .....	28
3.1.2. Kullanılan cihaz ve gereçler .....	29
3.1.3. Araştırma gruplarının belirlenmesi .....	30

3.2. Yöntem .....	33
3.2.1. DNA izolasyonu .....	33
3.2.2. DNA miktarının belirlenmesi .....	35
3.2.3. PCR-RFLP yöntemi ile polimorfizmlerin belirlenmesi .....	35
3.2.3.1. Kullanılan çözeltiler .....	35
3.2.3.2. İzole edilen DNA örneklerinin PCR ile amplifikasyonu ...	36
3.2.3.3. Gen bölgeleri için kullanılan amplifikasyon şartları .....	37
3.2.3.4. Agaroz jel elektroforezi .....	39
3.2.3.5. Restriksiyon enzimleri ile kesim .....	41
3.2.4. Serum IL-1 $\beta$ , LY96 ve TLR4 düzeylerinin belirlenmesi .....	49
3.2.5. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi .....	52
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>53</b>
4.1. İnflamatuar gen varyantları .....	54
4.1.1. CCL11 rs16969415 .....	54
4.1.2. CCR3 rs4987053 .....	54
4.1.3. CXCL12 rs1801157 .....	55
4.1.4. CXCR4 rs2228014 .....	55
4.1.5. NOD1 rs5743336 .....	60
4.1.6. NOD2 rs2066847 .....	60
4.1.7. TLR4 rs4986791 .....	60
4.1.8. COX-2 rs689466 .....	61
4.2. PSA Değerleri ile İnflamatuar Gen Varyantlarının Karşılaştırmalı Analizi .....	64
4.3. Serum IL-1 $\beta$ , LY96 ve TLR4 Düzeylerinin Belirlenmesi .....	64
4.3.1. Serum IL-1 $\beta$ düzeyi .....	64
4.3.2. Serum LY96 düzeyi .....	65
4.3.3. Serum TLR4 düzeyi .....	65
4.4. İnflamatuar Protein Seviyeleri ve İnflamatuar Gen Varyantlarının Karşılaştırmalı Analizi .....	66
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>68</b>
5.1. Demografik ve Klinik Verilerin Değerlendirilmesi .....	68
5.2. İnflamatuar Gen Varyantları .....	69
5.2.1. Kemokinler .....	69
5.2.1.1. CCL11 rs16969415 .....	69

5.2.1.2. CCR3 rs4987053 .....	71
5.2.1.3. CXCL12 rs1801157 .....	73
5.2.1.4. CXCR4 rs2228014 .....	74
5.2.2. Kalıp tanıma reseptörleri .....	76
5.2.2.1. Nod benzeri reseptörler .....	76
5.2.2.2. Toll benzeri reseptörler .....	80
5.2.3. Siklooksijenazlar .....	81
5.2.3.1. COX-2 rs689466 .....	81
5.3. İnflamatuar Protein Seviyeleri .....	83
5.3.1. IL-1 $\beta$ .....	83
5.3.2. LY96 .....	86
5.3.3. TLR4 .....	86
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER .....</b>	<b>88</b>
<b>KAYNAKLAR DİZİNİ .....</b>	<b>90</b>
<b>EKLER DİZİNİ .....</b>	<b>104</b>
EK-1. Etik Kurul Kararı .....	104
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>105</b>

## TABLO DİZİNİ

<b>Tablo 3.1.</b> PCR için dizayn edilen forward ve reverse primer çiftleri.....	36
<b>Tablo 3.2.</b> One-Taq Quick-Load 2X master miks PCR Şartları.....	38
<b>Tablo 3.3.</b> Primer bağlanma sıcaklıkları ve derişimleri.....	39
<b>Tablo 4.1.</b> Çalışma popülasyonun yaş değerleri.....	53
<b>Tablo 4.2.</b> BPH, LPCa ve MPCa gruplarında PSA değerlerinin karşılaştırılması .....	54
<b>Tablo 4.3.</b> Çalışma popülasyonunda CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4 genotip dağılımları .....	56
<b>Tablo 4.4.</b> Çalışma popülasyonunda CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4 allel dağılımları .....	57
<b>Tablo 4.5.</b> Prostat kanseri ve kontrol grubu CCL11 rs16969415, CCR3 rs4987053 polimorfizmleri genotip ve alel frekansları .....	58
<b>Tablo 4.6.</b> Prostat kanseri ve kontrol grubu CXCL12 rs1801157, CXCR4 rs2228014 polimorfizmleri genotip ve alel frekansları .....	59
<b>Tablo 4.7.</b> Çalışma popülasyonunda NOD1, NOD2, TLR4, COX-2 genotip dağılımları.....	62
<b>Tablo 4.8.</b> Çalışma popülasyonunda NOD1, COX-2 allel frekansları .....	62
<b>Tablo 4.9.</b> Prostat kanseri ve kontrol grubunda Hardy-Weinberg dengesine göre NOD1 rs574336, COX-2 rs689466 polimorfizmleri genotip ve alel frekansları.....	63
<b>Tablo 4.10.</b> PSA değerleri ve inflamatuvar gen varyantlarının karşılaştırmalı analizi .....	64
<b>Tablo 4.11.</b> Çalışma popülasyonunda serum IL-1B, LY96 ve TLR4 seviyeleri.....	65
<b>Tablo 4.12.</b> Çalışma popülasyonunda serum IL-1B, LY96 ve TLR4 seviyelerinin CCL11 rs16969415 ve CCR3 rs4987053 gen varyantları ile karşılaştırmalı analizi.....	66
<b>Tablo 4.13.</b> Çalışma popülasyonunda serum IL-1B, LY96 ve TLR4 seviyelerinin CXCL12 rs1801157 ve CXCR4 rs2228014 gen varyantları ile karşılaştırmalı analizi.....	67
<b>Tablo 4.14.</b> Çalışma popülasyonunda serum IL-1B, LY96 ve TLR4 seviyelerinin NOD1 rs574336 ve COX-2 rs689466 gen varyantları ile karşılaştırmalı analizi.....	67

## ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 3.1. PCR karışımının hazırlanması.....	37
Şekil 3.2. Bio-Rad T100 Thermal cyclers .....	38
Şekil 3.3. Agaroz jelin hazırlanması .....	40
Şekil 3.4. Hoefer HE-PLUS jel elektroforezi .....	40
Şekil 3.5. CCL11 rs16969415 gen bölgesinin <i>Taq<sup>o</sup>I</i> enzimi ile kesim bölgeleri	42
Şekil 3.6. CCR3 rs4987053 gen bölgesinin <i>NlaIII</i> enzimi ile kesim bölgeleri.....	43
Şekil 3.7. CXCL12 rs1801157 gen bölgesinin <i>MspI</i> enzimi ile kesim bölgeleri.....	44
Şekil 3.8. CXCR4 rs2228014 gen bölgesinin <i>BccI</i> enzimi ile kesim bölgeleri.....	45
Şekil 3.9. NOD1 rs5743336 gen bölgesinin <i>AvaI</i> enzimi ile kesim bölgeleri.....	46
Şekil 3.10. NOD2 rs2066847 gen bölgesinin <i>ApaI</i> enzimi ile kesim bölgeleri.....	47
Şekil 3.11. TLR4 rs4986791 gen bölgesinin <i>HinfI</i> enzimi ile kesim bölgeleri ..	48
Şekil 3.12. COX-2 rs689466 gen bölgesinin <i>PvuII</i> enzimi ile kesim bölgeleri.....	49
Şekil 3.13. Elisa Aşamaları, A-Örnek, B-Plaka kaplayıcı, C-37 °C'de 90 dk inkübasyon .....	50
Şekil 3.14. BioTek ELx50 mikro-plaka yıkayıcı.....	51

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Kısaltmalar

<b>BPH</b>	: Benign Prostat Hiperplazisi
<b>LPCa</b>	: Lokalize Prostat Kanseri
<b>MPCa</b>	: Metastatik Prostat Kanseri
<b>PSA</b>	: Prostat spesifik antijen
<b>SNP</b>	: Tek nükleotid polimorfizmi
<b>PAMP</b>	: Patojenle ilişkili moleküler modeller
<b>DAMP</b>	: Tehlikeyle ilişkili moleküler modeller
<b>EMT</b>	: Epitelyal mezenkimal geçiş
<b>TAM</b>	: Tümör ilişkili makrofaj
<b>MAPK</b>	: Mitojenle aktive olan proteinaz K
<b>ERK</b>	: Ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz
<b>JNK</b>	: Jun N terminal kinaz
<b>PRR</b>	: Kalıp tanıma reseptörü
<b>TLR</b>	: Toll benzeri reseptör
<b>NLR</b>	: Nod benzeri reseptör
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	: İnterlökin-1 $\beta$ ta
<b>LY96</b>	: Lenfosit antijen 96
<b>HWE</b>	: Hardy-Weinberg Equilibrium
<b>M</b>	: Ortalama
<b>SD</b>	: Standart sapma

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Giriş ve Amaç

Prostat kanseri, özellikle yaşlı erkekleri etkileyen, erkeklerde en sık görülen ikinci kanserdir (Daniyal et al., 2014). Prostat kanseri insidansı neredeyse tüm ülkelerde sürekli artmaktadır, ancak yüksek morbiditesine rağmen etiyojisi tam olarak bilinmemektedir. İlerleyen yaş, ırk ve aile öyküsü bilinen risk faktörleridir (Hsing & Chokkalingam, 2006). Birinci derece erkek akrabalarında (baba, erkek kardeş vb.) prostat kanseri öyküsü olan erkeklerde prostat kanseri riskinin 2-3 kat arttığı rapor edilmiştir, bu da prostat kanserine çoğu zaman aile öyküsü ve genetik yatkınlığın eşlik ettiğini göstermektedir (Stanford & Ostrander, 2001). Prostat kanseri riskinin %42 kadarının, genetik etkiler tarafından açıklanabileceği tahmin edilmektedir. Androjen biyosentez metabolizması, karsinojen metabolizması, DNA onarımı ve kronik inflamasyon yollarındaki çok sayıda genetik varyant araştırılmıştır, ancak elde edilen sonuçlar yetersiz kalmıştır (Hsing & Chokkalingam, 2006).

Hastalık rektal muayene, serum prostat spesifik antijen (PSA) seviyeleri ve ardından biyopsi ile teşhis edilir. Bununla birlikte, PSA'nın serum seviyelerindeki artış kansere özgü değildir ve BPH'li hastalarda da ortaya çıkabilir (Wein & Kavoussi, 2012).

PSA androjen reseptörüne yanıt veren iyi karakterize edilmiş bir gendir. Androjenler ve Androjen Reseptör sinyalleri prostat fonksiyonu, gelişimi ve devamlılığı için gereklidir. Androjen yoksunluğu gelişim sırasında prostatta fonksiyon kaybına neden olur (English, Santen, & Lsaacs, 1987). Ancak, PSA prostat dokusuna özgü değildir ve erkek ve kadınlarda normal periüretal bezler, endometrium, tükürük bezleri ve meme dokusu tarafından da salgılanır (Clements & Mukhtar, 1994; A.-A. A. Elgamal et al., 1996; A. A. Elgamal, Van de Voorde, Van Poppel, Lauweryns, & Baert, 1994; Howarth, Aronson, & Diamandis, 1997). Ayrıca PSA, meme, yumurtalık ve karaciğer karsinomları gibi prostatik olmayan tümörler tarafından da salgılanır (Howarth et al., 1997; Levesque, Hu, Diamandis, & D'Costa, 1995; He Yu et al., 1995). Bu nedenle prostat kanserinde teşhis için serum PSA'nın kullanımı tartışmalı bir konudur ve bu alanda daha spesifik yeni biyobelirteçlerin tanımlanmasına ihtiyaç vardır (Hessvik, Sandvig, & Llorente, 2013).

İnflamasyon, enfeksiyon veya kimyasallara ve partiküllere maruz kalmanın neden olduğu fizyolojik yaralanmaya karşı karmaşık bir tepkidir. Akut inflamasyon, patojenik veya sitotoksik ajanı ortadan kaldırmak için anında verilen yanıtıdır ve daha sonra doku onarımına izin verir. Patojenik veya sitotoksik ajanlar ortadan kaldırılamazsa, kronik inflamasyon ve doku hasarı meydana gelebilir. Kronik inflamasyon, inflamatuvar hücreler, tekrarlayan DNA hasarı, proliferasyon büyüme faktörleri ve mutasyonların sıklığını artıran diğer büyümeyi destekleyen uyarılar bakımından zengin bir mikro ortam sağlar. Bu da, hücrelerin kötü huylu forma aşamalı dönüşümünü kolaylaştırarak kanser riskini artırır (Ozbayer et al., 2015).

Doku mikro ortamında tüm insan malignitelerinin yaklaşık %20'sinde inflamasyon bulunmuştur. Prostat malignitesi için kronik inflamasyon çok daha yaygındır. Ameliyat sonrası prostat kanseri dokusunda tekrarlayan kronik inflamasyon, daha kötü sonuçlarla ilişkilendirilmiştir (Klink et al., 2013). Prostat epitelyumu, enfeksiyöz ajanlar, diyet kanserojenleri ve hormonlar gibi çok sayıda çevresel faktör tarafından zarar görebilir ve bu da pro-karsinojenik inflamatuvar süreçleri tetikler ve hücre dönüşümünü teşvik eder. Prostat periferel bölgesinde proliferatif inflamatuvar atrofi, aynı anda meydana gelen kronik inflamasyon ve karsinojenez anlamına gelir. Bu da, prostatik intraepitelyal neoplazi ve prostat kanserinin olası bir öncüsü olabilir (Elkhwaji, 2013).

Proliferatif inflamatuvar atrofi (PIA), prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) ve prostat kanserinin bir öncüsüdür. Uyarılma olduğunda, inflamatuvar hücreler prostatik atrofi bölgelerine sızar ve hücre hasarına yanıt olarak rejenere atrofik epitel hücreleri içeren PIA'nın gelişimine katkıda bulunabilir. Ayrıca PIA, PIN ve prostat kanseri arasındaki etkileşim ve morfolojik geçişler, kanser gelişimi ve ilerlemesine katkıda bulunabilir (Ou, Lilly, & Jiang, 2018).

Prostatik inflamasyonda hücreler olarak doğrudan üretilen sitokinler rol oynar. Bunun yanı sıra, doğuştan gelen bağışıklık da özel bir aktiviteye sahiptir. Doğuştan gelen bağışıklık sistemini harekete geçirecek iki tür uyarıcı model vardır. Bunlardan birincisi PAMP'lar (patojenle ilişkili moleküler modeller) ve diğeri ise esas olarak hasar görmüş veya ölmekte olan hücrelerden türetilen DAMP'lardır (tehlikeyle ilişkili moleküler modeller). Bu modeller, özel epitelde, bağışıklık hücrelerinde ve diğer dokularda bulunabilen PRR'ler (kalıp tanıma reseptörleri) tarafından tanınır. PRR'ler, **TLR'ler** (Toll benzeri reseptörler), CTL'ler (C-tipi lektinler), RLR'ler (Retinoik asitle

indüklenebilir gen-I benzeri reseptörler), HIN-200, **NLR'ler** (Nükleotid bağlanma ve oligomerizasyon alanı (NOD) benzeri reseptörler) dahil olmak üzere beş aileye ayrılırlar (Ho, 2017). Ayrıca yapılan çalışmalar, inflamatuvar **sitokinler**, **kemokinler**, **siklooksijenazlar** ve prostat kanseri geliştirme riski arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (Haverkamp, Charbonneau, & Ratliff, 2008).

Kanser gibi hastalıkların tedavisinde yeni yaklaşımlar, "kişiselleştirilmiş tıp" modeline doğru ilerlemektedir. Tanı testleri ve hedefe yönelik tedavi hastalıklar için öncelik haline gelmiştir. Tarama ve tedavi yöntemlerindeki modern gelişmelere rağmen, kanser gibi birçok hastalığın prognozu zayıf kalmaktadır. Bu nedenle, modern moleküler biyoloji ve tıp, terapötik ve prognostik öneme sahip yeni genomik belirteçlerin geliştirilmesiyle ilgilenmektedir (Kutikhin & Yuzhalin, 2013).

Bazı belirteçler, herhangi bir kişinin bir veya daha fazla hastalığa yatkınlığını basit bir kan testinin sonuçlarına dayalı olarak belirli bir doğruluk derecesi ile değerlendirebilir. Bu testlerin yaygın olarak uygulanması, popülasyonlardaki risk gruplarını ortaya çıkarabilir ve daha sonra, risk grubu denekleri arasında önleyici tedbirler konusunda çalışmalar yürütülebilir (Kutikhin & Yuzhalin, 2013).

En yaygın ve önemli belirteçlerden biri, tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) olarak adlandırılan genomik belirteç türüdür. SNP; DNA dizisinde tek bir nükleotidin, bir biyolojik türün üyeleri veya bir bireydeki eşleştirilmiş kromozomlar arasında farklılık gösterdiği bir varyasyondur (Kutikhin & Yuzhalin, 2013).

SNP'ler, protein fonksiyonunu değiştiren amino asit değişimlerine neden olabilir, güçlendirici dizilerin yapısını değiştirebilir veya mRNA stabilitesini etkileyebilir. SNP'ler ayrıca, güçlendirici veya represör elemanların etkinliğini bozarak transkripsiyon faktörü bağlama motiflerini ve atasal tip transkriptin down regülasyonuna yol açabilecek translasyon başlatma kodonlarının yapısını değiştirebilir (Kutikhin & Yuzhalin, 2013).

Çalışmamız, prostat kanseri ile inflamatuvar süreçte etkili olan kemokinler (CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4), kalıp tanıma reseptörleri (NOD1, NOD2, TLR4) ve siklooksijenaz (COX-2) genlerine ait 8 SNP ve yine inflamatuvar süreçte görevli TLR4, LY96, IL-1 $\beta$  proteinlerinin serum seviyeleri arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla planlanmıştır. Ayrıca yapılan literatür taramaları sonucunda prostat kanseri açısından çoğunluğu henüz kısıtlı çalışıldığı görülen bu gen ve proteinlerin, toplum

taraması yönünden değerlendirildiğinde ülkemizdeki prostat kanseri gelişiminde genetik yatkınlığın rolünün belirlenmesine yönelik katkı sağlayacağı ve erken teşhise yardımcı olacağı düşünülerek planlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Prostat Kanseri Tanımı

Prostat kanseri, özellikle yaşlı erkekleri etkileyen, erkeklerde en sık görülen ikinci kanserdir: vakaların % 80'inden fazlası 65 yaşından sonra teşhis edilmektedir (Daniyal et al., 2014). Yeni vaka sayısı bakımından dünyadaki en yaygın altıncı kanserdir. Avrupa, Kuzey Amerika ve Afrika'nın bazı bölgelerinde erkeklerde en sık görülen kanserdir ve Amerika Birleşik Devletleri'nde erkekler arasında kanser ölümlerinin ikinci önde gelen nedenidir (Grönberg, 2003; Hsing & Chokkalingam, 2006). Buna rağmen, prostat kanseri olan erkeklerin sadece %10'u hastalıktan ölmektedir. Bu, prostat kanserinin paradoksudur: 70-79 yaş arasındaki erkeklerin otopsi muayenesinde prostat kanseri %39'dur ve bu 80 yaşta %43'e yükselmektedir (Daniyal et al., 2014).

Prostat bezi rektumun önünde, mesane ve penis arasında bulunan üretrayı çevreleyen erkek cinsel bezidir (Seisen, Rouprêt, Faix, & Droupy, 2012). Seminal veziküllere ve bulboüretal bezlere bitişik bulunur ve ceviz şeklinde bir bezdir (C. H. Lee, Akin-Olugbade, & Kirschenbaum, 2011). Prostat bezi, iyonlar, prostaglandinler, enzimler ve prostat spesifik antijen dahil olmak üzere ejakülatta bulunan çeşitli faktörlerin üretiminden sorumludur. Bu prostat sıvısı spermin yaşayabilirliğini artırır ve erkek cinsel işlevi için gereklidir. Prostat, döllenmeden sonraki 9-10 hafta boyunca ilkel endodermden köken alır. Yetişkin prostat gevşek bir stromal ve fibromusküler yapıdan (%70) oluşan geniş periferik bölge, kompakt stromadan oluşan geçiş bölgesi (%5) ve yoğun olarak düzenlenmiş merkezi bölge (%25) olmak üzere üç bölge içerir (Saraç, 2018; Wein & Kavoussi, 2012). Periferik bölge ürogenital sinüsten köken alır. Düzensiz boyut ve şekle sahip kanallardan oluşur. Prostat kanserlerinin çoğu (%70) periferik bölgeden kaynaklanır. Merkezi bölge Wolffian kanalından köken alır ve diğer iki bölgeden daha yoğun organize olmuştur (Sternberg, 1997). Merkezi bölge, periferik bölgeye kıyasla kansere daha az duyarlıdır. Benign prostat hiperplazisi (BPH), fibromusküler stromadan etkilendiği için geçiş bölgesinden ortaya çıkar (C. H. Lee et al., 2011).

Prostat bezi iki ana hücre tipinden oluşur: epitel hücreleri ve stromal hücreler. Epitelyal hücreler de ayrıca farklılaşmamış bazal hücreler; düşük proliferatif kapasiteye sahip salgılamayan hücreler; terminal olarak farklılaşmış bölünmeyen

lüminal salgı hücreleri; salgı hücrelerini, bazal hücreleri ve nöroendokrin hücreleri birleştiren proliferatif ara hücreler olmak üzere dört gruba ayrılır (Saraç, 2018). Prostatik epitel bazal ve lüminal hücre katmanı olmak üzere iki ana hücre katmanından oluşur (Humphrey, 2003). Bazal ve luminal hücrelerin oranı normal prostatta yaklaşık 1/3'dir (Berges et al., 1995; Bonkhoff & Remberger, 1996). Normal prostattaki bazal hücre tabakası, luminal hücreleri bazal membrandan ayırır. Bu katman, prostat kök hücrelerini destekleyen yüksek proliferatif hücreler içerir (Bonkhoff, 1996; Bonkhoff & Remberger, 1996). Luminal hücreler prostat lümeninde bulunurken, bazal hücreler lümeni stromadan ayırır (Humphrey, 2003). Luminal epitel hücreleri, androjen reseptörü (AR), lösin amino peptidaz gibi prostat farklılaşması için gerekli olan çeşitli proteinleri salgılar. Stromal hücreler ise; prostat bezine yapısal destek sağlar ve fibroblastlar, bağ dokusu ve düz kas hücrelerinden oluşur. Prostat bezi hücreleri, özellikle salgı fonksiyonu olanlar, otokrin ve parakrin mekanizmalar aracılığıyla etki gösterirler (Saraç, 2018). Majör hücre tiplerine ek olarak, nöroendokrin epitel hücreleri de periüretal bölgelerdeki ve prostat kanallarındaki normal prostat epitelinde bulunur. Terminal olarak farklılaşmış bu hücreler, nöroendokrin ürünlerinin parakrin sinyali yoluyla komşu hücreleri etkileyebilir (Cohen, Glezerson, Taylor, Grundle, & Naudé, 1993; di Sant'Agnesse & Cockett, 1996).

Prostat kanseri için 2 tip evreleme vardır: Klinik evreleme fizik muayene, laboratuvar testleri, görüntüleme ve biyopsi bulgularına dayanır. Patolojik evreleme ise, klinik evreleme bilgilerini, prostatın cerrahi olarak çıkarılmasından ve mikroskopiden elde edilen bilgilerle birleştirir. Hem klinik hem de patolojik evreleme, 5 element içeren aynı sınıflandırma sistemini kullanır. Bunlar; primer tümör (T) özellikleri, lenf nodu tutulumu (N), metastaz (M) kanıtı, PSA seviyesi ve prostatın glandüler mimarisinin bir açıklaması olan Gleason skorudur (Mydlo, June 27, 2019). Yüksek Gleason skoru ve PSA seviyesi daha agresif bir tümör ve daha kötü prognoz anlamına gelir (N. Chen & Zhou, 2016).

Gleason derecelendirme sistemi, prostat kanseri agresifliğini ölçmek için kullanılır. Gleason skoru biyopside görülen 2 dominant tümör paterninin histolojik derecelerinin toplamına dayanmaktadır ve 1 ile 5 arasındadır. Hastalara 2 gleason derecesi verilir: Birincil sınıf baskın glandüler paterni tanımlar. İkincil sınıf, en baskın ikinci glandüler paterni tanımlar. Toplam Gleason skorları (birinci derece artı ikincil derece) çoğu hastada 6 ile 10 arasındadır. 2 sayısal olarak eşdeğer toplam gleason

skoru, bileşen histolojik paternlerinin sırasına bağlı olarak farklı risk dereceleri sağlayabilir (Örneğin, Gleason 7 [3 + 4], baskın hücresel modeldeki farka bağlı olarak Gleason 7 [4 + 3] 'den daha düşük riskle ilişkilidir (Mydlo, June 27, 2019).

Prostat kanseri risk sınıflandırması Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı ve Amerikan Üroloji Birliği tarafından çok düşük risk, düşük risk, orta risk, yüksek risk, çok yüksek risk olarak belirlenmiştir (Sanda et al., 2018). Ayrıca prostat kanseri organ sınırlı prostat kanseri (Evre I-II), **lokal ilerlemiş prostat kanseri** (Evre III), **metastatik prostat kanseri** (Evre IV) olarak sınıflandırılabilir. Organ sınırlı prostat kanserinin çoğu asemptomatiktir. Lokal ilerlemiş prostat kanserinde idrar semptomları (sıklık, ağrılı ve acılı ürinyasyon vs), mesanenin eksik boşaltılması, idrar tutamama, hematuri (idrarda kan), boşalma şikayetleri, erektil disfonksiyon, perineal rahatsızlık ve sırt ağrısı görülebilir. Metastatik prostat kanserinde ise semptomlar metastaz bölgesine bağlıdır. Metastaz bölgesine bağlı olarak akut nörolojik semptomlar (alt ekstremitte zayıflığı, felç), üriner veya fekal tutamama, kemik ağrısı görülebilir (Mydlo, June 27, 2019).

## 2.2. Epidemiyoloji

Prostat kanseri insidans oranları Dünya çapında oldukça değişkendir. Dünyadaki en yüksek oranlara sahip olan bireyler Afrikalı-Amerikalılar'dır. Bunu Kafkasyalı Amerikalılar takip eder, Afrika kökenli nüfusların bulunduğu Karayipler ve Brezilya'da da oranlar benzerdir. Buna karşılık, Orta Amerika ve Güney Amerika'nın diğer bölgelerinde, oranlar çok daha düşüktür. Prostat kanseri insidansı en düşük olan kıta ise Asya'dır (Curado et al., 2007; Hsing & Devesa, 2001). Ancak son yıllarda batı ülkelerinde olduğundan daha fazla artmıştır. İnsidanstaki artışın bir kısmı, artan batılılaşma ile ilişkilendirilmiştir (Hsing, Tsao, & Devesa, 2000).

Prostat kanseri insidansı etnik popülasyonlar ve ülkeler arasında büyük oranda farklılıklar göstermektedir ve bu hastalığın oranları popülasyonlar arasında 90 kat kadar farklılık gösterebilmektedir. En düşük oranlar genellikle Asya'da, özellikle Tianjin, Çin'deki Çinliler (yılda 1.9/100.000), en yüksek oranlar Kuzey Amerika ve İskandinavya'da, özellikle ABD'deki Afrika kökenli Amerikalılarda (yılda 137/100.000) görülmektedir (Grönberg, 2003). Asya popülasyonlarında prostat kanserine bağlı prevalans ve mortalite giderek artmaktadır (Nath, Singh, Vandan, Priyanka, & Sinha, 2012). Prostat kanseri olan hastaların çoğu 65 yaşın üzerindedir

ve prostat kanseri Asya ülkelerinde yetmiş yaşından sonra iki kat artar. Çevresel kanserojenler, ailede prostat kanseri öyküsü, endojen faktörler ve yaşlanma sürecine bağlı ortaya çıkan oksidatif stres, prostat kanseri oluşumunu etkileyen faktörlerdir (Bhurgri et al., 2009).

Çeşitli ülkeler ve ırklardaki insidans paternleri prostat kanseri patogenezinin çevresel ve genetik faktörler arasındaki etkileşimi içerdiğini göstermektedir (Marså, Johnsen, Bidstrup, Johannesen-Henry, & Friis, 2008). Türkiye'de, 1993 ile 2002 yılları arasında Türkiye'nin en büyük üçüncü şehri olan İzmir'de yapılan ilk kapsamlı epidemiyolojik çalışmanın yayınlanmasına kadar prostat kanseri insidansı konusunda güvenilir bir veri bulunamamıştır. Bütün ülkeyi temsil etmemesine rağmen, çalışmada prostat kanserinin 1993-1997 döneminde 8.9/100.000 insidansla İzmir'de beşinci en yaygın kanser olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada, 1998 ve 2002 yılları arasında İzmir'de prostat kanserinin 13,8/100.000'e yükseldiği, Avrupa'nın çoğunda nispeten daha düşük oranların bulunduğu ve aynı dönemde Asya popülasyonunda ise iki/üç kat daha yüksek oranlar olduğu bildirilmiştir (Eser et al., 2009).

Türkiye'de prostat kanseri insidansını ve vakaların klinik ve patolojik özelliklerini belirlemeyi amaçlayan popülasyona dayalı bir örnekleme, 2008-2009 tarihleri arasında Türkiye'nin 12 bölgesini temsil eden 12 ilde ulusal, çok merkezli ve prospektif bir çalışma yürütülmüştür ve çalışmaya 1450 prostat kanseri tanısı alan birey dahil edilmiştir. Sonuç olarak prostat kanseri insidansı 35/100.000 birey olarak belirlenmiştir (Zorlu, Zorlu, Divrik, Eser, & Yorukoglu, 2014).

Dünya çapındaki insidans oranlarındaki farkın bir kısmı prostat kanseri taramasının kapsamı, özellikle gelişmekte olan ülkelerde PSA testlerinin daha az kullanılması ile ilgilidir. Bununla birlikte, tarama uygulamalarındaki farkların tek başına, yüksek ve düşük riskli popülasyonlar arasında prostat kanseri riskindeki yaklaşık 60 katlık farkı açıklaması pek mümkün değildir (Hsing & Chokkalingam, 2006).

### **2.3. Mortalite**

Prostat kanseri teşhisi konan altı Amerikalı erkekte biri ölür. Bu da prostat kanserini ABD'li erkekler arasında akciğer kanserinden sonra kanser ölümlerinin ikinci önde gelen nedeni haline getirmektedir. Genel olarak, ölüm oranları ülkeler arasında daha az değişiklik gösterse de, dünya çapında ölüm paternleri aynı zamanda

insidansı da yansıtmaktadır. Bununla birlikte, ölüm oranları Batı ülkelerinde hala düşük riskli Asya ülkelerinden daha yüksektir. Dünyanın en yüksek ölüm oranları, Afrika kökenli erkeklerin büyük populasyonlarının bulunduğu Barbados, Bahamalar, Trinidad ve Tobago'nun Karayipli uluslarında görülmüştür (yılda 30,3-47,9/100.000 kişi). Ölüm oranı İskandinav ülkelerinde ve kuzey Avrupa'nın bazı bölgelerinde ABD'den daha yüksektir (yılda 14/100.000 kişiye karşılık 18.7-23.6/100.000) ve en düşük oranlar Güney Kore, Filipinler ve Japonya'daki Asya ülkelerindedir (yılda 1.6-4.4/100.000 kişi) (Hsing & Chokkalingam, 2006).

## **2.4. Etiyoloji**

Prostat kanseri için belirlenmiş risk faktörleri yaş, ırk, pozitif aile öyküsüdür. Hormonlar, obezite, diyet faktörleri, fiziksel aktivite, cinsel aktivite, meslek, vazektomi, sigara içme ve genetik duyarlılık gibi diğer risk faktörleri de prostat kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir, ancak etiyojideki rolleri belirsizliğini korumaktadır. Prostat kanseri riskinin %42'sinin, nadir, yüksek oranda nüfuz eden genlerin, daha yaygın olarak zayıf nüfuz eden genlerin ve birbirleri ile uyum içinde hareket eden genlerin bireysel ve birleşik etkileri de dahil olmak üzere, genetik etkilerden kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Prostat kanseri patogenezi, muhtemelen çevresel ve genetik faktörler arasındaki etkileşimi içerir. Bu karmaşık ilişkileri çözmek için, iyi tasarlanmış büyük disiplinler arası epidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç vardır (Hsing & Chokkalingam, 2006).

Batı ülkelerinde prostat kanseri riski belirgin bir şekilde yüksektir. Bu da diyet ve obezite gibi batılılaşma ile ilişkili faktörlerin prostat kanseri etiyojisi ile pozitif ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, prostat kanserinin Afrika kökenli Amerikalılar ve Karayipli erkekler üzerindeki orantısız etkisi, Afrika kökenli olanlarda kökenle ilişkili faktörlerin de prostat kanseri etiyojisinde rol oynayabileceğini göstermektedir. Risk faktörlerinin çevresel mi, yaşam tarzı mı yoksa genetik mi olduğu bilinmemekle birlikte, bu faktörlerin karmaşık bir etkileşiminin prostat kanseri gelişimi ile ilişkili olması muhtemeldir (Hsing & Chokkalingam, 2006).

## **2.4.1. Demografik risk faktörleri**

### **2.4.1.1. Yaş**

ABD'deki prostat tümörlerinin %80'inden fazlasına 65 yaşın üzerindeki erkeklerde tanı konur ve prostat kanseri insidansı ilerleyen yaşla birlikte üssel olarak artar (Parkin, Pisani, & Ferlay, 1999).

### **2.4.1.2. Irk/etnik çeşitlilik**

Sürekli olarak gözlenen ancak yeterince anlaşılmayan bir risk faktörü, etnik kökendir. Afrikalı-Amerikalılar dünyadaki en yüksek insidans oranlarına sahiptir: bu oran dünyada en düşük oran olan Şangay ve Çin'deki erkeklerin kabaca 60 katıdır (Hsing, Tsao, et al., 2000).

## **2.4.2. Hormonal, davranışsal ve yaşam stili risk faktörleri**

### **2.4.2.1. Hormonlar ve büyüme faktörleri**

Androjenler prostat bezinin gelişiminde ve korunmasında kilit rol oynar; ancak androjenlerin prostat kanseri etiyolojisindeki rolü belirsizdir. Prostat kanseri özellikle hadım erkeklerde yoktur ve laboratuvar çalışmaları testosteron uygulamasının sıçanlarda prostat kanserine neden olduğunu, androjenlerin hücre çoğalmasını arttırdığını ve prostat hücre ölümünü engellediğini göstermektedir (Huggins & Hodges, 1941; Niu et al., 2001; Noble, 1977). Bununla birlikte, androjenlerin rolünü destekleyen epidemiyolojik veriler yetersizdir (C. Chen et al., 2003; Eaton, Reeves, Appleby, & Key, 1999; Hsing, 1996, 2001; Mohr, Feldman, Kalish, Longcope, & McKinlay, 2001; Platz, Leitzmann, et al., 2005; P. Stattin et al., 2004).

Diğer bir steroid hormon olan D vitamini, güneş ışığına maruz kalındığında dermal sentezle elde edilir. D vitamini ve analogları prostat kanseri hücreleri üzerinde güçlü antiproliferatif ve proapoptotik etkilere sahiptir. Ayrıca, D vitamini, in vivo olarak prostat tümör büyümesini inhibe eder (X.-Y. Zhao & Feldman, 2001).

Steroid hormonlara ek olarak, insülin benzeri büyüme faktörleri (IGF'ler) prostat kanserinde rol oynamaktadır. IGF-I ve IGF-II, prostat epitel hücreleri üzerinde mitojenik ve anti-apoptotik etkileri olan hem doku büyüme faktörleri hem de endokrin hormonlar olarak işlev gören polipeptitlerdir. IGF'lere bağlanabilen ve böylece IGF etkilerine aracılık eden IGF reseptörünün aktifleşmesini önleyebilen en az altı tane IGF bağlayıcı protein (IGFBP) vardır. Epidemiyolojik çalışmalarda, IGF'lerin prostat

kanserindeki rolleri değerlendirilmiş ve çalışmaların çoğunluğunda IGF-I ile pozitif bir ilişki ve IGFBP3 ile ters bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Chan et al., 2002; C. Chen et al., 2005; LeRoith & Roberts Jr, 2003; P. r. Stattin et al., 2004; Woodson et al., 2003; Herbert Yu & Rohan, 2000).

#### 2.4.2.2. *Diyet*

Ekolojik çalışmalar, prostat kanseri insidansı ve diyet yağ alımı arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir. Genellikle yağ oranı yüksek bir batı diyeti, hem androjenlerin hem de östrojenlerin üretimini artırarak prostat kanseri riskini arttırırken, Asya ve vejeteryan diyetleri (düşük yağlı, yüksek lifli) bu hormonların dolaşımında düşük seviyelerde olmasını sağlar (Hill, Wynder, Garbaczewski, Garnes, & Walker, 1979).

Yağ alımı, prostat kanseri için en çok çalışılan diyet risk faktörüdür. Epidemiyolojik çalışmaların çoğunda, toplam, doymuş ve/veya hayvansal yağların rolü araştırılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen bulgular, tekli doymamış, hayvansal ve doymuş yağlarla olası bir pozitif ilişki ve omega-3 ile ters bir ilişki olduğunu göstermektedir (Kolonel, 2001; Kolonel, Nomura, & Cooney, 1999). Ayrıca, et tüketimi, özellikle kırmızı et ve işlenmiş et, prostat kanseri riskinin artmasıyla bağlantılı bulunmuştur (Norrish et al., 1999).

Her ne kadar meyve ve sebze tüketimi, birkaç kanser riskinin azalmasıyla ilişkili olsa da prostat kanserindeki rolleri daha az belirgindir. Yürütülen bir çalışmada brokoli, lahanası, karnabahar ve brüksel lahanası gibi lahanalı sebzelerin alımının, muhtemelen izotiyosiyanat içeriklerinden dolayı prostat kanseri riski ile ters ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Kristal & Lampe, 2002). Ayrıca, Çin'de yürütülen bir vaka kontrol çalışmasında, soğan, sarımsak ve frenk soğanı dahil allium sebzelerinin alımının prostat kanseri riskini azalttığı belirtilmiştir (Hsing et al., 2002). Bu koruyucu etki ise, organosülfür bileşiklerinin tümör inhibe edici özelliklerinden kaynaklanabilir.

Süt ürünlerinden veya ek tüketiminden alınan diyet kalsiyum prostat kanseri ile ilişkili bulunmuştur. D vitamini sentezinin düzenlenmesindeki rolü nedeniyle, kalsiyum, D vitamininin prostat kanseri üzerindeki antiproliferatif etkilerini azaltabilir (Chan & Giovannucci, 2001). D vitamini kalsiyum ve fosfor emilimini sağlar. Çalışmalardan elde edilen veriler, yalnızca çok yüksek kalsiyum alımının ( $\geq 2000$  mg/gün) hastalık ile ilişkili olabileceğini göstermektedir (Rodriguez et al., 2003).

Çoğunlukla diyet takviyeleri yoluyla elde edilen bir mineral olan çinkonun kronik fazlalığı, prostat kanseri riski ile pozitif ilişkili olabilir (Leitzmann et al., 2003). Gözlemsel, vaka-kontrol, kohort ve randomize kontrollü klinik çalışmaları da içeren epidemiyolojik kanıtlar selenyumun insanlarda prostat kanseri riskini azaltabileceği hipotezini desteklemektedir (Klein, 2004). Moleküler veriler selenyumun, hücre döngüsünün durmasına neden olarak, apoptozu teşvik ederek ve p53 bağımlı DNA onarım mekanizmalarını modüle ederek tümörlerin klonal genişlemesini önlediğini göstermektedir. Klinik deneysel veriler E vitamini desteğinin, prostat kanseri riskinin azalması ile ilişkili olduğunu da göstermiştir (Pak, Lanteri, Scheuch, & Sawczuk, 2002; Virtamo et al., 2003).

#### **2.4.3. Obezite**

Epidemiyolojik çalışmalarda genel obezite genellikle vücut kitle indeksi (VKİ) ve karın obezitesi bel çevresinin kalça çevresine oranı ile ölçülür. Her ne kadar genel obezite ile ilgili bulgular karışık olsa da, son veriler obezitenin agresif prostat tümörleriyle tutarlı bir şekilde ilişkili olduğunu ve abdominal obezitenin görece zayıf erkeklerde bile artmış prostat kanseri riski ile ilişkili olabileceğini göstermektedir (Hsing, Deng, et al., 2000; Hubbard et al., 2004). Ek olarak, yüksek serum insülin seviyeleri prostat kanseri riskinin artması (Hsing et al., 2001) ve yüksek serum leptin seviyeleri (obezite geninin (Ob) ürünü) daha büyük tümör hacmi ile ilişkili bulunmuştur (Chang et al., 2001).

Her ne kadar obezitenin prostat kanserindeki rolü açık bir şekilde tanımlanmamış olsa da yüksek et ve yağ alımı, hormon metabolizması ve insülin metabolizması dahil olmak üzere birçok varsayılan prostat kanseri risk faktörü ile bağlantılıdır. Ayrıca, obezite prevalansı populasyonlarda prostat kanseri riski ile ilişkilidir. Bu nedenle, obezite batılılaşma ile artmış prostat kanseri riski arasında bir bağlantı sağlayabilir (Hsing & Chokkalingam, 2006).

#### **2.4.4. Fiziksel Aktivite**

Fiziksel aktivite total ve serbest testosteron seviyelerini azaltabilir, obeziteyi azaltabilir ve prostat kanserinden korunmayı sağlayacak bağışıklık fonksiyonunu geliştirebilir (I.-M. Lee, Sesso, Chen, & Paffenbarger Jr, 2001).

#### **2.4.5. Meslek**

Meslek, sosyoekonomik statü ve yaşam tarzı faktörleriyle oldukça ilişkilidir. Prostat kanseri ve meslek ile ilgili çok sayıda çalışma vardır ve bu çalışmalardan elde edilen tutarlı sonuçlardan biri çiftçilerin ve diğer tarım işçilerinin % 7-12 oranında artan risklere sahip olmasıdır (Sharma-Wagner et al., 2000; Van der Gulden, Kolk, & Verbeek, 1995). Tarım ile uğraşan kişilerin tarımda kullanılan kimyasallara (gübreler, çözücüler, böcek ilaçları ve herbisitler) maruziyeti bu riski artıran sebep olabilir (Alavanja et al., 2003). Tarımın yanı sıra, ağır sanayi çalışanları, kauçuk üretimi ve gazete baskı çalışanları yüksek risk altında olabilir (Sharma-Wagner et al., 2000), bu da çalışma ortamlarında ortak bazı kimyasal maddelere veya diğer faktörlere maruz kalmanın prostat kanseri riskini artırabileceğini düşündürmektedir.

#### **2.4.6. Kronik inflamasyon**

Prostat kanserinin prostatın kronik inflamasyonu (kronik prostatit) ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (Platz & De Marzo, 2004). Hem radikal prostatektomiden hem de iyi huylu prostat hiperplazisi için cerrahi tedaviden elde edilen prostat biyopsi örneklerinde inflamasyon sıklıkla görülür (Di Silverio et al., 2003; Nickel et al., 2001); ancak, epidemiyolojik bulgular karışıktır.

Patolojik ve moleküler araştırmalardan elde edilen sonuçlar, prostat kanserinin en erken evrelerinin, genellikle kronik inflamasyonla ilişkili lezyonlarda gelişebileceğini göstermektedir (De Marzo, Marchi, Epstein, & Nelson, 1999; DeMarzo, Nelson, Isaacs, & Epstein, 2003). İnflamasyon, anjiyogenezi uyararak, hücre proliferasyonunu artırarak ve nitrik oksit gibi reaktif oksijen türleri ile DNA'ya zarar vererek tümörleşmeye yol açabilir.

Prostat kanserinde kronik inflamasyonun rolüne yönelik başka çalışmalarda, aspirin ve diğer steroidal olmayan anti-inflamatuar ilaçların (NSAID'ler) kullanılmasının prostat kanseri riskinin azalması ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Nelson & Harris, 2000). Ayrıca iki büyük prospektif çalışmada, daha fazla balık alımının, toplam prostat kanseri ve metastatik prostat kanseri riskinin düşük olması ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Augustsson et al., 2003; Terry, Lichtenstein, Feychting, Ahlbom, & Wolk, 2001). Yağlı balıklarda bol miktarda bulunan omega-3 yağ asitleri, araziyonik asitin bilinen antagonistleridir ve pro-inflamatuar sitokinlerin üretimini baskılamaktadır (Calder, 2002). Ayrıca, anti-inflamatuar ajanların, özellikle ibuprofen

veya aspirin gibi NSAID'lerin kullanımı, epidemiyolojik çalışmalarda düşük prostat kanseri riskiyle de ilişkili bulunmuştur (Leitzmann et al., 2002; Norrish, Jackson, & McRae, 1998; Platz, Rohrmann, et al., 2005) ve bu çalışmaların meta-analizinde, aspirin kullanımı prostat kanseri riskinde %15'lik bir azalma ile ilişkilendirilmiştir (Mahmud, Franco, & Aprikian, 2004). Bu veriler birlikte ele alındığında, kronik inflamasyonun prostat kanseri riskini artırabileceğini göstermektedir.

#### **2.4.7. Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklar**

Cinsel yolla bulaşan hastalıkların (CYBH), prostat kanseri ile ilişkilendirildiği çalışmalar mevcuttur. Populasyon tabanlı bir çalışmada, özellikle sifilis ve tekrarlayan gonore enfeksiyonları gibi cinsel yolla bulaşan hastalıkların prostat kanseri riskini 2-3 kat artırdığı gösterilmiştir (Hayes et al., 2000). Diğer çalışmalarda, insan papilloma virüsü -16, -18 ve -33 serolojisinin prostat kanseri riskini arttırdığı (Adami, Kuper, Andersson, Bergström, & Dillner, 2003; Rosenblatt, Carter, Iwasaki, Galloway, & Stanford, 2003), insan immün yetmezlik virüsü (HIV) ile enfekte olmuş bir populasyon çalışmasında da sürekli HIV enfeksiyonunun artmış prostat kanseri riski ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Crum, Spencer, & Amling, 2004).

Yapılan bir meta-analiz çalışmasında, daha fazla cinsel partnerin, muhtemelen cinsel yolla bulaşan enfeksiyonları artırması nedeniyle artmış prostat kanseri riski ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (Crum et al., 2004). Mekanizmalar net olmasa da, cinsel yolla bulaşan bakteriyel veya viral ajanlar, prostatın kronik inflamasyonu ile potansiyel olarak prostat kanserine yol açmaktadır.

#### **2.4.8. Benign prostat hiperplazisi**

Benign prostat hiperplazisi (BPH) ile prostat kanseri arasındaki ilişki iyi kurulmamıştır. BPH şu anda prostat kanserinin öncüsü sayılmamaktadır, çünkü prostat kanseri çoğunlukla prostatın dış, periferik bölgesinde meydana gelir ve BPH iç geçiş ve periüretal bölgelerde daha yaygındır. Bununla birlikte, her iki koşul da yaşlı erkeklerde yaygın olduğundan ve prostat içinde bir arada bulunabildiklerinden, risk profillerini paylaşıyor gibi görünmektedir ve bu durum prostat kanseri etiolojisinde BPH'nin bağımsız rolünü açıklamayı zorlaştırmaktadır. Ayrıca, epidemiyolojik çalışmaların çoğunda, BPH prevalansı yaşlı erkeklerde çok yaygın olduğu için kontrol popülasyonlarında BPH varlığını tamamen dışlamak zor olmuştur. Bu sınırlamalar

nedeniyle, BPH'nin prostat kanseri için bir risk faktörü olarak epidemiyolojik kanıtları zayıf ve tutarsız kalmaktadır (Guess, 2001).

#### **2.4.9. Genetik Faktörler**

##### **2.4.9.1. Aile öyküsü**

Birinci derece erkek akrabalarında (baba, erkek kardeş, oğul) prostat kanseri öyküsü olan erkeklerde prostat kanseri riskinin 2-3 kat arttığı gösterilmiştir (Stanford & Ostrander, 2001). İkizlerle yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, prostat kanseri riskinin %42'sinin genetik faktörlerle açıklanabileceğini göstermektedir (Lichtenstein et al., 2000). Dünyada prostat kanserinde pozitif aile öyküsü olan vakalar tüm vakaların %15'ini oluşturmaktadır. Prostat kanserinde yer alan genetik faktörler arasında nadir, yüksek oranda nüfuz eden genler ve daha yaygın olarak zayıf nüfuz eden genlerin ve birbirleri ile uyum içinde hareket eden genlerin bireysel ve birleşik etkileri bulunur.

##### **2.4.10. Prostat kanseri: yüksek riskli populasyonlar**

Siyah ırk ve ailesinde prostat kanseri olan erkekler prostat kanseri için yüksek riskli populasyonlardır. BRCA1 ve BRCA2 genleri, meme, yumurtalık ve prostat kanseri dahil olmak üzere artan kanser riskiyle ilişkili germline mutasyonlardır (Pezaro, Woo, & Davis, 2014).

##### **2.4.11. Diğer faktörler**

Sigara içmek, alkol kullanımı, diyabet ve karaciğer sirozu, cinsel frekans (sıklık), vazektomi gibi diğer risk faktörleri araştırılmıştır, ancak prostat kanserindeki rolleri mevcut literatürdeki verilere dayanarak zayıf veya belirsizdir (Dennis & Hayes, 2001; Giovannucci, 2001; Hickey, Do, & Green, 2001; Hsing & Chokkalingam, 2006).

## **2.5. Polimorfizm**

Genetik polimorfizmler toplumda bulunma frekansı yüksek, bir gen veya DNA dizisindeki değişikliklerdir. DNA dizisindeki bu değişiklikleri mutasyondan ayıran özellik, en az 100 kişiden 1'inde bulunmasıdır. Genetik polimorfizmlerin en yaygın türü tek baz çifti varyasyonu içeren tek nükleotid polimorfizmleridir (Shenfield, 2004). Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) genomda tek bir nükleotidin (A, T, C veya G) bir başkasıyla yer değiştirmesiyle oluşan DNA dizi değişimleridir (Vignal, Milan, SanCristobal, & Eggen, 2002).

SNP'ler, genlerin promotörler, ekzonlar, intronlar ve ayrıca 5' ve 3' UTR'ler gibi farklı bölgelerinde bulunur. Bu nedenle, gen ekspresyonundaki değişiklikler ve bunların kansere yatkınlık üzerindeki etkileri, SNP'lerin konumuna bağlı olarak değişir. Promotör bölgesi SNP'leri, promotör aktivitesini, transkripsiyon faktörü bağlanmasını, DNA metilasyonunu ve histon modifikasyonlarını değiştirerek gen ekspresyonunu etkiler. Ekzonal SNP'ler, gen transkripsiyonunu ve translasyonunu baskılayarak kansere yatkınlığı etkiler. İntron bölgelerindeki SNP'ler, transkriptlerin birleştirme varyantlarını oluşturur ve uzun kodlamayan RNA'ların (lncRNA'lar) bağlanmasını ve işlevini destekler veya bozar. 5'-UTR'deki SNP'ler translasyonu etkilerken, 3'-UTR'deki SNP'ler mikro RNA (miRNA) bağlanmasını etkiler. Gerçek genlerden uzakta bulunan bölgelerdeki SNP'ler, uzun menzilli cis etkileriyle gen transkripsiyonunu azaltır veya artırır (Deng, Zhou, Fan, & Yuan, 2017).

Bazı gen polimorfizmleri bir hastalık riskini artırırken bazıları azaltabilmekte (koruyucu alel), bazı polimorfik aleller ise yalnızca çevresel bir faktörün etkisi altındayken riski etkileyebilmektedir (Ekmekçi, Konaç, & Önen, 2008).

## **2.6. İnflamasyon ve Kanser**

İnflamasyon, doğuştan gelen ve uyarlanabilir bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu ve eylemini içeren bir süreçtir ve vücut kendini korumaya çalıştığında ortaya çıkar. Patojenler, tahriş edici maddeler veya hasarlı hücreler gibi zararlı uyarıların kaldırılması ve iyileşme sürecinin başlatılmasıyla ilgili bir süreçtir. Başlangıçta yalnızca patojenlere karşı konak savunmasındaki temel rolü ile vurgulanan inflamasyon, doku onarımı, rejenerasyonu ve yeniden modelleme için eşit derecede önemlidir (Greten & Grivennikov, 2019).

Zararlı veya rahatsız edici bir faktör vücudumuzun bir bölümünü etkilediğinde, onu çıkarmaya çalışmak için biyolojik bir tepki vardır. İnflamasyonun belirti ve semptomları, özellikle akut inflamasyonda, vücudun kendi kendini iyileştirmeye çalıştığını gösterir. Kronik inflamasyon, zararlı uyarıların ortadan kaldırmak için bazı başarısız girişimleri gösterebilirken, bağışıklık sistemi genellikle koruma için tasarlanmıştır (Ho, 2017).

İnflamasyonun kanserle ilişkisi 1867'de Rudolf Virchow tarafından, lökositlerin kanserli dokuda bulunduğu tespit edilmesiyle belirlenmiştir ve kronik inflamasyonu kanser gelişimine yatkın olan durumlardan biri olarak adlandırmıştır

(Schmidt & Weber, 2006). Virchow, karsinogenin inflamatuvar dokuda "lenfositik infiltrasyon" ile ilişkili olduğunu ve "enfeksiyonun" daha fazla yayılmasının (kanser hücrelerinin yayılması) tümörün damarlanmasına bağlı olduğunu öne sürmüştür (Piotrowski, Kulcenty, & Suchorska, 2020).

Pro-tümörjenik inflamasyon, anti-tümör bağışıklığı bloke ederek, tümör mikro çevresini (TME) tümöre uyumlu duruma doğru şekillendirerek, epitel ve kanser hücrelerine doğrudan tümörü teşvik edici sinyaller göndererek kanseri ilerletir (Greten & Grivennikov, 2019).

İnflamasyon ile karsinogeniz arasında doğrudan nedensel bir bağlantı olduğu bilinmektedir. Şu anda, kansere bağlı ölümlerin %20'sinin inflamatuvar reaksiyonlarla bağlantılı olduğu tahmin edilmektedir. Kanserle yakalanma riski, kronik inflamatuvar hastalıklar (örneğin, hepatit ve karaciğer kanseri), kronik enfeksiyonlar, asbest ve sigara dumanı gibi çevresel maruziyetlerin neden olduğu inflamasyonlarla artmaktadır. Ayrıca, steroid olmayan anti-inflamatuvar ilaçların kullanımı, çeşitli tümörleri geliştirme riskinin daha düşük olması ve mortalitenin azalması ile bağlantılıdır ve bu da neoplastik transformasyonda inflamasyonun rolünü vurgulamaktadır (Piotrowski et al., 2020). 2011 yılında, tümörü teşvik edici inflamasyon, Hanahan ve Weinberg tarafından kanserin diğer ayırt edici özellikleri arasında etkinleştirici bir özellik olarak adlandırılmıştır (Hanahan & Weinberg, 2011). İnflamasyon temel bir pro-tümörjenik faktör olmasına rağmen, inflamatuvar kökenleri göstermeyen kanserlerin mikro ortamında da sıklıkla mevcuttur (Piotrowski et al., 2020).

Kansere bağlı inflamasyon iki yolak olarak incelenebilir: inflamasyona ve neoplastik dönüşüme neden olan genetik olaylarla bağlantılı intrinsik yolak ve karsinogenizi teşvik eden inflamatuvar koşulları tanımlayan ekstrinsik yolak (Piotrowski et al., 2020).

Karsinogeniz, üç aşamaya ayrılabilen karmaşık bir süreçtir: başlangıç, çoğalma ve ilerleme. Başlangıç aşaması, tek bir hücrede hücresel büyümeyi artıran birincil mutasyonun oluşmasıyla mümkündür. Çoğalma aşamasında hücreler klonal bölünmeye uğrar. Bununla birlikte, genetik ve epigenetik değişiklikler de mevcuttur. İlerleme aşaması, çoğalan hücrelerin kötü huylu türevlere dönüştürülmesini içerir (Piotrowski et al., 2020).

İnflamasyonun karsinogenezi indüklediği mekanizmalardan biri, reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve aktif nitrojen türlerinin (RNS) üretilmesidir. Aktifleştirilmiş nötrofiller ve makrofajlar gibi inflamatuvar hücreler, oksidan oluşturan enzimlerin aktivasyonu yoluyla ROS ve RNS üretebilirler. Bu oksidanlar nükleik asitlere, proteinlere ve lipitlere zarar verebilir ve ilk etapta inflamasyona neden olan bakteri ve parazitleri öldürmek için üretilir. Ancak, DNA hasarının indüksiyonu, mutajenez ve daha fazla neoplastik transformasyona neden olabilirler (Piotrowski et al., 2020).

## 2.7. Prostat Kanseri, BPH ve İnflamasyon

BPH ve PCa prostatın farklı bölgelerinde oluşur. BPH, geçiş bölgesinden (TZ) ve prostat bezinin merkezi bölgesinden gelişirken, PCa periferik bölgeden (PZ) gelişir. Vakaların sadece yaklaşık %20'sinde koşullar aynı bölgede bir arada bulunur. BPH ve PCa, erken başlayan ve yavaş ilerleyen kronik hastalıklar olarak kabul edilir. BPH, kademeli olarak klinik bir yapıya dönüşen basit bir mikronodüler hiperplazi olarak başlar ve zamanla makroskopik bir nodüler genişlemeye dönüşür. Benzer şekilde, PCa erken ve geç pre-kanseröz histolojik değişiklikler yoluyla gelişir. Ayrıca, BPH ve PCa arasında açık bir moleküler ve genetik ilişki olmamasına ve iki farklı patogenetik yolak göstermelerine rağmen, epidemiyolojik çalışmalar, insidans ve prevalanslarının yaşla birlikte artması nedeniyle her iki durumun da hormona bağlı olduğunu ve ortak bir paydayı temsil edebilecek **inflamasyon** ile ilişkili olduğunu göstermektedir (De Nunzio et al., 2011).

Doku mikro ortamında tüm insan malignitelerinin yaklaşık %20'sinde inflamasyon bulunmuştur. Prostat malignitesi için kronik inflamasyon çok daha yaygındır. Ameliyat sonrası prostat kanseri dokusunda tekrarlayan kronik inflamasyon, daha kötü sonuçlarla ilişkilendirilmiştir (Klink et al., 2013). Prostat epitelyumu, enfeksiyöz ajanlar, diyet kanserojenleri ve hormonlar gibi çok sayıda çevresel faktör tarafından zarar görebilir ve bu da prokarsinojenik inflamatuvar süreçleri tetikler ve hücre dönüşümünü teşvik eder. Prostat periferik bölgesinde proliferatif inflamatuvar atrofi (PIA), aynı anda meydana gelen kronik inflamasyon ve karsinogeneze anlamına gelir. Bu da, prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) ve prostat kanserinin olası bir öncüsü olabilir (Elkhwaji, 2013).

PIA, PIN ve prostat kanserinin bir öncüsüdür. Uyarılma olduğunda, inflamatuvar hücreler prostatik atrofi bölgelerine sızar ve hücre hasarına yanıt olarak rejenerer

atrofik epitel hücreleri içeren PIA'nın gelişimine katkıda bulunabilir. Ayrıca PIA, PIN ve prostat kanseri arasındaki etkileşim ve morfolojik geçişler, kanser gelişimi ve ilerlemesine katkıda bulunabilir (Ou et al., 2018).

Akut prostat inflamasyonunun erken aşamalarında enfeksiyon, nötrofillerde ve makrofajlarda önemli bir artışa ve ardından sonraki aşamalarda lenfosit infiltrasyonuna neden olur (Boehm, Colopy, Jerde, Loftus, & Bushman, 2012). Akut aşamadan sonra, inflamatuvar prostattan süzülen lökositlerin çoğu, kronik olarak aktive edilmiş T lenfositler ve makrofajlardır (Steiner et al., 2003; Theyer et al., 1992). Yerleşik epitel ve stromal hücreler, **TLR-4**, TLR-5, TLR-7 ve TLR-9 dahil olmak üzere birkaç Toll benzeri reseptörü ifade eder ve ayrıca inflamasyon sırasında IL-1, IL-6 ve IL-15 üretir. Bu aktiviteler kronik inflamasyon durumuna katkıda bulunur (Ho, 2017).

Prostatik inflamasyonda hücrel olarak doğrudan üretilen sitokinlerin yanı sıra, doğuştan gelen bağışıklık da özel bir aktiviteye sahiptir. Doğuştan gelen bağışıklık sistemini harekete geçirecek iki tür uyaran modeli vardır. Bunlardan birincisi PAMP'lar (patojenle ilişkili moleküler modeller) ve diğeri ise esas olarak hasar görmüş veya ölmekte olan hücrelerden türetilen DAMP'lardır (tehlikeyle ilişkili moleküler modeller). Bu modeller, özel epitelde, bağışıklık hücrelerinde ve diğ dokularda bulunabilen PRR'ler (kalıp tanıma reseptörleri) tarafından tanınır (Ho, 2017).

Çalışmalar, inflamatuvar **sitokinler**, **kemokinler** ve prostat kanseri geliştirme riski arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, inflamasyon ve prostat kanseri arasında doğrudan bir ilişki henüz kesin olarak gösterilmemiştir. Bu da büyük ölçüde prostata özgü inflamatuvar yanıt hakkındaki sınırlı bilgiden kaynaklanmaktadır. Bağışıklık hücrelerinin prostat dokusuna sızma mekanizmalarını ve bunların prostat epitel ve stromal hücreler üzerindeki etkilerini belirlemek için çalışmalar yapılması gerekmektedir. İnflamatuvar bir ortamın prostat kanserinin gelişmesinde ve ilerlemesinde rol oynadığı hipotezini destekleyen verilerin çoğu, hücre hatlarıyla oluşturulmuştur. Bu veriler, prostat kanserinde immün hücre aracılı proinflamatuvar sitokinlerin, kemokinlerin ve matris metaloproteinazların (MMP'ler) üretimine işaret etmektedir (Haverkamp et al., 2008).

### 2.7.1. *Kemokinler ve kemokin reseptörleri*

Kemokinler, kendi reseptörlerine bağlanarak etkilerini artıran, lökositleri trafiğe sokan ve konumlandıran bir grup kemoatraktan düzenleyici protein ailesidir (8-12 kDa ağırlığında), böylece bağışıklık tepkilerinin ve inflamasyonun düzenlenmesinde kritik rol oynarlar. Kemokinler hücrelerin hareketini içinde buldukları duruma göre düzenler. Kemokinler, doğuştan gelen bağışıklık hücrelerini ilk savunma hattı olarak görevlendirir. Bu hücreler de diğer aracılardan (lipitler, mineraller, peptitler ve diğer kemoatraktanlar) inflamasyon bölgesindeki etkilerini bütünleştirir. Bu etkiler daha sonra epitelial-mezenkimal geçiş (EMT), motilite, invazyon ve metastazda kritik rol oynar. İnflamasyonla ilişkili kanser, kanser hücreleri ve lökosit alt tipleri tarafından üretilen kemokinlerden oluşan bir mikro çevre ile kendini gösterir. Kemokinlerin etkisi, kanserin bileşimine/evrelerine bağlı olarak zararlı veya avantajlı, homeostatik veya inflamatuvar olabilir. Ana işlevleri, bağışıklık hücrelerinin inflamasyon bölgesine koordineli hareketini sağlamaktır (Rani, Dasgupta, & Murphy, 2019).

Kemokin ailesi, korunmuş bir amino terminal sistein rezidüsü motifine bağlı olarak dört gruba ayrılır: **CXC**, **CC**, **CX3C** ve **XC**. İsimlendirmede sisteinler C ile ve sistein olmayan rezidüleri X ile gösterilir. Kemokinler, G proteinine bağlı reseptörlerle etkileşime girer. CXC kemokin reseptörleri de, N terminalinde bir Glu-Leu-Arg motifinin varlığına/yokluğuna bağlı olarak iki alt tipe ayrılır. Bunlar **CCR**, **CXCR** ailesi üyelerinden ve diğer reseptörlerden (**XCR1**, **CCRL1**, 2 ve **CX3CR1**) oluşur (Rani et al., 2019; Vindrieux, Escobar, & Lazennec, 2009).

Prostat kanseri hücrelerinin kemik iliği gibi ektopik organlarda büyümeleri için hayatta kalma, farklılaşma, kemotaktik ve büyüme faktörlerini ifade ettiği bulunmuştur. Tümör hücreleri, kemokinlerin başlıca üreticisidir. Ayrıca lokal kronik inflamasyon ve tümörigenez arasındaki ilişkide, konakçıdan üretilen kemokinlerin de önemli bir role sahip olabileceği düşünülmektedir. Prostat tümörlerinde sadece kanser hücrelerinde değil, aynı zamanda stromal hücreler (kansere ilişkili fibroblastlar), endotelial hücreler veya infiltrasyon hücrelerini (makrofajlar, lenfositler, NK hücreleri, mast hücreleri) de içeren çeşitli hücreler tarafından kemokinler üretilir ve kemokin reseptörleri ekspres edilir (Taverna et al., 2015).

Tümörler, yalnızca neoplastik hücrelerden oluşmaz, aynı zamanda, tümör biyolojisini çeşitli şekillerde etkileyen önemli sayıda konakçı kaynaklı hücre içerir.

Malign ve konakçı kökenli hücreler arasında ortaya çıkan karmaşık etkileşimde, kimyasal bir gradiyenti algılamak ve hücrel membran üzerinde eksprese edilen spesifik reseptörleri aktive ederek hücreleri gradiyent yönünde mobilize etmek için görevlendirilen bir kemotaktik sitokin ailesi olan kemokinler önemli rol oynar. Başlangıçta, özellikle kemokinler ve inflamatuvar CC kemokinler inflamasyon alanında lökosit toplanmasını düzenleyen moleküller olarak tanımlanmışlar, son zamanlarda aynı zamanda Tümör ilişkili makrofajlar (TAM) gibi tümöre nüfuz eden lökositlerin görevlendirilmesini de destekledikleri gösterilmiştir (Taverna et al., 2015). Kemokinlerin inflamatuvar süreçte lökosit trafiği regülasyonu, lökosit aktivasyonunun immünomodülasyonu, fibroz, anjiyogenez, hematopoez ve aşırı duyarlılığın oluşturulması ve sürdürülmesi gibi rollere sahip oldukları bilinmektedir. Kemokinler, hem normal embriyonik gelişimde hem de kanser hücrelerinin göçünde ve metastazında önemli rol oynarlar (Zhu et al., 2014).

Kemokinler ayrıca, hücre proliferasyonu ve anjiyogenezin düzenlenmesi gibi, tümör biyolojisi için önemli süreçlerde rol oynarlar. Bu nedenle kemokinler, bağışıklıktan kaçınma, tümör büyümesi ve tümör yayılması gibi biyolojik süreçleri destekleyerek, ya sızan lökositlerin işlevsel profilini şekillendirerek ya da stromal ve neoplastik hücreleri aktive ederek çeşitli şekillerde tümör biyolojisini destekleyebilirler (Taverna et al., 2015).

Kemokin reseptörleri de, kinazlar gibi kriptik büyüme faktörlerinin kemokine bağımlı aktivasyonunun kompleks mekanizmalarıyla aşağı akış efektörlerini etkinleştirebilir veya EGFR veya ErbB ailesi üyeleri gibi diğer reseptörleri aktive edebilirler. Kemokin reseptör kohortlarındaki değişiklikler, tümörü teşvik eden sinyalleri etkinleştirmek için gerekli olabilir. Normalden benign prostat hiperplazisine, benign prostat hiperplazisinden prostat kanserine geçişler sırasında ve daha sonra tümör ilerlemesi ve metastazının her adımında, bir dizi kemokin ve kemokin reseptörü ekspresyonlarında varyasyonlar gözlenir (Taverna et al., 2015).

Prostat kanserinde kemokinler üzerine yapılan çalışmalar çoğunlukla CXCL8, **CXCL12** ve CCL2 kemokinlerine odaklanmıştır. Ancak CCL2, CCL4, CCL5, CCL9, **CCL11**, CCL18, CXCL1, CXCL2, CXCL5, CXCL6 ve CXCL13 gibi stromal hücreler, endotel hücreler, insan kemik iliği endotel hücreleri, farklılaşmış osteoblastlar ve infiltre edici lökositler tarafından üretildiği görülen diğer kemokinlerle ilgili çalışmalar da yapılmaktadır. Kanser hücreleri tarafından endojen olarak eksprese

edilen kemokin reseptörlerinin en çok çalışılanları CXCR1, CXCR2, **CXCR4** ve CXCR7'dir, aynı zamanda CCR1, CCR2, **CCR3**, CCR5, CCR7, CCR9, CXCR3, CXCR6, CXCR5, CX3CR1 gibi diğer reseptörler de prostat kanseri progresyonu ve metastazının çok aşamalı sürecine katkı sağlarlar (Taverna et al., 2015).

### **2.7.2. Kalıp tanıma reseptörleri**

Bağışıklık sistemi, makrofajlar, nötrofiller, NK hücreleri ve dendritik hücreler gibi doğuştan gelen bağışıklık hücreleri tarafından ifade edilen farklı reseptörler aracılığıyla çok çeşitli mikroorganizmaları ve moleküllerini tanıyabilir. Patojenik mikroorganizmaların tanınması, uygun bir edinilmiş bağışıklık tepkisinin oluşturulması için kritiktir. Bu işlem, patojen veya hasara bağlı moleküler modellerin (PAMP ve DAMP), konakçı hücre yüzeyinde veya sitozolik kısımda bulunan spesifik kalıp tanıma reseptörleri (PRR'ler) ile etkileşimi yoluyla gerçekleşir (Moreira & Zamboni, 2012).

PRR'ler, **TLR'ler** (Toll benzeri reseptörler), CTL'ler (C-tipi lektinler), RLR'ler (Retinoik asitle indüklenebilir gen-I benzeri reseptörler), HIN-200, **NLR'ler** (Nükleotid bağlanma ve oligomerizasyon alanı (NOD) benzeri reseptörler) dahil olmak üzere beş aileye ayrılırlar (Ho, 2017).

#### **2.7.2.1. Nod benzeri reseptörler**

Nod-Benzeri Reseptörler (NLR) PRR ailesinin üyesidir ve bir nükleotid bağlama ve oligomerizasyon alanı (NOD) içerirler. NLR'lerin insanlarda tanımlanan 22, farelerde ise 30'dan fazla üyesi bulunur. Yapısal olarak, NLR'ler, bir N terminal Kaspaz güçlendirme domaini (CARD), merkezi olarak yerleştirilmiş bir nükleotid bağlanma oligomerizasyon domaini (NBD veya NACHT) ve bir C-terminal lösin bakımından zengin tekrar domaini (LRR) içeren çok alanlı proteinlerdir. NLR'ler evrimsel ve yapısal olarak dört alt aileye ayrılır: NLRA, NLRB, NLRP ve NLRC (Moreira & Zamboni, 2012; Schroder & Tschopp, 2010). NLR'ler, N-terminal efektör alanlarında değişiklik gösterir (PYD, CARD, BIR gibi). Bu bölgede bulunan alanlara bağlı olarak, NLR'ler iki alt grupta sınıflandırılır: NLRC'ler (CARD) ve NLRP'ler (PYRIN) (Moreira & Zamboni, 2012).

En çok incelenen NLR'ler, NLRC ve NLRP alt gruplarına aittir. NLRP'ler, proteinin amino-terminal bölgesinde bir Pyrin alanı içeren reseptörlerden oluşur; bu reseptörler genellikle kaspaz-1'in aktivasyonunda ve inflamazomun birleşmesinde rol

oyunlar. NLRC alt grubu, aminoterminal bölgede bir "CARD" alanı içeren reseptörlerden oluşur ve patojen tanıma ve bağışıklık yanıtlarının aktivasyonunda önemli roller oynayan **NOD1** ve **NOD2** gibi üyeleri içerir. NOD1 ve NOD2, sırasıyla CARD4 ve CARD15 genleri tarafından kodlanır ve gram-pozitif ve gram-negatif bakterilerin peptidoglikan kısımlarının tanınmasında rol oynarlar. Bununla birlikte, yapılan çalışmalar, NOD1 ve NOD2'nin bakteriyel olmayan enfeksiyonlarda da önemli işlevlere sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca, NOD1, birçok hücre tipinde yaygın olarak eksprese edilirken, NOD2 makrofajlarda, dendritik hücrelerde, keratinositlerde, epitelyal bağırsak hücrelerinde, akciğer epitel hücrelerinde, oral epitel hücrelerinde ve osteoblastlarda eksprese edilmektedir (Moreira & Zamboni, 2012).

NLR üyeleri NOD1 ve NOD2, bir amino terminal CARD alanı içerdikleri ve iki ortak alanı (NBD ve LRR) paylaştıkları için NLRC alt grubuna aittir. NOD1, tek bir CARD alanı içerirken, NOD2'de iki CARD alanı bulunur. Karboksi terminal LRR alanının, protein-protein etkileşimlerine aracılık ettiği ve düzenleyici alan olarak işlev gördüğü düşünülmektedir. NOD1 ve NOD2, enfeksiyona dirençle bağlantılı olan ve TLR'lerde bulunan bir motif olan birden fazla LRR domaini içerir (Moreira & Zamboni, 2012).

NOD1 ve NOD2, homotipik CARD-CARD etkileşimleri yoluyla nükleer faktör- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) ve mitojenle aktive olan proteinaz K'nın (MAPK) aktivasyonuna neden olurlar. Bu aktivasyonu CARD içeren kinaz RIPK2 adaptör proteini aracılığıyla sağlar. NOD1 ve NOD2 ayrıca p38, ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) ve Jun N terminal kinaz (JNK) mitojenle aktive olan protein kinazları aktive edebilir. NOD1 ve NOD2 proteinleri ayrıca kaspaz-1 aktivasyonuna ve IL-18 ve IL-1 $\beta$  üretimine yol açan NLRP3 inflamazomuyla etkileşime girebilirler (Moreira & Zamboni, 2012). NLR'ler bazı durumlarda apoptozla ilişkili benek-benzeri protein (ASC) gibi adaptör molekülleri birleştirebilirler. Bu yapılar, pro-IL-1 $\beta$ 'yi IL-1 $\beta$ 'ye ve pro-IL-18'i IL-18'e ayıran sistein proteaz kaspaz-1'i aktive eder. Bu olgun sitokinler proinflamatuardır ve bu nedenle klasik inflamatuvar yanıtı tetiklerler (Ho, 2017).

#### **2.7.2.2. Toll benzeri reseptörler**

Toll benzeri reseptörler (TLR), doğuştan gelen bağışıklıkta anahtar rol oynayan bir transmembran reseptör ailesidir. TLR'ler, bakteriler, virüsler, mantarlar ve parazitlerden köken alan PAMP'leri tanıyarak patojenlerin istilasını önler. Ayrıca,

kanser gibi hastalıklarda ve farklı bozukluklarda endojen DAMP'leri tanıyabilir. Farklı TLR'ler, ligand tanıma için özgüllük sergiler (S. Zhao, Zhang, Zhang, Wang, & Zhang, 2014).

**TLR4** ise en çok incelenen TLR'lerden biridir. TLR4, bağışıklık hücreleri ve epitel hücrelerinde ifade edilen bir zar proteinidir ve lipopolisakkaritleri (LPS) tanır. Aktivasyonun ardından, TLR'ler sinyalleri dört adaptör proteinden biri veya daha fazlası aracılığıyla iletir: Bu proteinler miyeloid farklılaşma faktörü 88 (MyD88), TICAM1, TIRAP ve TICAM2'dir. Tüm TLR'ler (TLR3 hariç) ve IL-1 reseptör ailesi üyeleri MyD88 aracılığıyla sinyal verir. TLR4, hem MyD88 hem de TICAM1 yolları üzerinden sinyal verir. TLR'lerin uyarılması, NF-κB, MAPK'lar, JNK'lar, p38 ve ERK'lerin yanı sıra interferon düzenleyici faktör (IRF3, IRF5 ve IRF7) sinyal yollarının aktivasyonuna yol açar ve bu da inflamatuvar sitokinlerin üretimiyle sonuçlanır. TLR4'ün eksojen ve endojen ligandlar tarafından aktivasyonu, NF-κB ve MAPK yolağı aktivasyonu ve inflamatuvar gen transkripsiyonuna yol açan miyeloid farklılaşma faktörü 88 (MyD88) bağımlı sinyalleme başlatabilir. Özetle; TLR4'ün LPS tarafından uyarılması, NF-κB sinyal yolunu aktive eder, bu da MyD88-bağımlı yolağı aracılığıyla IL-6 ve IL-1β gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimine yol açar. TLR4 sadece eksojen enfeksiyonlar ve yara iyileşmesinde kritik bir rol oynamakla kalmaz, aynı zamanda anormal bir şekilde aktive edildiğinde tümörlerin başlamasını ve ilerlemesini de destekler (W. Wang & Wang, 2018; S. Zhao et al., 2014).

Tümör hücreleri ve tipik doğal immün hücrelerde tümör mikro ortamında TLR aktivasyonu karmaşık bir senaryoya yol açar. Çoğu durumda, prostat kanserinde TLR sinyalini aktive etmek için spesifik bir patojen bulmak zordur. Bir endojen TLR ligandı olan, hasarlı veya nekrotik dokulardan salınan DAMP'ler bu aşamada çok önemli bir rol oynayabilir (S. Zhao et al., 2014).

Kanserde endojen TLR ligandı HMGB1, TLR4'ü aktive edebilir. Bazı TLR'lerin aktivasyonu prostat kanserinin tümör büyümesini engelleyebilirken, diğer TLR'lerin aktivasyonu prostat kanserinin tümör büyümesinde farklı bir rol oynayabilir. DC'ler, makrofajlar ve B hücreleri gibi antijen sunan hücrelerdeki TLR'lerin aktivasyonu, ya Th1 ve T sitotoksik yanıtlara ya da Th2 ve Treg yanıtlarına yol açabilir (S. Zhao et al., 2014).

### 2.7.3. Siklooksijenazlar

Siklooksijenazlar (COX), araşidonik asitten prostaglandin üretiminden sorumludur. Prostaglandinler, inflamatuvar yanıtta yaygın olarak bulunurlar ve sentezleri inflamatuvar bölgede önemli ölçüde artar. Ayrıca, inflamasyona bağlı karsinogeneze katkıda bulunurlar (Piotrowski et al., 2020).

COX'un iki izoformu tanımlanmıştır: yapısal olarak ifade edilen COX-1 ve indüklenebilir COX-2. **COX-2**, inflamatuvar makrofajlar ve monositler tarafından sentezlenir. Bununla birlikte, fibroblastlarda, epitel hücrelerinde ve endotel hücrelerinde de üretilebilir. Prostaglandinler doğrudan ROS ve RNS ile bağlantılıdır, nitrik oksit ve süperoksit arasındaki reaksiyonun oldukça reaktif bir ürünü olan peroksinitrit de COX-2 üretimini uyarabilir (Piotrowski et al., 2020).

Tümör hücrelerinde TLR4'ün işlevinin kısmen COX-2 aracılığıyla olabileceği belirlenmiştir. NF-κB'nin aktivasyonunun COX-2 gibi inflamasyonla ilişkili genlerin ekspresyon seviyelerini up-regüle edebileceği belirlenmiştir. Ayrıca COX-2'nin aşırı ekspresyonunun, hücre proliferasyonunu ve neovaskülarizasyonu teşvik ederek ve hücre apoptozunu ve bağışıklık fonksiyonunu inhibe ederek kanser riskini artırabileceği ortaya koyulmuştur. Bu nedenle, COX-2 çeşitli tümörlerde önemli bir prognostik gösterge olabilir (W. Wang & Wang, 2018).

### 2.7.4. Lenfosit antijen 96

Lenfosit antijen 96 (LY96), Miyeloid farklılaşma proteini 2 (MD2) olarak da adlandırılır. MD2, TLR4 ile TLR4/MD2 heterodimerleri oluşturarak gram-negatif bakterilerin bir zar bileşeni olan LPS'yi tanır ve sinyal molekülü olarak işlev görür. Yani TLR4 ve LPS arasında doğrudan bir etkileşim yoktur, burada MD2, TLR4-MD2 kompleksinde LPS bağlayıcı bileşen olarak işlev görür (Kawai & Akira, 2009).

LPS, ilk olarak LPS bağlayıcı protein ve CD14'e, ardından TLR4/MD2 kompleksine bağlanarak TLR4 hücre sinyal yolunu tetikler. TLR4/MD2 kompleksinin aktivasyonu, aşağı yönde sinyal iletimini mümkün kılan konformasyonel değişikliklere neden olur (Ou et al., 2018).

TLR4, patojenlere karşı doğal immün tepkisini indüklemek için bir dizi kinaz yolağını ve transkripsiyon faktörü aktivasyonunu indükler. TLR4 sinyalinde, MyD88 bağımlı yolak ve MyD88 bağımsız yolak olmak üzere iki yolak tanımlanmıştır. MyD88'e bağlı yollaklarda sinyal kaskadlarının uyarılması, proinflamatuvar sitokinler,

kemokinler, eikozanoidler ve reaktif oksijen türleri (ROS) gibi doğal bağışıklık faktörlerinin oluşumuna neden olur. Myd88 aracılı TLR4 sinyal yolu, CD14'ün bakteriyel LPS'yi tanınması, TLR4 ve MD2 ile bir kompleks oluşturarak sinyali başlatmasıyla aktive olur. Myd88, TLR4'e bağlanır. Böylelikle NF-κB ve düzenleyici genler aktive edilir. NF-κB sinyalizasyonu sonucunda çekirdekte, IL-1β ve COX-2 gibi genlerin transkripsiyonu gerçekleşir (Degirmenci et al., 2019).

### 2.7.5. *İnterlökin-1β*

İnflamasyon sırasında, sitokinler bağışıklık ve stromal hücreler tarafından hücreden hücreye sinyalleşme ile sentezlenir. Sitokinler inflamatuvar yanıtı düzenler; bununla birlikte kronik inflamasyon sırasında bazı sitokinler karsinogeneze katkıda bulunabilir. Kronik olarak inflamatuvar dokuda, tümör hücreleri inflamatuvar sitokinlere maruz kalır ve bazı tümör hücreleri bu sinyallere tepki verme yeteneği kazanarak onlara bir büyüme avantajı sağlar. Sitokinler kronik inflamasyonda, aynı zamanda tümör oluşumunda ve kanserin ilerlemesinde önemli rol oynar (Piotrowski et al., 2020).

İnterlökin-1 (IL-1), proinflamatuvar bir sitokindir ve bazı tümörlerin büyümesini ve ilerlemesini desteklediği gösterilmiştir. **IL-1β**, hem B16 melanom hücrelerinin hem de prostat kanseri hücrelerinin metastazı için gereklidir. Bu veriler, IL-1β'in tümör hücreleri üzerindeki etkisinin in vivo olarak muhtemelen tümör hücresinin tipine bağlı olduğunu ve hem tümör hücrelerinin kendi iç özelliklerine hem de dokuya özgü faktörlere bağlı olabileceğini göstermektedir (Haverkamp et al., 2008).

Prostat tümör hücreleri, NF-κB aktivasyonu ile sonuçlanabilen pro-inflamatuvar sitokinler salgılayabilir. Tümör hücrelerinin böylesine önemli bir inflamatuvar yolağı modüle etme yeteneği, tümörlerin bir inflamatuvar ortamdan fayda görebileceğini gösterir (Haverkamp et al., 2008).

Tümör içinde IL-1β, bağışıklık hücreleri, fibroblastlar veya kanser hücreleri gibi çeşitli hücre türleri tarafından üretilir ve salgılanır. Bununla birlikte, IL-1β üretim mekanizmaları en çok bağışıklık hücrelerinde, özellikle makrofajlar gibi miyeloid hücrelerde incelenmiştir. IL-1β üretimi iki sinyal gerektirir: uyarılma ve ayrılma (Rébé & Ghiringhelli, 2020).

Uyarılma aşaması, IL-1β geninin transkripsiyonuna karşılık gelir ve esas olarak TLR'ler, yani lipopolisakkaritlerin (LPS) aktivasyonu ile ve ayrıca tümör nekroz

faktörü (TNF) $\alpha$  ile indüklenir. Transkripsiyon/translasyondan sonra pro-IL-1 $\beta$  inaktif, 31kDa protein olarak üretilir ve aktif hale gelmesi için 17kDa IL-1 $\beta$ 'e bölünmesi gerekir (R  b   & Ghiringhelli, 2020).

Pro-IL-1 $\beta$ 'nin aktifleştirilmesi için proteazlar tarafından bölünmesi gerekir. Kaspazlar tamamen aktif IL-1 $\beta$  sağlayabilen ana proteazlardır. Kaspaz-8, IL-1 $\beta$ 'nin ayrılma aşamasında rol oynar. Bununla birlikte, IL-1 $\beta$ 'nin olgunlaşmasında rol oynayan en önemli enzim, çok sayıda kaynak aracılığıyla aktive edildiği bildirilen kaspaz-1'dir. Kaspaz-1 aktivasyonu ise, inflamazom adı verilen çok proteinli komplekslerin katkısıyla gerçekleşir. Bu hücre içi komplekslerin tümü, pro-inflamatuar kaspazların toplanmasına ve aktivasyonuna izin veren bir reseptör ve bir adaptörden oluşur. IL-1 $\beta$ , COX-2 ekspresyonunu artırabilir, böylece kanserin ilerlemesine katkıda bulunabilir (R  b   & Ghiringhelli, 2020).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Kullanılan kimyasallar ve kitler

- EDTA 'lı mor kapaklı tüp (4 ml)
- Biyokimya tüpü (4 ml)
- DNA İzolasyon Kiti
- PCR için Master Mix
- CCL11 rs16969415 varyantı için forward ve reverse primer
- CCR3 rs4987053 varyantı için forward ve reverse primer
- CXCL12 rs1801157 varyantı için forward ve reverse primer
- CXCR4 rs2228014 varyantı için forward ve reverse primer
- NOD1 rs5743336 varyantı için forward ve reverse primer
- NOD2 rs2066847 varyantı için forward ve reverse primer
- TLR4 rs4986791 varyantı için forward ve reverse primer
- COX2 rs689466 varyantı için forward ve reverse primer
- Restriksiyon Enzimleri (Taq<sup>α</sup>I, NlaIII, MspI, BccI, AvaI, ApaI, Hinf I, PvuII)
- Nükleaz free su
- 1X TBE
- Agaroz
- Red safe jel boyası
- Marker (50bp)
- Elisa kitleri (TLR4, LY-96, IL-1 $\beta$ )
- Steril mikropipet ucu (1  $\mu$ l)
- Steril mikropipet ucu (10  $\mu$ l)

- Steril mikropipet ucu (100 µl)
- Steril mikropipet ucu (1000 µl)
- Steril laboratuvar eldiveni
- Vida kapaklı, contalı polipropilen yapıda mikrosantrifüj tüpü (2 ml, DNAaz ve RNAaz free)
- Pastör pipeti

### ***3.1.2. Kullanılan cihaz ve gereçler***

- PCR cihazı (Roche)
- Santrifüj (Heraeus, Megafuge 1.0R)
- Mikro santrifüj (FugeOne PC-100)
- Soğutmalı santrifüj (Scanspeed 1580 R)
- UV translüminatör (Syngene)
- Otomatik pipet seti (Bio Hit)
- Mikro Ölçekli Spektrofometre (ATCGene ASP-3700)
- Buz makinesi (Hoshizaki FM- 120 DE)
- Elektroforez cihazı (Hooper HE-PLUS)
- Elisa mikro plaka yıkayıcı (Biotek ELx50)
- Elisa okuyucu (Thermo Scientific, MULTISKAN GO)
- Buzdolabı (Bosch)
- Su banyosu (GFL)
- Hassas terazi (Presica 125 A)
- Vorteks (IKA- MS2 minishaker)

- Derin dondurucu (-20) (Bosch)

- Mikro dalga fırın (Arçelik MD 55 I)

### **3.1.3. Araştırma gruplarının belirlenmesi**

Bu çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu **17.12.2020** tarihli **2020/33** sayılı etik kurul kararı ile onay alındıktan sonra gerçekleştirilmiştir.

Çalışmaya Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesi Üroloji polikliniğine Mart 2019 ve Ocak 2021 tarihleri arasında başvuran ve çalışmaya katılmayı kabul eden 28 benign prostat hiperplazili (BPH), 35 lokalize prostat kanserli (LPCa) ve 27 metastatik prostat kanserli hasta (MPCa) olmak üzere toplamda 90 hasta dahil edilmiştir. Kontrol grubu için ise Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesi Üroloji polikliniğine çeşitli şikayetlerle başvuran ve klinik muayene sonrası herhangi bir malignansi tespit edilmeyen, başka bir kronik hastalığı bulunmayan ve çalışmaya katılmayı kabul eden 90 sağlıklı birey dahil edilmiştir.

Epidemiyolojik çalışmaların çoğunda, BPH prevalansı yaşlı erkeklerde çok yaygın olduğu için kontrol popülasyonlarında BPH varlığını tamamen dışlamak zor olmuştur (Guess, 2001). Çalışmamızın hasta grupları içerisinde BPH'lı bir grupta bulunduğundan kontrol bireylerde BPH varlığını dışlayabilmek için yaş aralığı alt sınırı düşürülmüştür ve yaş aralığı 25-90 yaş olarak belirlenmiştir. Çalışmanın içeriğiyle ilgili olarak tüm hasta ve kontrol bireylere detaylı bilgi verilerek hastalardan imzalı onam formu alınmış, bilgilendirilmiş ayrıntılı onam formlarını imzalamayan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

#### Dışlama Kriterleri:

- Hasta bireylerde 40 yaşından küçük, 90 yaşından büyük bireyler
- Kontrol bireylerde 25 yaşından küçük 90 yaşından büyük bireyler
- Kontrol bireylerde herhangi bir malignensiye veya kronik bir hastalığa sahip olanlar

Çalışmamıza dahil edilen bireylerin demografik ve klinik özellikleri hakkındaki bilgiler kendilerinden ve dosyalarından elde edilmiştir. Hastalardan elde edilen demografik ve klinik özellikler şu şekildedir;

#### Demografik Özellikler:

- Cinsiyet; BPH ve Prostat kanseri yalnızca erkeklerde tespit edilen hastalıklar olduğundan çalışmamıza dahil edilen tüm hasta ve kontrol bireyler erkektir.
- Yaş; Hasta bireylerde 40-90 yaş aralığında bireyler seçilirken, kontrol bireylerde BPH varlığını dışlamak için yaş aralığı 25-90 yaş olarak belirlenmiştir. Kontrol grubumuza mümkün olduğunca düşük yaş grubundaki bireyler dahil edilmiştir.

#### Klinik Özellikler:

- PSA değerleri; Çalışmamızda BPH'lı, LPCa'lı ve MPCa'lı hastalara ait PSA verileri alınmış ve değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda hastalardan 4'er ml venöz kan örneği polimorfizmlerin belirlenmesi için EDTA'lı tüplere, serum protein seviyelerinin belirlenmesi için jelli biyokimya tüplerine alınmıştır. Alınan kan serum kısmının ayrılması için 4 °C'de 2500 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir.

### **Çalışma aşamalarımız şu şekildedir:**

- Hasta grupları (BPH, LPCa, MPCa) ve sağlıklı kontrollerin periferal arterlerinden EDTA'lı ve biyokimya tüplerine 4'er ml kan alınması
- Kan örneklerinin santrifügasyon işlemi ile serumlarının ayrılması
- EDTA'lı tüpe alınan kan örneklerinden PureLink™ Genomic DNA İzolasyon Kiti kullanılarak genomik DNA izolasyonu
- DNA'nın miktar ve kalitesinin Nano drop (Mikro Ölçekli Spektrofometre) ile ölçümü
- İzole edilen DNA'dan CCL11 rs16969415, CCR3 rs4987053, CXCL12 rs1801157, CXCR4 rs2228014, NOD1 rs5743336, NOD2 rs2066847, TLR4 rs4986791, COX2 rs689466 gen bölgelerinin PCR ile çoğaltılması
- CCL11 rs16969415, CCR3 rs4987053, CXCL12 rs1801157, CXCR4 rs2228014, NOD1 rs5743336, NOD2 rs2066847, TLR4 rs4986791, COX2 rs689466 gen bölgelerinin uygun restriksiyon enzimleri (Taq<sup>o</sup>I, NlaIII, MspI, BccI, AvaI, ApaI, Hinf I, PvuII) ile kesimi
- Elde edilen kesim ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde yürütülmesi ve UV translüminatörde görüntülenmesi
- Jel görüntülerinden faydalanılarak genotiplerin belirlenmesi
- Kan örneklerinin santrifügasyon işlemi ile ayrılan serum kısımlarından Elisa kitleri kullanılarak IL-1 $\beta$ , LY-96 ve TLR4 proteinlerinin serum seviyelerinin ölçülmesi
- Verilerin değerlendirilmesi ve istatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesi

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen Corporation, Carlsbad, California, USA) kullanıldı.

#### *İzolasyon Prensipleri*

PureLink™ Genomic DNA Mini Kit, spin ile kolon bazlı nükleik asit izolasyonu tekniğini kullanmaktadır. Bu teknik katı bir faz kullanarak nükleik asitlerin hızlı bir şekilde saflaştırılmasını sağlamaktadır. Nükleik asitlerin bağlandığı bu katı faz, genellikle silika bazlı bir zardan meydana gelmektedir. PureLink™ Genomic DNA Mini Kit, hücreleri lizise uğratan ve hücre proteinlerini denatüre eden kaotropik tuzların varlığında silika bazlı zara DNA'yı seçici olarak bağlamaktadır. Guanidin hidroklorid tuzu kaotropik tuz olarak kit çözeltisinde kullanılmıştır. Kit kullanma klavuzu, izolasyon protokolü sonunda isteğe göre 25-200 µl aralığında elüsyon solüsyonu kullanılabileceğini bildirmiştir.

#### *İzolasyon Protokolü*

- EDTA'lı tüpe alınan taze kandan steril 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne 200 µl alındı. Eğer kan +4°C'de birkaç gün bekletilmiş ise yavaşça alt üst edilerek karıştırıldıktan sonra tam kan halinde mikrosantrifüj tüpüne alındı.
- Mikrosantrifüj tüpüne alınan her örnek üzerine kit solüsyonları içerisinde bulunan proteinaz K'dan 20 µl eklendi.
- Ardından her tüpe 20 µl RNAaz A eklendi. Karışım iyice vortekslendi. Daha sonra karışım oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi.
- Karışım üzerine kit solüsyonları içerisinde bulunan PureLink™ Genomic Lysis/Binding Buffer'dan 200 µl eklenerek homojen bir solüsyon elde etmek için mikrosantrifüj tüpü iyice vortekslendi.
- Proteinlerin parçalanmasını teşvik etmek için karışım su banyosunda 55°C'de 10 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyondan sonra lizat üzerine 200 µl %98,9'luk etil alkol eklendi. Homojen bir solüsyon elde etmek için mikrosantrifüj tüpü 5 saniye iyice vortekslendi.

- PureLink™ Genomic Lysis/Binding Buffer ve etil alkolle birlikte yaklaşık olarak 640 µl hacime ulaşan lizat, mikrosantrifüj tüpünden alınarak PureLink™ Spin kolon içerisine aktarıldı.
- İçerisinde lizat bulunan PureLink™ Spin kolon, oda sıcaklığında 1 dakika 10.000 g'de santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında içerisinde atık solüsyon bulunan toplama tüpü atıldı. PureLink™ Spin kolon, kit ambalajı içerisinde bulunan yeni bir toplama tüpü içerisine yerleştirildi.
- Yeni toplama tüpüne yerleştirilmiş PureLink™ Spin kolon içerisine kit solüsyonlarıyla birlikte verilen ve protokol öncesinde etil alkol ile hazırlanmış 500 µl Wash Buffer 1 eklendi.
- PureLink™ Spin kolon oda sıcaklığında 1 dakika 10.000 g'de santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında içerisinde solüsyon biriken toplama tüpü atılarak PureLink™ Spin kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
- PureLink™ Spin kolon içerisine kit solüsyonlarıyla birlikte verilen ve protokol öncesinde etil alkol ile hazırlanmış 500 µl Wash Buffer 2 eklendi.
- PureLink™ Spin kolon oda sıcaklığında maksimum hızda 3 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında içerisinde solüsyon biriken toplama tüpü atıldı. PureLink™ Spin kolon, 2 ml'lik, kapağı koparılmış, steril mikrosantrifüj tüpü içerisine yerleştirilerek kapağı açıldı ve oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi.
- PureLink™ Spin kolon içerisine 50 µl PureLink™ Genomic Elution Buffer eklendi. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi. (Elüsyon buffer kullanımdan önce 55 °C su banyosunda bekletildi.)
- PureLink™ Spin kolon oda sıcaklığında maksimum hızda 1 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında, PureLink™ Spin kolon altında bulunan mikrosantrifüj tüpü saflaştırılmış genomik DNA içeren yaklaşık olarak 50 µl çözeltiye sahipti.

- Üst kısımdaki PureLink™ Spin kolon, DNA içeren mikrosantrifüj tüpünden çıkarılarak steril yeni bir mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi.
- PureLink™ Spin kolon içerisine 50 µl PureLink™ Genomic Elution Buffer eklendi. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi.
- Yeni santrifüj tüpüne yerleşik PureLink™ Spin kolon, oda sıcaklığında maksimum hızda 1,5 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında PureLink™ Spin kolon altında bulunan mikrosantrifüj tüpü saflaştırılmış genomik DNA içeren yaklaşık olarak 50 µl çözeltiliye sahipti.
- Saflaştırılmış genomik DNA içeren birinci ve ikinci santrifüj tüpleri birleştirilerek genotip analiz zamanına kadar -20 °C’de saklandı.

İlk 50 µl’lik elüsyon muamelesi, silikaya bağlanmış DNA’nın yaklaşık olarak %80’ni elde etmekte, ikinci 50 µl’lik elüsyon muamelesi ise geri kalan kısmı yakalamayı sağlamaktadır.

### **3.2.2. DNA miktarının belirlenmesi**

DNA izolasyon kiti ile elde edilen DNA örneklerinin miktarı ve saflık derecesi Thermo Scientific NanoDrop™ 1000 (Thermo Fisher Scientific Inc., Wilmington, DE, ABD) spektrofotometresi ile ölçüldü.

Genotip analizlerin yapılabilmesi için, fazla miktarda PCR amplikonuna ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun için kalıp genomik DNA’nın yüksek saflıkta olması gerekmektedir. Bu nedenle, Thermo Scientific NanoDrop™ 1000 spektrofotometrenin 260 ve 280 nm dalga boylarında ölçtüğü absorbans değerlerinin oranının ( $A_{260}/A_{280}$ ) 1,7 ile 2,0 arasında olması şartı arandı. Bu aralıktaki oran değerleri en düşük protein kontaminasyonunu göstermektedir. Ölçümden sonra, DNA stok konsantrasyonu 50 ng/µL olacak şekilde örnekler elüsyon solüsyonu ile sulandırıldı.

### **3.2.3. PCR-RFLP yöntemi ile polimorfizmlerin belirlenmesi**

#### **3.2.3.1. Kullanılan Çözeltiler**

##### **Master miks**

PCR karışımı için içinde Taq DNA polimeraz, dNTP karışımı ve uygun tampon çözeltiler bulunan PCR master miks kullanıldı. Master miks içeriği şu şekildedir; 20 mM Tris-HCl (ph 8,9), 1.8 mM MgCl<sub>2</sub>, 22 mM NH<sub>4</sub>Cl, 22 mM KCl, 0,2 mM dNTPs

(dATP, dCTP, dGTP, dNTP, dTTP), %5'lik gliserol, %0,06 IGEPAL CA-630, %0,05 Tween 20, Xylene Cyanol FF, Tartrazine, 25 ünit/ml One Taq DNA polimeraz.

### **Primerler**

Liyofilize olan primerler nükleaz-free su ile çözündürüldü. Hazırlanan bu primer çözeltisi stok çözelti olarak kullanıldı. Daha sonra bu stok çözeltiden hazırlanacak derişime göre belirli bir miktarda alınarak üzeri su ile tamamlandı. Çalışmamızda, CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4, NOD1, NOD2, TLR4 ve COX-2 genlerine ait toplam 8 polimorfizmin analizi amaçlandı. Bu gen bölgelerinin amplifikasyonu için dizayn edilen ve üretici firmadan temin edilen primer çiftleri Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

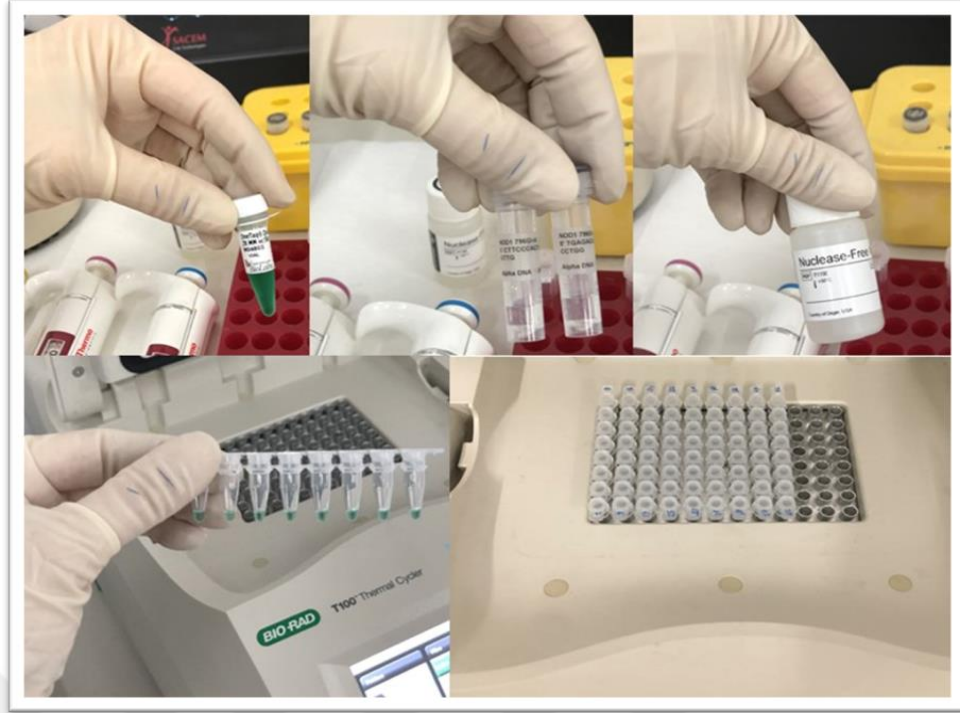
**Tablo 3.1.** PCR için dizayn edilen forward ve reverse primer çiftleri.

Gen	SNP	Forward (5'-3') Primer Dizisi	Reverse (5'-3') Primer Dizisi
CCL11	rs16969415	GACCACCATGTGAACACAGG	GCTAGTAGGAGGGACTTGGT
CCR3	rs4987053	CTTGGTACCACATCCTACCA	TGAGAGGAGCTTACACATGC
CXCL12	rs1801157	GGGCAAAGCCTAGTGAAG	GCAGAACGTGGAGGATGT
CXCR4	rs2228014	TGACGGACAAGTACAGGC	CAAAGATGAAGTCGGGAAT
NOD1	rs5743336	TGAGACCATCTTCATCCTGG	CTTCCCACTGAGCAGGTTG
NOD2	rs2066847	GGCAGAAGCCCTCCTGCAGGGCC	CCTCAAAATTCTGCCATTCC
TLR4	rs4986791	GGTTGCTGTCTCAAAGTGATTTTGGGAG AA	GGAAATCCAGATGTTCTAGTTGTTC TAAGCC
COX-2	rs689466	CCCTGA GCA CTA CCC ATG AT	GCCCTT CAT AGG AGA TAC TGG

### **3.2.3.2. İzole edilen DNA örneklerinin PCR ile amplifikasyonu**

DNA amplifikasyonu için PCR karışımı her bir kuyucukta DNA miktarı ile birlikte toplam 25 µl olacak şekilde hazırlandı. PCR karışımında yer alan reaktifler ve miktarları aşağıda gösterilmiştir.

PCR Karışımı	Miktarı (µl)
One-Taq Quick-Load	12,5 µl
2X master miks (NEB®)	
Forward primer	0,5 µl
Reverse primer	0,5 µl
PCR-Grade su (Invitrogen)	10,5 µl
DNA	1 µl
<b>Toplam</b>	<b>25 µl</b>



Şekil 3.1. PCR karışımının hazırlanması

### 3.2.3.3. Gen bölgeleri için kullanılan amplifikasyon şartları

Polimeraz zincir reaksiyonunda çift zincirli DNA, tek zincirli DNA haline gelir, kopyalanarak çoğaltılır ve tekrar bağlanır. Bu teknik temelde üç işlem döngüsünün birçok tekrarından oluşur. Bu işlemler;

- Denatürasyon: Çift sarmal DNA'nın yüksek sıcaklıkta çözülerek tek sarmal haline gelmesi,
- Primer eşleşmesi: Reverse ve forward primerlerin hedef DNA'ya bağlanması,
- Primer uzaması:  $Mg^{+2}$  iyonlarının varlığında, Taq DNA polimeraz katalizörlüğüyle primerlere nükleotid eklenmesi (serbest dNTP) ve DNA zincirinin uzaması aşamalarıdır.

Çalışmamızda kullanılan One-Taq Quick-Load 2X master miks (NEB®) için PCR şartları Tablo 3.2'de gösterilmiştir. Reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra her gen bölgesi için belirlenen bağlanma sıcaklıkları kullanılarak aşağıda verilen şartlarda amplifikasyon gerçekleştirilmiştir.



**Tablo 3.2.** One-Taq Quick-Load 2X master miks PCR Şartları.

Reaksiyon Adımı	Sıcaklık	Zaman
Başlangıç Denatürasyon	94 °C	30 saniye
30 döngü	94 °C	30 saniye
	45-68 °C	1 dakika
	68 °C	1 dakika
Final Uzama	68 °C	5 dakika
Bekleme	4 °C	∞

**Şekil 3.2.** Bio-Rad T100 Thermal cycler

Primer eşleşmesi aşamasında, primerlerin hedef DNA'daki belirli bölgelerle eşleşmesi için yaklaşık 45-68 °C aralığında bir sıcaklık gereklidir. Bu sıcaklık bağlanma (annealing) sıcaklığı olarak adlandırılır ve her primer için farklıdır. Çalışmamızda incelenen gen bölgeleri ve varyantların her biri için gradiyent çalışması yapılarak kullanılan primerlere uygun bağlanma sıcaklıkları belirlenmiştir. Gradyent çalışmasında her gen bölgesi için belirlenen sıcaklık aralıkları ve derişimler kullanılarak amplifikasyon yapılmıştır. Amplifikasyon sonucunda agaroz jele amplifikasyon ürünü yüklenerek jel elektroforezinde yürütülmüş ve görüntülenmiştir, en parlak bantın gözleendiği ve non-spesifik bant açısından en temiz olan sıcaklık bağlanma sıcaklığı olarak seçilmiştir (Tablo 3.3). Primer bağlanma sıcaklıkları ve primerlere ait uygun derişimler belirlendikten sonra ilgili genlerle ilgili tüm PCR çalışmaları bu şartlarda gerçekleştirilmiştir.

**Tablo 3.3.** Primer bağlanma sıcaklıkları ve derişimleri.

Gen	SNP	Bağlanma sıcaklığı	Primer derişimi
CCL11	rs16969415	55.5 °C	10 pm
CCR3	rs4987053	54.8 °C	10 pm
CXCL12	rs1801157	56.5 °C	20 pm
CXCR4	rs2228014	53 °C	10 pm
NOD1	rs5743336	56.8 °C	10 pm
NOD2	rs2066847	55.1 °C	5 pm
TLR4	rs4986791	63 °C	10 pm
COX-2	rs689466	54 °C	5 pm

#### **3.2.3.4. Agaroz jel elektroforezi**

PCR sonrası oluşan ürünlerin incelenmesi için %3'lük agaroz jel hazırlandı ve örnekler agaroz jel elektroforezi yöntemi ile jel üzerinde yürütülerek görüntülendi.

#### **Agaroz Jel Elektroforezi Çözeltileri**

##### **10X Tris borat EDTA (TBE) buffer**

Ticari olarak satın alınan 10X TBE'den 100 ml alındı ve distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Manyetik karıştırıcıda karıştırıldı.

##### **%3'lük agaroz jelin hazırlanması**

- Üç gr agaroz (İnvitrogen) tartılıp bir beher içerisinde hazırlanmış olan 1X TBE buffer (Multicell) ile 100 ml'ye tamamlandı.
- Mikrodalga fırında kaynatıldı. Yaklaşık 60 dereceye kadar soğutulduktan sonra üzerine 5 µl Red safe koyulup karıştırıldı.
- Elektroforez başlamadan önce tank ve taraklar temizlendi. Tarak ve jel küveti tanka yerleştirildi.
- Hazırlanan jel küvete döküldü. Jel donduktan sonra çıkarıldı ve 1XTBE Buffer ile doldurulan elektroforez tankına yerleştirildi.



Şekil 3.3. Agaroz jelin hazırlanması

- 14  $\mu$ l PCR/kesim ürünü alınıp jeldeki kuyucuklara yüklendi. Her jelin bir kuyucuğuna DNA bantlarının büyüklüklerini belirleyebilmek için referans görevi gören marker yüklendi.
- Yükleme işlemi bittikten sonra elektrodlar yerleştirilerek 100 voltta 45 dakika yürütüldü.



Şekil 3.4. Hoefer HE-PLUS jel elektroforezi

- Elektroforez tamamlandıktan sonra jel, CCD kamera altında incelenerek görüntülendi.

### 3.2.3.5. Restriksiyon enzimleri ile kesim

PCR ile istenilen gen bölgeleri amplifiye edildikten sonra her gen bölgesi ve varyantı için uygun restriksiyon enzimi kullanılarak kesim işlemi yapılmıştır. Her gen bölgesine ait restriksiyon enzimi miktarı kullanılan enzimin markasına ve protokolüne uygun olarak hesaplanarak belirlenmiştir.

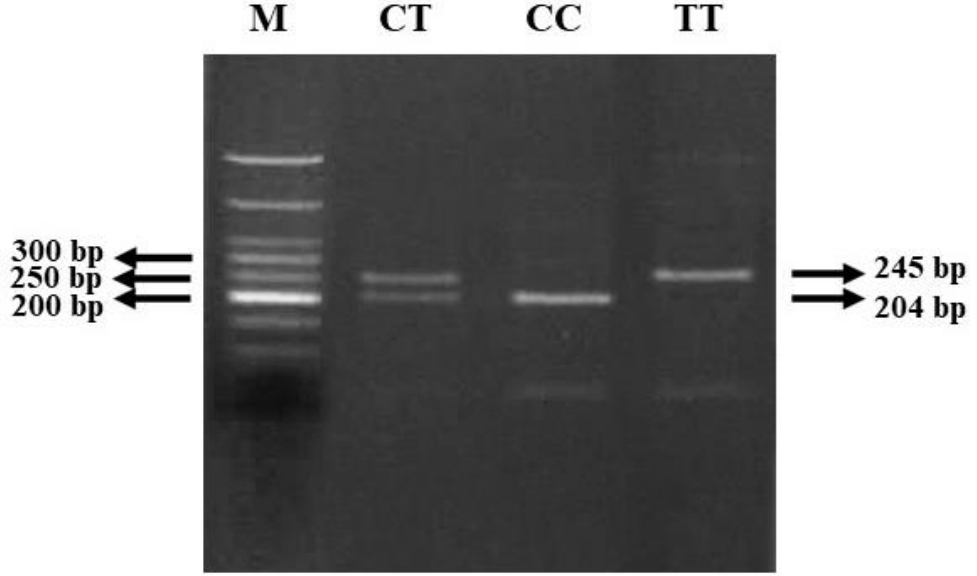
#### ***CCL11 rs16969415***

CCL11 rs16969415 (-426 C/T) gen bölgesinin toplam uzunluğu 245 bç'dir. *Taq<sup>α</sup>I* (NEB) enzimi ile kesim sırasında yabancı tip allel (C alleli) varlığında jelde iki kesim bölgesi (204 bp, 41 bp) oluşmaktadır. Polimorfizm görülüp C alleli T alleli ile yer değiştirdiğinde ise kesim olmadığı için jelde tek bant (245 bp) oluşmaktadır.

-426 C/T gen bölgesinin restriksiyon enzimi (*Taq<sup>α</sup>I*) kesimi için hazırlanan tek örneklik kesim şartları ve miktarları aşağıdaki gibidir. Reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra 65 °C'de 15 dakika kesim yapılmıştır.

<b>Malzeme Adı</b>	<b>Miktarı (μl)</b>
Cut smart	1.5 μl
Taq <sup>α</sup> I	0.1 μl
Su	1.4 μl
PCR ürünü	12 μl
<b>Toplam</b>	<b>15 μl</b>

Enzim kesim bölgeleri, C alleli ve T alleli varlığında kesim bölgelerinin değişimleri ve oluşan kesim bölgelerinin uzunlukları Şekil 3.5'te gösterilmiştir.



Şekil 3.5. CCL11 rs16969415 gen bölgesinin *Taq<sup>I</sup>* enzimi ile kesim bölgeleri

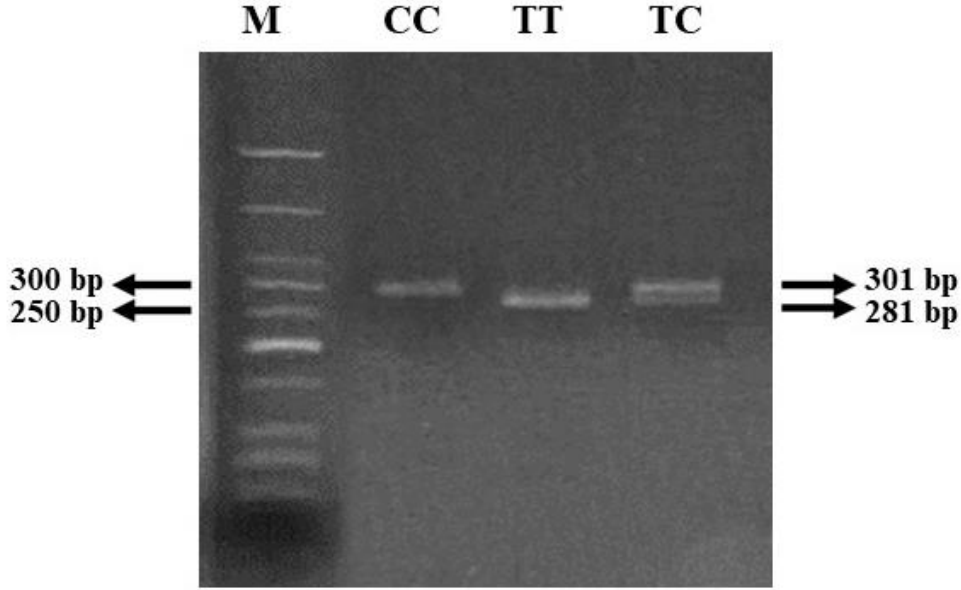
### **CCR3 rs4987053**

CCR3 rs4987053 (+51 T/C) gen bölgesinin toplam uzunluğu 301 bç'dir. *NlaIII* (NEB) enzimi ile kesim sırasında yabancı tip allel (T alleli) varlığında jelde iki kesim bölgesi (281 bp, 20 bp) oluşmaktadır. Polimorfizm görülüp T alleli C alleli ile yer değiştirdiğinde ise kesim olmadığı için jelde tek bant (301 bp) oluşmaktadır.

+51 T/C gen bölgesinin restriksiyon enzimi (*NlaIII*) kesimi için hazırlanan tek örneklik kesim şartları ve miktarları aşağıdaki gibidir. Reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra 37 °C'de 15 dakika kesim yapılmıştır.

<b>Malzeme Adı</b>	<b>Miktarı (µl)</b>
Cut smart	1.5 µl
NlaIII	0.1 µl
Su	1.4 µl
PCR ürünü	12 µl
<b>Toplam</b>	<b>15 µl</b>

Enzim kesim bölgeleri, T alleli ve C alleli varlığında kesim bölgelerinin değişimleri ve oluşan kesim bölgelerinin uzunlukları Şekil 3.6'da gösterilmiştir.



Şekil 3.6. CCR3 rs4987053 gen bölgesinin *NlaIII* enzimi ile kesim bölgeleri

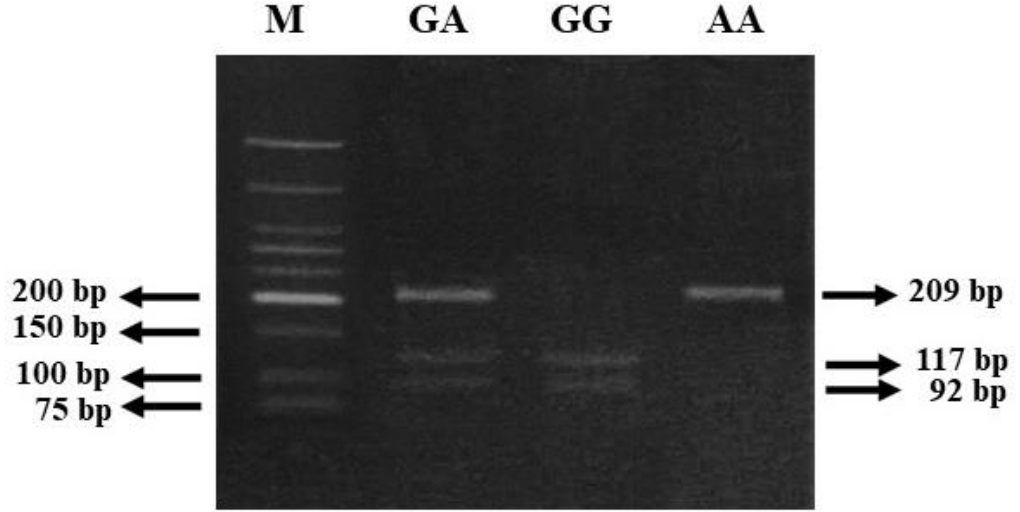
#### *CXCL12 rs1801157*

*CXCL12 rs1801157* (801 G/A) gen bölgesinin toplam uzunluğu 209 bp'dir. *MspI* (NEB) enzimi ile kesim sırasında yabancı tip allel (G alleli) varlığında jelde iki kesim bölgesi (117 bp, 92 bp) oluşmaktadır. Polimorfizm görülüp G alleli A alleli ile yer değiştirdiğinde ise kesim olmadığı için jelde tek bant (209 bp) oluşmaktadır.

801 G/A gen bölgesinin restriksiyon enzimi (*MspI*) kesimi için hazırlanan tek örneklik kesim şartları ve miktarları aşağıdaki gibidir. Reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra 37 °C'de 15 dakika kesim yapılmıştır.

Malzeme Adı	Miktarı (µl)
Cut smart	1.5 µl
<i>MspI</i>	0.05 µl
Su	1.45 µl
PCR ürünü	12 µl
Toplam	15 µl

Enzim kesim bölgeleri, G alleli ve A alleli varlığında kesim bölgelerinin değişimleri ve oluşan kesim bölgelerinin uzunlukları Şekil 3.7'de gösterilmiştir.



Şekil 3.7. CXCL12 rs1801157 gen bölgesinin *MspI* enzimi ile kesim bölgeleri

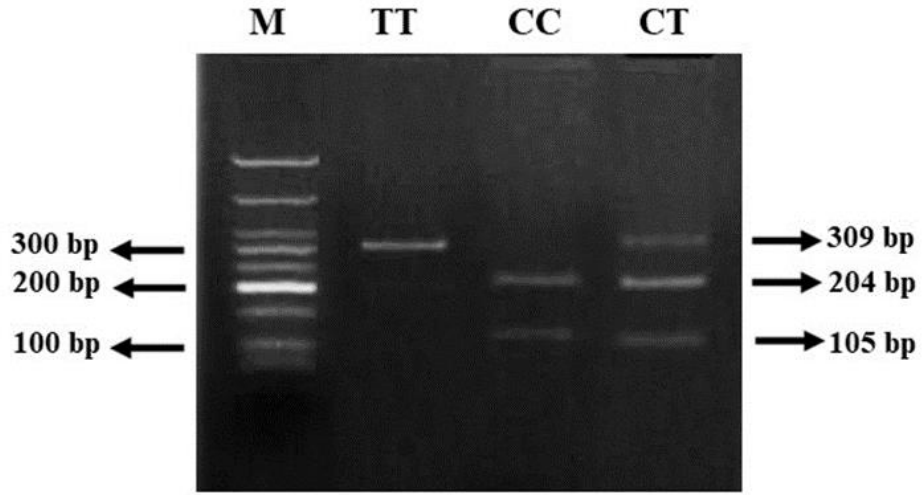
#### ***CXCR4* rs2228014**

*CXCR4* rs2228014 (-138 C/T) gen bölgesinin toplam uzunluğu 309 bp'dir. *BccI* (NEB) enzimi ile kesim sırasında yabancı tip allel (C alleli) varlığında jelde iki kesim bölgesi (204 bp, 105 bp) oluşmaktadır. Polimorfizm görülüp C alleli T alleli ile yer değiştirdiğinde ise kesim olmadığı için jelde tek bant (309 bp) oluşmaktadır.

-138 C/T gen bölgesinin restriksiyon enzimi (*BccI*) kesimi için hazırlanan tek örneklik kesim şartları ve miktarları aşağıdaki gibidir. Reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra 37 °C'de 60 dakika kesim yapılmıştır.

<b>Malzeme Adı</b>	<b>Miktarı (µl)</b>
Cut smart	1.5 µl
BccI	0.1 µl
Su	1.4 µl
PCR ürünü	12 µl
<b>Toplam</b>	<b>15 µl</b>

Enzim kesim bölgeleri, C alleli ve T alleli varlığında kesim bölgelerinin değişimleri ve oluşan kesim bölgelerinin uzunlukları Şekil 3.8'de gösterilmiştir.



Şekil 3.8. CXC4 rs2228014 gen bölgesinin *BccI* enzimi ile kesim bölgeleri

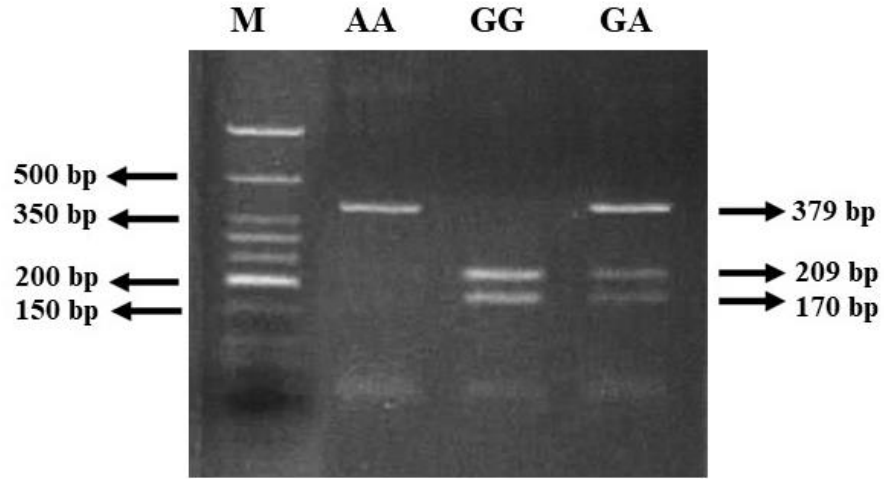
#### ***NOD1 rs5743336***

*NOD1 rs5743336* (796 A/G) gen bölgesinin toplam uzunluğu 379 bp'dir. *AvaI* (Thermo Scientific) enzimi ile kesim sırasında yabancı tip allel (A alleli) varlığında jelde kesim olmadığı için tek bant (309 bp) oluşmaktadır. Polimorfizm görülüp A alleli G alleli ile yer değiştirdiğinde ise jelde iki kesim bölgesi (209 bp, 170 bp) oluşmaktadır.

796 A/G gen bölgesinin restriksiyon enzimi (*AvaI*) kesimi için hazırlanan tek örneklik kesim şartları ve miktarları aşağıdaki gibidir. Reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra 37 °C'de 60 dakika kesim yapılmıştır.

<b>Malzeme Adı</b>	<b>Miktarı (µl)</b>
Buffer Tango	1.5 µl
<i>AvaI</i>	0.5 µl
Su	1 µl
PCR ürünü	12 µl
<b>Toplam</b>	<b>15 µl</b>

Enzim kesim bölgeleri, A alleli ve G alleli varlığında kesim bölgelerinin değişimleri ve oluşan kesim bölgelerinin uzunlukları Şekil 3.9'da gösterilmiştir.



Şekil 3.9. NOD1 rs5743336 gen bölgesinin *AvaI* enzimi ile kesim bölgeleri

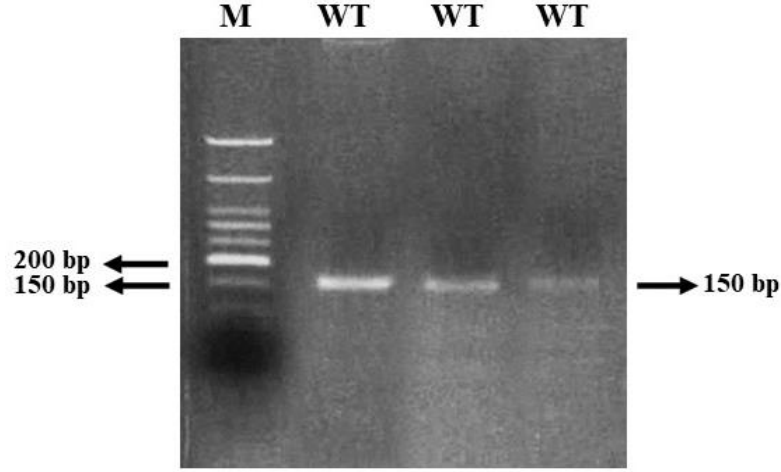
### ***NOD2- rs2066847***

NOD2 rs2066847 (3020insC) gen bölgesinin toplam uzunluğu 150 bp'dir. *ApaI* (Thermo Scientific) enzimi ile kesim sırasında yabanıl tip (WT) varlığında jelde kesim olmadığı için tek bant (150 bp) oluşmaktadır. Polimorfizm görülüp bir C bazı eklendiğinde (insersiyon) ise jelde iki kesim bölgesi (128 bp, 22 bp) oluşmaktadır.

3020insC gen bölgesinin restriksiyon enzimi (*ApaI*) kesimi için hazırlanan tek örneklik kesim şartları ve miktarları aşağıdaki gibidir. Reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra 37 °C'de 60 dakika kesim yapılmıştır.

<b>Malzeme Adı</b>	<b>Miktarı (µl)</b>
Buffer B	1.5 µl
<i>ApaI</i>	0.1 µl
Su	1.4 µl
PCR ürünü	12 µl
<b>Toplam</b>	<b>15 µl</b>

NOD2 rs2066847 gen bölgesi için hasta ve kontrol bireylerde yalnızca atasal tip (WT) allel bulunduğundan WT'e ait bölgenin uzunluğu Şekil 3.10'da gösterilmiştir.



Şekil 3.10. NOD2 rs2066847 gen bölgesinin *ApaI* enzimi ile kesim bölgeleri

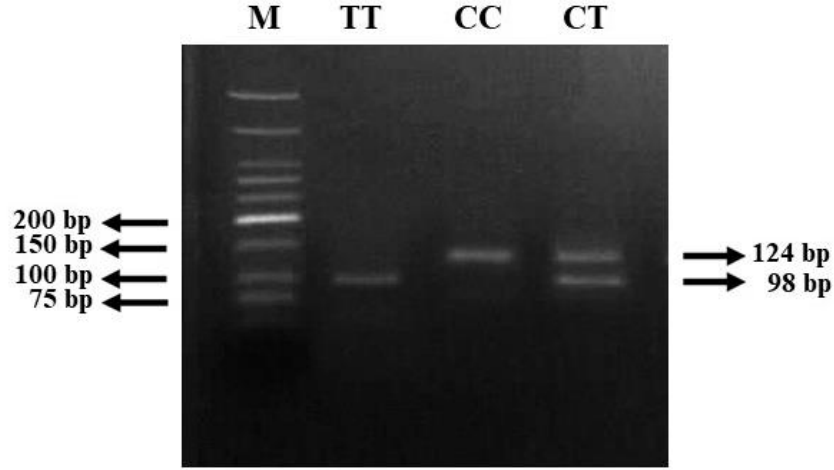
### ***TLR4 rs4986791***

TLR4 rs4986791 (1196 C/T) gen bölgesinin toplam uzunluğu 124 bp'dir. *HinfI* (NEB) enzimi ile kesim sırasında yabancı tip allel (C alleli) varlığında jelde kesim olmadığı için tek bant (124 bp) oluşmaktadır. Polimorfizm görülüp C alleli T alleli ile yer değiştirdiğinde ise jelde iki kesim bölgesi (98 bp, 26 bp) oluşmaktadır.

1196 C/T gen bölgesinin restriksiyon enzimi (*HinfI*) kesimi için hazırlanan tek örneklik kesim şartları ve miktarları aşağıdaki gibidir. Reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra 37 °C'de 60 dakika kesim yapılmıştır.

<b>Malzeme Adı</b>	<b>Miktarı (µl)</b>
Cut smart	1.5 µl
<i>HinfI</i>	0.1 µl
Su	1.4 µl
PCR ürünü	12 µl
<b>Toplam</b>	<b>15 µl</b>

Enzim kesim bölgeleri, C alleli ve T alleli varlığında kesim bölgelerinin değişimleri ve oluşan kesim bölgelerinin uzunlukları Şekil 3.11'de gösterilmiştir. (26 bp'lik bant %3'lük agaroz jelde görüntülenememektedir.)



Şekil 3.11. TLR4 rs4986791 gen bölgesinin *HinfI* enzimi ile kesim bölgeleri

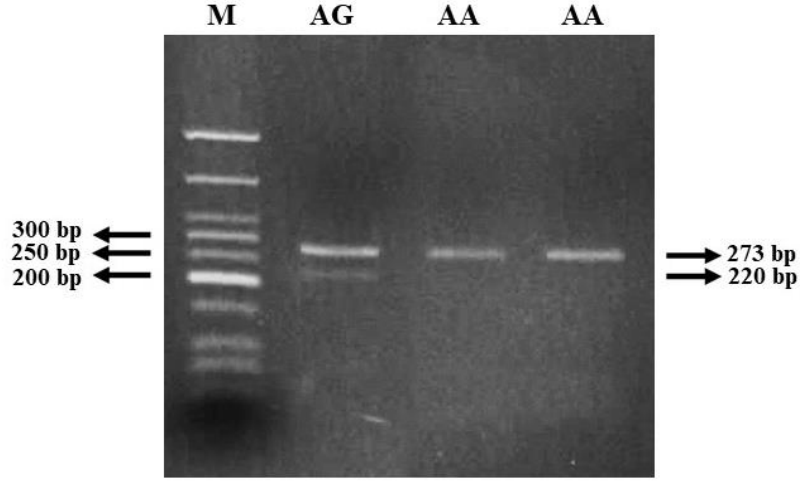
### **COX-2 rs689466**

COX-2 rs689466 (1195 A/G) gen bölgesinin toplam uzunluğu 273 bp'dir. *PvuII* (NEB) enzimi ile kesim sırasında yabancı tip allel (A alleli) varlığında jelde kesim olmadığı için tek bant (273 bp) oluşmaktadır. Polimorfizm görülüp A alleli G alleli ile yer değiştirdiğinde ise jelde iki kesim bölgesi (220 bp, 53 bp) oluşmaktadır.

1195 G/A gen bölgesinin restriksiyon enzimi (*PvuII*) kesimi için hazırlanan tek örneklik kesim şartları ve miktarları aşağıdaki gibidir. Reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra 37 °C'de 15 dakika kesim yapılmıştır.

<b>Malzeme Adı</b>	<b>Miktarı (µl)</b>
Cut smart	1.5 µl
PvuII	0.2 µl
Su	1.3 µl
PCR ürünü	12 µl
<b>Toplam</b>	<b>15 µl</b>

Enzim kesim bölgeleri, G alleli ve A alleli varlığında kesim bölgelerinin değişimleri ve oluşan kesim bölgelerinin uzunlukları Şekil 3.12'de gösterilmiştir.



Şekil 3.12. COX-2 rs689466 gen bölgesinin *PvuII* enzimi ile kesim bölgeleri

#### 3.2.4. Serum IL-1 $\beta$ , LY96 ve TLR4 düzeylerinin belirlenmesi

Serumda TLR4, LY96 ve IL-1 $\beta$  düzeylerinin belirlenmesi için Human TLR4, LY96 ve IL-1 $\beta$  Elisa kitleri (Elabscience Biotechnology, Wuhan, P.R.C.) kullanılmıştır. İlk olarak örnek, reagent ve standartlar hazırlanıp, sonrasında reaksiyon aşamaları kit protokolüne göre aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir.

##### **Örneklerin hazırlanması**

- Hasta ve kontrol grubundan alınan kanlar 4 ml'lik jelli, vakumlu, tek kullanımlık, endotoksin içermeyen tüplere konuldu.
- Örnekler oda sıcaklığında 2 saat bekletildikten sonra 2500 rpm'de 15 dk 4 °C'de santrifüjlendi ve süpernatant kısmı ayrıldı. Örnekler çalışma yapılana dek -80 °C'de depolandı.
- Elisa işlemine başlamadan önce örnekler depolamadan sonra ortaya çıkabilecek ek çökeltileri gidermek için tekrar santrifüjlendi.

##### **Reagent Hazırlığı**

Tüm reaktifler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi.

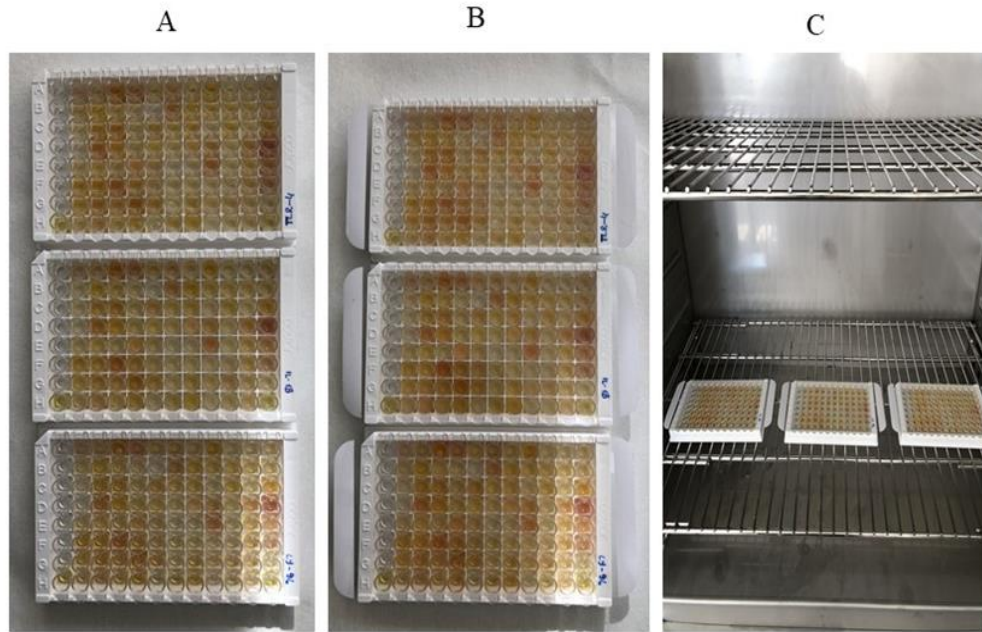
- **Yıkama tamponu:** 30 ml konsantre yıkama tamponu distile su ile 750 ml'ye tamamlandı (1:25).
- **Biyotinlenmiş detection Ab** prosedürde kullanılacağı adımdan 15 dakika önce 1:100 oranında dilüe edildi.
- **HRP Conjugate** prosedürde kullanılacağı adımdan 15 dakika önce hazırlandı (1:100).

### **Standard hazırlığı**

- Standartlar kullanmadan önce 15 dakika içinde hazırlandı.
- 1 dakika boyunca 10000 g'de santrifüjlendi ve standart 1 ml referans-numune seyrelticiyle sulandırıldı.
- 10 dakika bekletildi ve birkaç kez ters çevrildi. Tamamen çözüldükten sonra bir pipet yardımıyla iyice karıştırıldı.
- Bu sulandırma sonucunda bir stok solüsyonu elde edildi, daha sonra seri dilüsyonlar yapıldı.
- Hazırlanan ilk stok solüsyondan 0,5 ml standart alındı, 0,5 ml referans standart-numune seyreltici içeren bir eppendorf tüpüne eklendi ve karıştırıldı.
- Kalan konsantrasyonları hazırlama prosedürlerinin hepsi bir önceki konsantrasyondan aynı şekilde seri dilüsyonlar yapılarak hazırlandı.
- Referans standart-numune seyreltici sıfır (0 pg/ml-ng/ml) olarak kabul edildi.

### **ELİSA Prosedürü**

1. **Örnek Ekleme:** İlk 6 kuyucuğa farklı konsantrasyonlarda standart çalışma solüsyonu 100 uL eklendi. Diğer kuyucuklara 100 uL örnekler eklendi. Plate kit içerisinde bulunan kaplayıcı ile kaplandı. Ardından 37 °C'de 90 dakika inkübe edildi. Solüsyonlar duvarın iç kısmına dokunmaktan ve köpük oluşturmaktan kaçınılarak Elisa plakasının alt kısmına eklendi (Şekil 3.13).



**Şekil 3.13.** Elisa Aşamaları, A-Örnek, B-Plaka kaplayıcı, C-37 °C'de 90 dk inkübasyon

2. **Biyotinlenmiş Saptama Ab/Ag:** Her kuyucuktaki sıvı yıkama yapılmadan pipetle atıldı. Her kuyucuğa hemen 100 µL Biotinylated Detection Ab/Ag çalışma solüsyonu eklendi. Plaka kaplayıcı ile kapatıldı, yavaşça karıştırıldı. 37 °C'de 1 saat inkübe edildi.
3. **Yıkama:** Solüsyon her kuyucuktan aspire edildi, her kuyucuğa 350 uL yıkama tamponu eklendi. 1~2 dakika bekletilip solüsyon her kuyucuktan aspire edildi ve temiz filtre kağıda hafifçe vurarak kurulandı. Bu yıkama adımı 3 kez tekrarlandı. Bu adımda ve diğer yıkama adımlarında bir mikro-plaka yıkayıcı (BioTek, ELx50) kullanıldı (Şekil 3.14). Son yıkamadan sonra kalan yıkama tamponu aspire edildi. Plaka ters çevrildi ve kalın temiz filtre kağıda hafifçe vuruldu.



Şekil 3.14. BioTek ELx50 mikro-plaka yıkayıcı

4. **HRP Konjugatı:** Her kuyucuğa 100 µL HRP Konjugat çalışma solüsyonu eklendi. Plaka kaplayıcı ile kapatıldı. 37 °C' de 30 dakika inkübe edildi.
5. **Yıkama:** Solüsyon her kuyucuktan aspire edildi, yıkama işlemi mikro plaka yıkayıcı ile 5 kez tekrarlandı.
6. **Substrat:** Her kuyucuğa 90 µL Substrat Reaktif eklendi. Yeni bir plaka kaplayıcı ile kapatıldı. 37 °C' de yaklaşık 15 dakika inkübe edildi. Bu aşama plaka ışıktan korunarak gerçekleştirildi.
7. **Durdurma:** Her kuyucuğa 50 µL durdurma solüsyonu eklendi.
8. **OD Ölçümü:** 450 nm'ye ayarlanmış bir mikro-plaka okuyucu (Thermo, MULTISKAN GO) ile her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD) bir defada

belirlendi. Sonuçlar oluşturulan standart eğrisine göre hesaplanarak pg/ml veya ng/ml olarak elde edildi.

### ***3.2.5. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi***

Sürekli veriler Ortalama  $\pm$  Standart Sapma olarak verilmiştir. Kategorik veriler ise yüzde (%) olarak verilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğunun araştırılmasında Shapiro Wilk testinden yararlanılmıştır. Normal dağılıma uygunluk göstermeyen grupların karşılaştırılmasında, grup sayısı iki olan durumlar için Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Oluşturulan apraz tabloların analizinde Pearson Ki-Kare ve Monte Carlo Pearson Ki-Kare analizleri kullanılmıştır. Risk faktörlerinin belirlenmesinde İekli Lojistik Regresyon analizi kullanılmıştır. Analizlerin uygulanmasında IBM SPSS Statistics 25.0 ve MedCalc 16 programlarından yararlanılmıştır.

Serum protein değerlerinin gruplar arasında karşılaştırılmasında ve genotiplerle karşılaştırmalı analizinde İndependent-Samples Kruskal-Wallis Test kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalar için Dunn Test kullanılmıştır. Allel frekansları ve genotip dağılımları Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) değerleri FINNETI programı ile belirlenmiştir. Tüm analizlerde 0.05'den küçük p değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

Çalışmamız kapsamında 90 hasta (28 BPH, 35 LPCa, 27 MPCa) ve 90 kontrol bireyin CCL11 rs16969415, CCR3 rs4987053, CXCL12 rs1801157, CXCR4 rs2228014, NOD1 rs5743336, NOD2 rs2066847, TLR4 rs4986791, COX2 rs689466 polimorfizmlerini belirleyebilmek için ilgili gen bölgeleri PCR ile çoğaltıldı ve uygun restriksiyon enzimleri (*Taq<sup>α</sup>I*, *NlaIII*, *MspI*, *BccI*, *AvaI*, *ApaI*, *Hinf I*, *PvuII*) kullanılarak enzim kesimi gerçekleştirildi ve değerlendirildi. Ayrıca TLR4, LY96 ve IL-1 $\beta$  serum seviyeleri Elisa kiti kullanılarak belirlendi. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular, istatistiksel anlamlılıkları belirtilerek tablo olarak bu bölümde sunulmuştur.

Çalışmamıza dahil edilen hasta gruplarının (BPH, LPCa, MPCa) tümü erkek bireylerden oluştuğu için kontrol bireylerin de tamamı erkek bireylerden seçilmiştir. Bu nedenle cinsiyet verileri değerlendirilmemiştir. Bireylerin demografik özelliklerinden yaş verileri değerlendirilmiş ve Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Hasta grubunun yaş ortalamasının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Hasta ve kontrol grubunun yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Ayrıca tüm gruplar arasında çoklu karşılaştırma yapıldığında kontrol grubu yaş ortalaması ile BPH, LPCa ve MPCa yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak önemli oranda farklılık belirlenmiştir ( $p<0.001$ ). Hasta grupları (BPH, LPCa, MPCa) yaş ortalamaları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

**Tablo 4.1.** Çalışma popülasyonunun yaş değerleri.

Demografik özellik	Hasta n (90) (M $\pm$ SD)		Kontrol n (90) (M $\pm$ SD)		İstatistik	
Yaş	70,30 $\pm$ 10,46		43,06 $\pm$ 13,25		$p<0.001$	
	Prostat kanseri n (62) (ortalama $\pm$ standart sapma)		Non-kanseröz n (118) (ortalama $\pm$ standart sapma)		İstatistik	Çoklu karşılaştırma
	(1) LPCa n (35) (M $\pm$ SD)	(2) MPCa n (27) (M $\pm$ SD)	(3) Kontrol n (90) (M $\pm$ SD)	(4) BPH n (28) (M $\pm$ SD)	$p<0.001$	1-3: $p<0.001$ 2-3: $p<0.001$ 3-4: $p<0.001$ 1,2,4: $p>0.05$
	68,38 $\pm$ 8,25	72,14 $\pm$ 14,29	43,06 $\pm$ 13,25	70,78 $\pm$ 8,05		

(M $\pm$ SD):(Ortalama $\pm$ Standart sapma)

Çalışmamıza dahil edilen hasta gruplarının klinik özelliklerinden PSA değerleri öncelikle BPH ve prostat kanseri grupları arasında değerlendirilmiş ve anlamlı oranda farklılık tespit edilmiştir. Ayrıca çoklu karşılaştırma analizi değerlendirildiğinde tüm hasta grupları arasında (BPH-LPCa, BPH-MPCa, LPCa-MPCa) PSA değerleri anlamlı oranda farklı bulunmuştur ( $p<0,001$ ) (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2.** BPH, LPCa ve MPCa gruplarında PSA değerlerinin karşılaştırılması.

Grup	BPH n (28) (M±SD)	Prostat kanseri n (62) (M±SD)		İstatistik	
PSA (ng/ml)	4,58 ± 3,71	323,59 ± 1134,12		p<0.001	
	(1) BPH n (28) (M±SD)	(2) LPCa n (35) (M±SD)	(3) MPCa n (27) (M±SD)	İstatistik	Çoklu karşılaştırma
	4,58 ± 3,71	20,17 ± 27,06	692,03 ± 1627,36	p<0.001	1-2: p<0.001 1-3: p<0.001 2-3: p<0.001

(M±SD):(Ortalama±Standart sapma)

## 4.1. İnflamatuar Gen Varyantları

İnflamatuar gen varyantlarına ait istatistiksel değerlendirmeler ilk olarak çalışmaya dahil edilen tüm gruplar arasında (Kontrol, BPH, LPCa, MPCa), ardından non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında yapılmıştır. Ayrıca CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4, NOD1 ve COX-2 genlerine ait varyantlar prostat kanseri ve kontrol grubu arasında Hardy-weinberg dengesine göre istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

### 4.1.1. CCL11 rs16969415

CCL11 rs16969415 (-426 C/T) varyantına ait genotip frekansları incelendiğinde tüm gruplar arasında (Kontrol, BPH, LPCa, MPCa) istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir (p>0.05). Ayrıca non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında da genotip frekansları değerlendirildiğinde anlamlı bir fark belirlenememiştir (p>0.05) (Tablo 4.3).

Prostat kanseri ve kontrol grubu arasında genotip dağılımı ve allel frekanslarında anlamlı bir fark belirlenememiştir. Hasta ve kontrol genotip dağılımları Hardy-Weinberg dengesine uygun bulunmuştur (Tablo 4.5).

Allel frekansları non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında değerlendirildiğinde anlamlı bir fark gözlenememiştir (p>0.05) (Tablo 4.4).

### 4.1.2. CCR3 rs4987053

CCR3 rs4987053 (+51 T/C) genotip frekansları tüm gruplar arasında (Kontrol, BPH, LPCa, MPCa) değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (p<0.001). Ayrıca non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri

grubu (LPCa, MPCa) arasında da genotip frekansları değerlendirildiğinde anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Tablo 4.3).

Ayrıca prostat kanseri ve kontrol grubu arasında genotip dağılımları ve allel frekansları açısından anlamlı bir fark belirlenmiştir ( $p<0.001$ ). Ayrıca homozigot, resesif ve dominant modellerde genotip dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Hasta ve kontrol genotip dağılımları Hardy-Weinberg dengesine uygun bulunmuştur (Tablo 4.5).

Allel frekansları açısından değerlendirildiğinde, non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında anlamlı bir fark belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). C alleli bulunduran bireylerin prostat kanseri riskinin T aleli bulunduran bireylere göre 1.825 kat arttığı belirlenmiştir (Tablo 4.4).

#### **4.1.3. CXCL12 rs1801157**

CXCL12 rs1801157 (801 G/A) varyantına ait genotip frekansları incelendiğinde tüm gruplar arasında (Kontrol, BPH, LPCa, MPCa) istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenememiştir ( $p>0.05$ ). Ayrıca non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında da genotip frekansları değerlendirildiğinde anlamlı bir fark belirlenememiştir ( $p>0.05$ ) (Tablo 4.3).

Prostat kanseri ve kontrol grubu arasında genotip dağılımı ve allel frekanslarında anlamlı bir fark belirlenememiştir. Hasta ve kontrol genotip dağılımları Hardy-Weinberg dengesine uygun bulunmuştur (Tablo 4.6).

Allel frekansları non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında değerlendirildiğinde anlamlı bir fark gözlenememiştir ( $p>0.05$ ) (Tablo 4.4).

#### **4.1.4. CXCR4 rs2228014**

CXCR4 rs2228014 (-138 C/T) genotip frekansları değerlendirildiğinde non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ayrıca tüm gruplar arasında (Kontrol, BPH, LPCa, MPCa) istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenememiştir ( $p>0.05$ ) (Tablo 4.3).

Prostat kanseri ve kontrol grubu arasında genotip dağılımı ve allel frekanslarında anlamlı bir fark belirlenememiştir. Hasta ve kontrol genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg dengesine uygun olmadığı belirlenmiştir ( $p<0.05$ ) (Tablo 4.6).

Allel frekansları non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında değerlendirildiğinde anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p>0.05$ ) (Tablo 4.4).

**Tablo 4.3.** Çalışma popülasyonunda CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4 genotip dağılımları.

Gen	Varyasyon	Genotip	Non-kanseröz		Prostat kanseri		p	Non-kanseröz	PCa	p
			Kontrol	BPH	LPCa	MPCa				
CCL11	rs16969415	CC (%)	74 (82.2)	24 (85.7)	29 (82.9)	20 (74.1)	0,517	98 (83.1)	49 (79.0)	0,389
		CT (%)	16 (17.8)	4 (14.3)	5 (14.3)	7 (25.9)		20 (16.9)	12 (19.4)	
		TT (%)	0 (0)	0 (0)	1 (2.9)	0 (0)		0 (0)	1 (1.6)	
		n	90	28	35	27		118	62	
CCR3	rs4987053	TT (%)	63 (70.0)	11 (39.3)	22 (62.8)	9 (33.3)	<0.001	74 (62.7)	31 (50.0)	0,013
		TC (%)	25 (27.8)	17 (60.7)	10 (28.6)	14 (51.9)		42 (35.6)	24 (38.7)	
		CC (%)	2 (2.2)	0 (0)	3 (8.6)	4 (14.8)		2 (1.7)	7 (11.3)	
		n	90	28	35	27		118	62	
CXCL12	rs1801157	GG (%)	38 (42.2)	9 (32.1)	11 (31.4)	8 (29.7)	0,450	47 (39.8)	19 (30.6)	0,245
		GA (%)	42 (46.7)	17 (60.7)	23 (65.7)	16 (59.2)		59 (50.0)	39 (62.9)	
		AA (%)	10 (11.1)	2 (7.1)	1 (2.9)	3 (11.1)		12 (10.2)	4 (6.5)	
		n	90	28	35	27		118	62	
CXCR4	rs2228014	CC (%)	3 (3.3)	2 (7.1)	1 (2.9)	0 (0)	0,093	5 (4.2)	1 (1.6)	0,414
		CT (%)	87 (96.7)	25 (89.3)	34 (97.1)	25 (92.6)		112 (94.9)	59 (95.2)	
		TT (%)	0 (0)	1 (3.6)	0 (0)	2 (7.4)		1 (0.8)	2 (3.2)	
		n	90	28	35	27		118	62	

Tablo 4.3'te CCL11 rs16969415, CCR3 rs4987053, CXCL12 rs1801157, CXCR4 rs2228014 gen varyantlarına ait genotip dağılımları tüm gruplarda (Kontrol, BPH, LPCa, MPCa) ve non-kanseröz ve prostat kanseri grupları arasında ayrı ayrı değerlendirilerek p değerleri verilmiştir.

Allel frekansları için oluşturulan Tablo 4.4'te ise non-kanseröz ve prostat kanseri grupları arasında değerlendirme yapılmıştır. Değerlendirme sonucunda hastalık riskini etkileyen allel için tabloda Odds Ratio (OR) değerleri ve p değerleri verilmiştir.

**Tablo 4.4.** Çalışma popülasyonunda CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4 allel dağılımları (OR: Odds ratio).

Gen (Risk)	Varyasyon	Allel	Non-kanseröz	Prostat kanseri	OR (95 % CI)	İstatistik
CCL11 (T/C)	rs16969415	C (%)	216 (91.5)	111 (89.5)	1.265	p=0,663
		T (%)	20 (8.5)	13 (10.5)		
		n	236	124		
CCR3 (C/T)	rs4987053	T (%)	190 (80.5)	86 (69.4)	1.825	<b>p=0,017</b>
		C (%)	46 (19.5)	38 (30.6)		
		n	236	124		
CXCL12 (A/G)	rs1801157	G (%)	153 (64.8)	77 (62.1)	1.125	p=0,608
		A (%)	83 (35.2)	47 (37.9)		
		n	236	124		
CXCR4 (T/C)	rs2228014	C (%)	122 (51.7)	61 (49.2)	1.105	p=0,652
		T (%)	114 (48.3)	63 (50.8)		
		n	236	124		

Hardy-Weinberg dengesine göre yapılan değerlendirmede çoklu grupların analizi yapılamadığından genel bir karşılaştırma için prostat kanseri ve kontrol grubu arasında değerlendirme yapılmıştır. Tablo 4.5'te allel frekansları ve genotip dağılımları için p değerleri verilmiştir. Bununla birlikte tabloda dominant, resesif, homozigot ve heterozigot modeller için OR değerleri ve p değerleri sunulmuştur.

**Tablo 4.5.** Prostat kanseri ve kontrol grubu CCL11 rs16969415, CCR3 rs4987053 polimorfizmleri genotip ve alel frekansları

SNP rs16969415	Allel		İstatistik P	OR (95 % CI)	Genotip			İstatistik P	HWE
	C n(%)	T n(%)			CC	CT	TT		
Kontrol	164 (91.1)	16 (8.9)	0.490	1.305 (0.612-2.781)	74	16	0	0.574	0.354
Prostat kanseri	110 (88.7)	14 (11.3)			49	12	1		0.790
OR (95 % CI) (Risk allel T)									
Heterozigot CC vs CT		Homozigot CC vs TT		Dominant CC vs CT+TT		Resesif CC+CT vs TT		Armitage's trend test	
1.133 (0.493-2.600) p=0.768		4.515 (0.180-113.088) p=0.221		1.227 (0.543-2.775) p=0.622		0.227 (0.009-5.652) p=0.226		Common OR: 1.699 p=0.482	
SNP rs4987053	Allel		İstatistik P	OR (95 % CI)	Genotip			İstatistik P	HWE
	T n(%)	C n(%)			TT	TC	CC		
Kontrol	151 (83.9)	29 (16.1)	<b>0.002</b>	2.301 (1.326-3.992)	63	25	2	<b>0.012</b>	0.793
Prostat kanseri	86 (69.3)	38 (30.7)			31	24	7		0.481
OR (95 % CI) (Risk allel C)									
Heterozigot TT vs TC		Homozigot TT vs CC		Dominant TT vs TC+CC		Resesif TT+TC vs CC		Armitage's trend test	
1.951 (0.963-3.953) p=0.061		7.113 (1.395-36.276) p=0.007		2.333 (1.192-4.567) p=0.012		0.179 (0.036-0.891) p=0.019		Common OR: 2.425 p=0.003	

OR: Odds ratio, CI: Confidence interval, HWE: Hardy-Weinberg equilibrium

**Tablo 4.6.** Prostat kanseri ve kontrol grubu CXCL12 rs1801157, CXCR4 rs2228014 polimorfizmleri genotip ve alel frekansları

SNP rs1801157	Allel		İstatistik P	OR (95 % CI)	Genotip			İstatistik P	HWE
	G n(%)	A n(%)			GG	GA	AA		
Kontrol	118 (65.5)	62 (34.6)	0.536	1.162 (0.722-1.869)	38	42	10	0.136	0.751
Prostat kanseri	77 (62.0)	47 (38.0)			19	39	4		0.008
OR (95 % CI) (Risk allel A)									
Heterozigot GG vs GA		Homozigot GG vs AA		Dominant GG vs GA+AA		Resesif GG+GA vs AA		Armitage's trend test	
1.857 (0.920-3.748) p=0.082		0.800 (0.222-2.888) p=0.733		1.654 (0.835-3.274) p=0.147		1.812 (0.542-6.065) p=0.328		Common OR: 1.083 p=0.500	
SNP rs2228014	Allel		İstatistik P	OR (95 % CI)	Genotip			İstatistik P	HWE
	C n(%)	T n(%)			CC	CT	TT		
Kontrol	93 (51.7)	87 (48.3)	0.671	1.104 (0.699-1.745)	3	87	0	0.229	<0.05
Prostat kanseri	61 (49.2)	63 (50.8)			1	59	2		<0.05
OR (95 % CI) (Risk allel T)									
Heterozigot CC vs CT		Homozigot CC vs TT		Dominant CC vs CT+TT		Resesif CC+CT vs TT		Armitage's trend test	
2.034 (0.207-20.034) p=0.534		11.667 (0.322-422.139) p=0.083		2.103 (0.214-20.703) p=0.514		0.134 (0.006-2.834) p=0.086		Common OR: 10.985 p=0.130	

OR: Odds ratio, CI: Confidence interval, HWE: Hardy-Weinberg equilibrium

#### **4.1.5. NOD1 rs5743336**

NOD1 rs5743336 (796 G/A) genotip frekansları incelendiğinde tüm gruplar arasında (Kontrol, BPH, LPCa, MPCa) istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p>0.05$ ). Ancak non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında genotip frekansları değerlendirildiğinde anlamlı bir fark belirlenmiştir ( $p<0.05$ ) (Tablo 4.7).

Benzer şekilde prostat kanseri ve kontrol grubu arasında genotip dağılımları ve allel frekansları arasında anlamlı bir fark belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Ayrıca heterozigot, homozigot ve dominant modelde genotip dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Hasta ve kontrol genotip dağılımları Hardy-Weinberg dengesine uygun bulunmuştur. Değerlendirme yapılırken kontrol bireylerde AA genotipine sahip bireyler hastalara göre daha fazla olduğundan risk allel G olarak seçilmiştir (Tablo 4.9).

Allel frekansları açısından değerlendirildiğinde, non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında anlamlı bir fark belirlenememiştir ( $p=0.051$ ). Ancak G alleli bulunduran bireylerin prostat kanseri riskinin A aleli bulunduran bireylere göre 1.565 kat arttığı belirlenmiştir (Tablo 4.8).

#### **4.1.6. NOD2 rs2066847**

NOD2 rs2066847 (3020insC) polimorfizmini belirleyebilmek için ilgili bölge PCR ile çoğaltılmış ve *ApaI* enzimi kullanılarak örneklerin enzim kesimi gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda, hasta ve kontrol bireylerin tamamında atasal tip (WT) allel gözlenmiştir. Bu nedenle NOD2 rs2066847 varyantı genotip dağılımları ve allel frekansları için istatistik değerlendirmeye dahil edilmemiştir. Hasta ve kontrollerin genotip dağılımına ilişkin veriler Tablo 4.7’de sunulmuştur.

#### **4.1.7. TLR4 rs4986791**

TLR4 rs4986791 (1196 C/T) genotip frekansları incelendiğinde tüm gruplar arasında (Kontrol, BPH, LPCa, MPCa) istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Ayrıca non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında genotip frekansları arasındaki fark değerlendirildiğinde de anlamlı bir fark gözlenememiştir ( $p>0.05$ ) (Tablo 4.7).

TLR4 rs4986791 (1196 C/T) genotip frekansları değerlendirildiğinde kontrol grubunun tamamında atasal genotip olan CC genotipi gözlenirken, hasta gruplarında yalnızca 1 adet CT 1 adet TT genotipi bulunduğu belirlenmiştir. Bu nedenle bu gen varyantı Hardy-Weinberg ve allel frekansları istatistiksel değerlendirmelerine dahil edilmemiştir.

#### **4.1.8. COX-2 rs689466**

COX-2 rs689466 (1195 G/A) genotip frekansları değerlendirildiğinde tüm gruplar arasında (Kontrol, BPH, LPCa, MPCa) istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Ayrıca non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında genotip frekansları arasındaki fark değerlendirildiğinde anlamlı bir fark belirlenmiştir ( $p<0.001$ ). Ayrıca AG genotipi yüzdesinin hastalık şiddeti arttıkça arttığı (Kontrol: %7.8, BPH: %14.3, LPCa: %25.7, MPCa: %40.8) ve MPCa grubunda diğer 3 gruba göre belirgin oranda artmış olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.7).

Prostat kanseri ve kontrol grubu arasında genotip dağılımları ve allel frekansları açısından anlamlı fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Ayrıca heterozigot ve dominant modelde genotip dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Hasta ve kontrol genotip dağılımları Hardy-Weinberg dengesine uygun bulunmuştur (Tablo 4.9).

Allel frekansları açısından değerlendirildiğinde de non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ( $p<0.001$ ). G alleli bulunduran bireylerin prostat kanseri riskinin A aleli bulunduran bireylere göre 3.934 kat arttığı belirlenmiştir (Tablo 4.8).

**Tablo 4.7.** Çalışma popülasyonunda NOD1, NOD2, TLR4, COX-2 genotip dağılımları.

Gen	Varyasyon	Genotip	Non-kanseröz		Prostat kanseri		p	Non-kanseröz	Prostat kanseri	p
			Kontrol	BPH	LPCa	MPCa				
NOD1	rs5743336	GG (%)	29 (32.2)	11 (39.3)	12 (34.3)	13 (48.2)	p=0,203	40 (33.9)	25 (40.3)	p=0,036
		GA (%)	39 (43.3)	11 (39.3)	20 (57.1)	12 (44.4)		50 (42.4)	32 (51.6)	
		AA (%)	22 (24.4)	6 (21.4)	3 (8.6)	2 (7.4)		28 (23.7)	5 (8.1)	
		n	90	28	35	27		118	62	
NOD2	rs2066847	WT (%)	90 (100)	28 (100)	35 (100)	27 (100)	-	118 (100)	62 (100)	-
		WT/insC (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
		insC/insC (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
		n	90	28	35	27		118	62	
TLR4	rs4986791	CC (%)	90 (100)	27 (96.4)	35 (100)	26 (96.3)	p=0,070	117 (99.2)	61 (98.4)	p=0,566
		CT (%)	0 (0)	1 (3.6)	0 (0)	0 (0)		1 (0.8)	0 (0)	
		TT (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (3.7)		0 (0)	1 (1.6)	
		n	90	28	35	27		118	62	
COX2	rs689466	AA (%)	83 (92.2)	24 (85.7)	26 (74.3)	16 (59.2)	p<0.001	107 (90.7)	42 (67.7)	p<0.001
		AG (%)	7 (7.8)	4 (14.3)	9 (25.7)	11 (40.8)		11 (9.3)	20 (32.3)	
		GG (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
		n	90	28	35	27		118	62	

**Tablo 4.8.** Çalışma popülasyonunda NOD1, COX-2 allel frekansları.

Gen (Risk)	Varyasyon	Allel	Non-kanseröz	Prostat kanseri	OR (95 % CI)	İstatistik
NOD1	rs5743336	G (%)	131 (55.5)	82 (66.1)	1.565	p=0,051
		A (%)	105 (44.5)	42 (33.9)		
		n	236	124		
COX-2	rs689466	A (%)	225 (95.3)	104 (83.9)	3.934	p<0.001
		G (%)	11 (4.7)	20 (16.1)		
		n	236	124		

**Tablo 4.9.** Prostat kanseri ve kontrol grubunda Hardy-Weinberg dengesine göre NOD1 rs574336, COX-2 rs689466 polimorfizmleri genotip ve alel frekansları.

SNP rs5743336	Allel		İstatistik P	OR (95 % CI)	Genotip			İstatistik P	HWE
	G n(%)	A n(%)			GG	GA	AA		
Kontrol	97 (53.9)	83 (46.1)	<b>0.033</b>	1.671 (1.040-2.682)	29	39	22	<b>0.034</b>	0.224
Prostat kanseri	82 (66.1)	42 (33.9)			25	32	5		0.230
OR (95 % CI) (Risk allel A)									
Heterozigot AA vs GA		Homozigot AA vs GG		Dominant AA vs GG+GA		Resesif GA +AA vs GG		Armitage's trend test	
3.610 (1.229-10.607) <b>p=0.015</b>		3.793 (1.252-11.494) <b>p=0.014</b>		3.688 (1.313-10.361) <b>p=0.009</b>		0.704 (0.359-1.379) p=0.305		Common OR: 1.804 <b>p=0.036</b>	
SNP rs689466	Allel		İstatistik P	OR (95 % CI)	Genotip			İstatistik P	HWE
	A n(%)	G n(%)			AA	AG	GG		
Kontrol	173 (96.1)	7 (3.9)	<b>&lt;0.001</b>	4.753 (1.943-11.62)	83	7	0	<b>&lt;0.001</b>	0.701
Prostat kanseri	104 (83.9)	20 (16.1)			42	20	0		0.129
OR (95 % CI) (Risk allel G)									
Heterozigot AA vs AG		Homozigot AA vs GG		Dominant AA vs AG+GG		Resesif AA+AG vs GG		Armitage's trend test	
5.646 (2.211-14.416) <b>p&lt;0.001</b>		1.965 (0.038-100.749) p=1.000		5.646 (2.211-14.416) <b>p&lt;0.001</b>		0.691 (0.014-35.268) p=1.000		Common OR: 5.646 <b>p&lt;0.001</b>	

OR: Odds ratio, CI: Confidence interval, HWE: Hardy-Weinberg equilibrium

## 4.2. PSA Değerleri ile İnflamatuar Gen Varyantlarının Karşılaştırmalı Analizi

Çalışmamıza dahil edilen hasta gruplarındaki tüm bireylerin PSA değerleri ile gen varyantları arasında ilişki olup olmadığının belirlenmesi için yapılan analizde COX-2 rs689466 polimorfizmi genotip dağılımları ile PSA değerleri arasında anlamlı bir fark belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Bununla birlikte CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4, NOD1 gen varyantları ile PSA değerleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir ( $p > 0.05$ ). PSA seviyeleri ve gen varyantlarının ilişkisinin değerlendirildiği p değerleri tabloda sunulmuştur (Tablo 4.10).

**Tablo 4.10.** PSA değerleri ile inflammatuar gen varyantlarının karşılaştırmalı analizi

Gen Varyantları								
Grup	CCL11- rs16969415				CCR3- rs4987053			
	Genotip	n	M ± SD	P	Genotip	n	M ± SD	P
PSA (ng/mL)	CC	73	245,73±1049,40	0,703	TT	42	311,47±1338,04	0,158
	CT	16	139,90±250,48		TC	41	155,84±397,54	
	TT	1	14,29		CC	7	102,79±116,78	
PSA (ng/mL)	CXCL12- rs1801157				CXCR4- rs2228014			
	GG	28	105,47±276,34	0,512	CC	3	4,19±3,31	0,194
	GA	56	152,93±357,60		CT	84	234,84±982,60	
	AA	6	1445,60±3512,60		TT	3	150,47±238,87	
PSA (ng/mL)	NOD1- rs5743336				COX2- rs689466			
	GG	36	388,05±1449,58	0,387	AA	66	95,97±251,44	0,035
	GA	43	115,46±331,44		AG	24	577,38±1772,18	
	AA	11	114,20±256,13		GG	0	-	

## 4.3. Serum TLR4, LY96 ve IL-1β Düzeylerinin Belirlenmesi

### 4.3.1. Serum IL-1β düzeyi

Serum IL-1β düzeyleri tüm gruplar arasında (Kontrol, BPH, LPCa, MPCa) değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p < 0.001$ ) (Tablo 4). Ayrıca tüm gruplar için kendi aralarında çoklu karşılaştırma yapılmıştır. Çoklu karşılaştırma sonuçlarına göre; kontrol grubu ile BPH, LPCa ve MPCa grupları IL-1β düzeyleri karşılaştırıldığında ikili grupların tamamında anlamlı bir fark tespit edilmiştir ( $p < 0.001$ ). Bununla birlikte LPCa ve MPCa grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ) (Tablo 4.11).

#### 4.3.2. Serum LY96 düzeyi

Serum LY96 düzeyleri tüm gruplar arasında (Kontrol, BPH, LPCa, MPCa) değerlendirilmiştir ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p < 0.001$ ) (Tablo 4.10). Ayrıca tüm gruplar için kendi aralarında çoklu karşılaştırma yapılmıştır. Çoklu karşılaştırma sonuçlarına göre; kontrol grubu ile BPH ve MPCa grubu arasında anlamlı fark bulunurken ( $p < 0.001$ ), kontrol grubu ile LPCa grupları arasında anlamlı fark bulunamamıştır ( $p > 0.05$ ). Ayrıca LPCa ve MPCa grupları arasında serum LY96 düzeyleri değerlendirildiğinde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ) (Tablo 4.11).

#### 4.3.3. Serum TLR4 düzeyi

Serum TLR4 düzeyleri tüm gruplar arasında (Kontrol, BPH, LPCa, MPCa) değerlendirilmiştir ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p < 0.001$ ) (Tablo 4.11). Ayrıca çoklu karşılaştırma sonuçlarına göre; kontrol grubu ile BPH ve LPCa grubu arasında anlamlı fark bulunurken, kontrol grubu MPCa grubu arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Bununla birlikte LPCa ve MPCa grupları arasında Serum TLR4 düzeyleri değerlendirildiğinde anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p < 0.001$ ) (Tablo 4.11).

**Tablo 4.11.** Çalışma popülasyonunda serum IL-1B, LY96 ve TLR4 seviyeleri.

Grup	Non-kanseröz (M ± SD)		Prostat Kanseri (M ± SD)		p	Çoklu karşılaştırma
	(1) Kontrol (n=90)	(2) BPH (n=28)	(3) LPCa (n=35)	(4) MPCa (n=27)		
IL-1β (pg/mL)	14,07 ± 9,40	56,97 ± 32,20	46,03 ± 25,37	71,30 ± 44,14	<b>p&lt;0,001</b>	1-2: <b>p&lt;0,001</b> 1-3: <b>p&lt;0,001</b> 1-4: <b>p&lt;0,001</b> 3-4: p=0,809
LY96 (ng/mL)	1,51 ± 0,55	1,09 ± 0,36	1,37 ± 0,54	1,10 ± 0,36	<b>p&lt;0,001</b>	1-2: <b>p&lt;0,001</b> 1-3: p=0,607 1-4: <b>p=0,002</b> 3-4: p=0,383
TLR4 (ng/mL)	13,21 ± 2,40	20,09 ± 0,89	15,33 ± 1,76	12,50 ± 3,14	<b>p&lt;0,001</b>	1-2: <b>p&lt;0,001</b> 1-3: <b>p=0,001</b> 1-4: p=0,644 3-4: <b>p&lt;0,001</b>

#### 4.4. İnflamatuar Protein Seviyeleri ve İnflamatuar Gen Varyantlarının Karşılaştırmalı Analizi

Çalışmamıza dahil edilen tüm bireylerde CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4, NOD1 ve COX-2 genlerine ait varyantlar ile serum IL-1 $\beta$ , LY96 ve TLR4 düzeyleri arasındaki ilişki değerlendirilmiş ve p değerleri ve gen varyantlarına ait her genotip için protein seviyeleri de tabloda verilmiştir (Tablo 4.12, Tablo 4.13, Tablo 4.14).

IL-1 $\beta$  serum seviyeleri ile CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4, NOD1 ve COX-2 gen varyantları arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, COX-2 rs689466 polimorfizmi genotip dağılımları ile IL-1 $\beta$  serum seviyesi arasında anlamlı bir fark saptanmıştır ( $p < 0.05$ ). COX-2 rs689466 varyantı için AG genotipi bulunduran bireylerde AA genotipi bulunduran bireylere kıyasla IL-1 $\beta$  serum seviyelerinin önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir (Tablo 4.14).

**Tablo 4.12.** Çalışma popülasyonunda serum IL-1B, LY96 ve TLR4 seviyelerinin CCL11 rs16969415 ve CCR3 rs4987053 gen varyantları ile karşılaştırmalı analizi.

Kemokin-Kemokin Reseptörü Gen Varyantları								
Grup	CCL11- rs16969415				CCR3-rs4987053			
	Genotip	n	M $\pm$ SD	P	Genotip	n	M $\pm$ SD	P
IL-1 $\beta$ (pg/mL)	CC	147	33,03 $\pm$ 31,05	0,209	TT	105	30,71 $\pm$ 29,58	0,066
	CT	32	45,15 $\pm$ 41,25		TC	66	43,37 $\pm$ 39,45	
	TT	1	96,60		CC	9	34,53 $\pm$ 17,55	
LY96 (ng/mL)	CC	147	1,34 $\pm$ 0,52	0,614	TT	105	1,40 $\pm$ 0,51	0,069
	CT	32	1,46 $\pm$ 0,56		TC	66	1,33 $\pm$ 0,57	
	TT	1	1,40		CC	9	1,08 $\pm$ 0,15	
TLR4 (ng/mL)	CC	147	14,62 $\pm$ 3,29	0,553	TT	105	14,12 $\pm$ 3,46	0,094
	CT	32	14,31 $\pm$ 3,87		TC	66	15,45 $\pm$ 3,30	
	TT	1	17,32		CC	9	13,65 $\pm$ 1,48	

LY96 serum seviyeleri CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4, NOD1 ve COX-2 gen varyantları genotip dağılımlarına göre karşılaştırıldığında, CXCR4 ve NOD1 varyantları genotip dağılımları ile LY96 serum seviyeleri arasında anlamlı bir fark saptanmıştır ( $p < 0.05$ ) (Tablo 4.13, Tablo 4.14).

**Tablo 4.13.** Çalışma popülasyonunda serum IL-1B, LY96 ve TLR4 seviyelerinin CXCL12 rs1801157 ve CXCR4 rs2228014 gen varyantları ile karşılaştırmalı analizi.

Kemokin-Kemokin Reseptörü Gen Varyantları								
Grup	CXCL12- rs1801157				CXCR4-rs2228014			
	Genotip	n	M ± SD	P	Genotip	n	M ± SD	P
IL-1β (pg/mL)	GG	66	34,04±33,47	0,490	CC	6	40,85±28,33	0,106
	GA	98	37,49±34,37		CT	171	34,85±33,61	
	AA	16	29,79±29,09		TT	3	64,56±34,20	
LY96 (ng/mL)	GG	66	1,44±0,56	0,154	CC	6	1,98±0,64	a* 0,033
	GA	98	1,29±0,52		CT	171	1,34±0,51	
	AA	16	1,43±0,39		TT	3	1,16±0,43	
TLR4 (ng/mL)	GG	66	14,12±3,70	0,493	CC	6	15,72±3,58	0,655
	GA	98	14,90±3,24		CT	171	14,52±3,39	
	AA	16	14,54±2,85		TT	3	15,65±3,57	
Çoklu karşılaştırma	LY-96		a* CT-CC: p=0,033					

TLR4 serum seviyeleri CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4, NOD1 ve COX-2 gen varyantları genotip dağılımlarına göre karşılaştırıldığında ise gen varyantları ile serum TLR4 seviyeleri arasında anlamlı bir fark belirlenememiştir (Tablo 4.12, Tablo 4.13, Tablo 4.14).

**Tablo 4.14.** Çalışma popülasyonunda serum IL-1B, LY96 ve TLR4 seviyelerinin NOD1 rs5743336 ve COX-2 rs689466 gen varyantları ile karşılaştırmalı analizi.

NOD1 ve COX-2 Gen Varyantları								
Grup	NOD1- rs5743336				COX2- rs689466			
	Genotip	n	M ± SD	P	Genotip	n	M ± SD	P
IL-1β (pg/mL)	GG	65	35,86±28,56	0,255	AA	149	31,17±29,54	a* 0,001
	GA	82	38,62±38,54		AG	31	56,55±42,98	
	AA	33	27,26±28,26		GG	0	-	
LY96 (ng/mL)	GG	65	1,26±0,46	b* 0,037	AA	149	1,36±0,54	0,566
	GA	82	1,46±0,54		AG	31	1,36±0,49	
	AA	33	1,32±0,58		GG	0	-	
TLR4 (ng/mL)	GG	65	14,72±3,40	0,953	AA	149	14,61±3,25	0,926
	GA	82	14,59±3,17		AG	31	14,44±4,03	
	AA	33	14,30±3,93		GG	0	-	
Çoklu karşılaştırma	IL-1β		a* AA-AG: p=0,001		LY96		b* GG-GA: p=0,037	

## 5. TARTIŞMA

Kronik inflamasyon, çeşitli kanserlerin gelişimini teşvik eder ve prostat karsinogenezine katkıda bulunabilir. İnflamasyon, proliferatif inflamatuvar atrofi olarak adlandırılan prostat kanseri öncül lezyonları ile ilişkilidir ve oksidatif stres ve mutagenezi indükleyen reaktif oksijen türlerinin oluşumu yoluyla prostat karsinogenezine neden olabilir. Ayrıca, inflamatuvar stres, neoplastik dönüşümü destekleyen epigenetik değişikliklere neden olabilir (Tewari, Stockert, Yadav, Yadav, & Khan, 2018).

Çalışmamızda inflamatuvar süreçte etkili olan kemokinler (CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4), kalıp tanıma reseptörleri (NOD1, NOD2, TLR4), sikloksijenaz (COX-2) genlerine ait 8 SNP'nin Türk toplumundaki sıklığını ve yine inflamatuvar süreçte görevli TLR4, LY96, IL-1 $\beta$  proteinlerinin serum seviyelerini belirlemek amaçlanmıştır. Bu bölümde ise elde ettiğimiz veriler literatür verileriyle karşılaştırılarak tartışılacaktır.

### 5.1. Demografik ve Klinik Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışmamıza dahil edilen hasta gruplarının (BPH, LPCa, MPCa) tümü erkek bireylerden oluştuğu için kontrol bireylerin de tamamı erkek bireylerden seçilmiştir. Bu nedenle cinsiyet verileri değerlendirilmemiştir. Bireylerin demografik özelliklerinden yaş verileri değerlendirildiğinde hasta grubunun yaş ortalamasının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Araştırma gruplarının belirlenmesi aşamasında hasta gruplarımız arasında BPH'lı bir grupta bulunduğundan kontrol bireylerde BPH varlığını dışlamak için kontrol bireylerin daha düşük yaşta seçilmesi gerektiği belirlenmiş ve kontrol grubu bireyler bu özelliklere uygun olarak seçilmiştir. Çalışmamızın sonucunda bununla uyumlu olarak hasta ve kontrol grubunun yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Ayrıca tüm gruplar arasında çoklu karşılaştırma yapıldığında kontrol grubu yaş ortalaması ile BPH, LPCa ve MPCa yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak önemli oranda farklılık belirlenmiştir.

Çalışmamıza dahil edilen hasta grubunda klinik veri olarak BPH ve prostat kanserinde bir tanı aracı olarak kullanılan PSA değerleri değerlendirilmiştir. PSA değerleri öncelikle BPH ve prostat kanseri grupları arasında değerlendirilmiş ve anlamlı oranda farklılık tespit edilmiştir. Ayrıca çoklu karşılaştırma analizi

değerlendirildiğinde tüm hasta grupları arasında (BPH-LPCa, BPH-MPCa, LPCa-MPCa) PSA değerleri anlamlı oranda farklı bulunmuştur.

Çalışmamıza dahil edilen hasta gruplarındaki tüm bireylerin PSA değerleri ile gen varyantları arasında ilişki olup olmadığının belirlenmesi için yapılan analizde COX-2 rs689466 polimorfizmi genotip dağılımları ile PSA değerleri arasında anlamlı bir fark belirlenmiştir. Bununla birlikte CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4, NOD1 gen varyantları ile PSA değerleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir.

## **5.2. İnflamatuvar Gen Varyantları**

### **5.2.1. Kemokinler**

Kanser, çok sayıda genetik ve çevresel faktör arasındaki karmaşık etkileşimlerden kaynaklanan çok faktörlü bir hastalıktır. Son yıllarda birçok çalışma, kemokin ve kemokin reseptörlerine ait gen varyantları ile malignite duyarlılığı arasındaki ilişkiye odaklanmıştır (Tong et al., 2016).

Kemokinler ve reseptörleri, bağışıklık hücrelerinin inflamasyon bölgesine göçünün aracıları olarak görev yaptığından ve düzensiz inflamasyon tepkisi, artan kanser riski ile ilişkili olduğundan, kemokin sistemi aynı zamanda dünyadaki prostat kanserinin değişken insidansına da katkıda bulunabilir ve bu malignite için önemli bir risk faktörü olarak düşünülebilir. Prostat kanseri insidansı ve ölüm oranları, Afrikalı-Amerikalı erkeklerde, Avrupalı-Amerikalı erkeklerle karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha yüksektir. Primer prostat tümörü olan hastaların kemokin ekspresyon profillerinin karşılaştırmalı mikro-dizi analizinde CXCR4'ün Afrikalı-Amerikalı hastalarda Avrupalı-Amerikalı hastalara kıyasla daha yüksek seviyelerde ifade edildiği gösterilmiştir (Wallace et al., 2008).

Aşağıda kemokin CCL11, CXCL12 ve kemokin reseptörleri CCR3 ve CXCR4'e ait polimorfizm çalışmaları için literatür verileri tartışılacaktır.

#### **5.2.1.1. CCL11 rs16969415**

İnsan Eotaksin (CCL11) geni, kromozom 17q21'de bulunur. Kemokinlerde C-C motifine sahip ligandlar CCL olarak adlandırılır. CCL kemokin ailesi içinde CCL5, CCL24, CCL26 ve CCL11 bulunur. CCL11 (eotaxin-1), CCL24 (eotaxin-2) ve CCL26 (eotaxin-3) de güçlü eozinofil kemoatraktanlarıdır (Raby et al., 2006).

rs16969415 SNP'i CCL11 geninin -426. pozisyonunda promotör bölgesinde bulunur, burada C/T pirimidik bazları arasında bir değişim meydana gelir. Yapılan literatür incelemeleri sonucunda prostat kanseri ile CCL11 geni rs16969415 polimorfizminin prostat kanseri ile ilişkilendirildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca kanser ile rs16969415 genetik varyantının ilişkilendirildiği çalışmalar tarandığında CCL11 genine ait bu varyantın astım gibi pulmoner hastalıklarla ilişkilendirildiği belirlenmiştir (Raby et al., 2006).

CCL11 gen polimorfizmleri literatürde sıklıkla solunum komplikasyonları ile ilişkilendirilmiştir. Penteado ve arkadaşları tarafından Brezilya popülasyonunda yürütölen çalışmada dünyada en yaygın kalıtsal genetik bozukluk olan Orak Hücreli Anemi (SCA) ile CCL11 (Eotaxin-1) ve CCL5 (RANTES) gen polimorfizmleri arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. SCA'da akciğerler en çok etkilenen organlardan biridir ve SCA'nın sonuçları pediyatrik hastalarda önemli morbidite ve mortalite oranlarına neden olur. Pulmoner komplikasyonlar çok faktörlüdür ve genetik polimorfizmlerden etkilenir. CCL11 ve RANTES, eozinofillerin kan damarlarından akciğerlere alınmasında rol oynayan CC kemokin ailesinin üyeleridir ve solunum yolunun inflamatuvar hastalıklarında çok önemli bir role sahiptir. Bu çalışmada CCL11 geninin promotör bölgesinde bulunan rs16969415 polimorfizmi (-426 C/T) PCR-RFLP yöntemi ile incelenmiştir. Analiz edilen 159 hastanın, %87,4'ünün yabancı homozigot (CC) genotipe (139/159) ve % 12.5'inin heterozigot (CT) (20/159) genotipe sahip olduğu tespit edilmiştir (Corrêa, 2013; Kang et al., 2018).

İmmünolojik değişiklikler ve inflamatuvar yanıt düzensizliğinin şizofreni patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığı düşünölmektedir. Literatürde kemokinlerin beyin gelişiminde rol oynadığı belirtilmektedir, bu nedenle birçok kemokin şizofreni ile ilişkili olarak incelenmiştir. CCL11'in sinaptik plastisite ve nöroenez ile ilişkili olduğu yapılan çalışmalarda belirlenmiştir. Ayrıca, şizofreni hastalarında değişmiş CCL11 seviyeleri gözlemlenmiştir. Kang ve arkadaşları tarafından 2018 yılında yapılan çalışmada; CCL11'in promotör bölgesindeki SNP'lerin şizofreniye yatkınlığa katkıda bulunup bulunmadığı incelenmiştir. Dört promotör SNP [rs17809012 (-384T>C), rs16969415 (-426C>T), rs17735961 (-488C>A) ve rs4795896 (576G>A)], 254 şizofreni hastasında ve 405 kontrol örneğinde genotiplendirilmiştir. Sonuç olarak; CCL11 promotör polimorfizmlerinin Kore popölasyonunda şizofreni gelişimi için artmış risk ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. şizofreni hastalarında ve kontrol

örneklerinde CCL11 rs16969415 polimorfizminin genotip ve alel frekansları değerlendirildiğinde dominant model (CT/TT vs. CC) için anlamlı bir fark bulunamazken, resesif model (TT vs. CC/CT) için istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir. rs16969415 (-426C> T) şizofreni ile ilişkili bulunmamasına rağmen, bu SNP şizofreninin klinik semptomları ile bir ilişki göstermiştir. rs16969415 polimorfizmi genotip frekansları, zayıf konsantrasyon, işitsel halüsinasyon ve kötülük görme kuruntusu olan şizofreni hastalarında dominant lojistik regresyon analiz modellerinde (CT/TT'ye karşı CC) önemli farklılıklar göstermiştir. Çalışma sonuçları, rs16969415 SNP'inin şizofreninin spesifik klinik semptomları ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Kang et al., 2018).

Kemokinlerin ayrıca yağ dokusunda kronik inflamasyonun, obezite patogenezinin, glukoz intoleransının ve tip 2 diyabetin gelişiminde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Kemokin genlerindeki bazı SNP'lerin farklı etnik gruplarda obezite, insülin direnci, tip 2 diyabet ve diyabet komplikasyonları ile ilişkili olduğu da belirlenmiştir. Kochetova ve arkadaşları tarafından 2019 yılında yürütülen ve kemokin genlerindeki SNP'ler ile tip 2 diyabet arasındaki ilişkileri belirlemeyi amaçlayan bir çalışmada yapılan regresyon analizi sonucu, CCL11'deki rs16969415'in tip 2 diyabetin başlangıç yaşı, süresi ve HbA1c seviyesi ile ilişkili olduğu ortaya koyulmuştur (Kochetova, Avzaletdinova, Morugova, & Mustafina, 2019).

Çalışmamız literatürde CCL11 geni rs16969415 polimorfizminin prostat kanseri ile ilişkilendirildiği ilk çalışmadır. Çalışmamızda değerlendirilen tüm gruplar arasında CCL11 geni rs16969415 varyantı genotip ve allel frekansları açısından anlamlı bir fark belirlenememiştir. Ayrıca bu varyanta ait genotipler ile çalışmamızda incelenen serum protein seviyeleri arasında da anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

#### **5.2.1.2. CCR3 rs4987053**

Kemokin reseptörü CCR3'ü kodlayan gen, kromozom 3p21.3 üzerinde bulunur. CCR3, eotaksin, RANTES ve MCP-2 gibi çeşitli kemokinler için bir reseptördür ve ağırlıklı olarak eozinofiller, bazofiller ve T yardımcı 2 (Th2) lenfositleri üzerinde eksprese edilir. rs4987053 polimorfizmi CCR3 geninin ekson 3 ve amino asit pozisyonu 17'de (Y17Y) bulunan sinonim bir SNP'tir (Fukunaga et al., 2001). Bu SNP'in inflamatuvar hastalıklarla ilişkisinin incelendiği birkaç çalışma bulunmaktadır.

Fukunga ve arkadaşları CCR3 genine ait üç polimorfizm ve astım arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışma yürütmüşlerdir. Bu polimorfizmler 391 Japon (210 astımlı ve 181 astımlı olmayan kontrol) ve 234 İngiliz (142 astımlı ve 92 astımlı olmayan kontrol) bireyde incelenmiştir. CCR3 rs4987053 polimorfizmi, İngiliz popülasyonunda astım tanısı ile önemli bir ilişki gösterirken, Japon popülasyonunda ilişki gözlenmemiştir (Fukunaga et al., 2001).

Breunis ve arkadaşları tarafından Kawasaki hastalığı için yürütülen benzer bir vaka kontrol çalışmasında ise, kemokin reseptör genleri CCR3, CCR2, CCR5, CX3CR1, CXCR1 ve CXCR2'deki yaygın genetik varyantlar analiz edilmiştir. CCR3–CCR2–CCR5 gen kümesinde incelenen sekiz SNP'ten dördü, KD'ye duyarlılıkla önemli bir ilişki göstermiştir. Ancak CCR3 genindeki rs4987053 SNP'i ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (Breunis et al., 2007).

Goode ve arkadaşları tarafından yumurtalık kanserinde inflamasyon, apoptoz gibi yolaklarla ilgili ortak kalıtsal varyantların incelendiği çalışmada, CCR3 rs4987053 polimorfizminin hastalar ve seröz yumurtalık kanseri olan kadınlar arasında daha zayıf hayatta kalma ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Goode et al., 2010).

Yukarıdaki çalışmalarda belirtildiği üzere CCR3 rs4987053 polimorfizminin çeşitli hastalıklarla ve over kanseri ile ilişkilendirildiği çalışmalar bulunmaktadır. Ancak çalışmamız prostat kanseri ile CCR3 rs4987053 polimorfizmi arasındaki ilişkinin incelendiği ilk çalışmadır. Bizim çalışmamızda ise; CCR3 rs4987053 genotip frekansları tüm gruplar arasında (Kontrol, BPH, LPCa, MPCa) değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Yine non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında da genotip frekansları açısından anlamlı bir fark belirlenmiştir. Ayrıca homozigot, resesif ve dominant modellerde genotip dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Allel frekansları açısından değerlendirildiğinde de, non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında genotip frekansları değerlendirildiğinde anlamlı bir fark belirlenmiştir ve C alleli bulunduran bireylerin prostat kanseri riskinin T aleli bulunduran bireylere göre 1.825 kat arttığı belirlenmiştir. Bulgularımız CCR3 rs4987053 polimorfizminin prostat kanserinin tanısında kullanılabilecek kullanışlı bir biyobelirteç olabileceğini göstermektedir.

### 5.2.1.3. CXCL12 rs1801157

CXC kemokin ligandı 12 (CXCL12) stromal hücreden türetilmiş faktör-1 (SDF-1) geni olarak da bilinir ve CXC kemokin ailesine ait küçük bir kemotaktik sitokindir. SDF-1 geni, kromozom 10q11.1 üzerinde bulunur ve 10 kb'lık alanı kapsar. SDF-1 geni esas olarak bir CXC anjiyojenik kemokini kodlar. SDF-1 kardiyak ve nöronal gelişim, hematopoez, lenfosit ve lökosit trafiğinin düzenlenmesi, kök hücre hareketliliği, neovaskülarizasyon ve tümörigenez gibi birçok temel biyolojik süreçte katkıda bulunur (Zhu et al., 2014). CXCL12'nin kanser oluşumundan önce bile stromal vaskülarizasyon ve anjiyogenezden sorumlu olduğu bildirilmiştir (R  b   & Ghiringhelli, 2020).

SDF-1 rs1801157 polimorfizminin kanser patogenezinde önemli rol oynadığı çalışmalarda belirlenmiştir SDF-1 rs1801157 (G801A) polimorfizmi, SDF-1 geninin 3'-translasyona uğramayan bölgesinin 801. baz çiftinde guanin adenin değişimi ile karakterizedir (G/A). CXCL12 ekspresyonunu up-regüle etme kabiliyetine sahip cis-etkili faktör için bir hedef olarak kabul edilir (Tong et al., 2016).

Hirata ve arkadaşları tarafından y r t len çalışmada CXCL12 rs1801157 ve p53 Arg72Pro polimorfizimleri 167 PCa hastası ve 167 sağlıklı kontrolde genotiplendirilmiştir. Sağlıklı kontrollere kıyasla PCa hastalarında CXCL12 rs1801157 polimorfizminin GA+AA genotipinde önemli bir artış gözlenmiştir. CXCL12 AA genotip sıklığının, lenf nodu metastazı olan hasta grubunda (% 23), metastazı olmayanlara (% 7) kıyasla anlamlı derecede daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu  alışma 2007 yılında yapılmıştır ve CXCL12 rs1801157 polimorfizminin PCa için bir risk faktörü olabileceğini gösteren ilk rapordur (Hirata et al., 2007).

Ancak bu bulguların tersine 2008 yılında Petersen ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada SDF-1 rs1801157 polimorfizmi ve prostat kanseri duyarlılığı arasında bir ilişki tanımlanamamıştır (Petersen et al., 2008).

2016 yılında Tong ve arkadaşları tarafından SDF-1 rs1801157 polimorfizmi ile kanser riski arasındaki ilişkiyi araştıran meta-analiz çalışmasına 17.876 katılımcı dahil edilmiştir. Meta-analiz sonuçları, SDF-1 rs1801157 polimorfizmi ve kanser riski arasında önemli bir ilişki olduğunu göstermiştir. Alt grup analizleri sonucu, SDF-1 rs1801157 polimorfizminin Asyalılar ve Kafkasyalılar arasında kansere duyarlılıkla

ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, SDF-1 rs1801157 polimorfizmi ile farklı kanser türlerine duyarlılık arasında da önemli ilişkiler belirlenmiştir. SDF-1 rs1801157 gen polimorfizminin sadece akciğer ve ürolojik kanser riskiyle ilişkili olduğu doğrulanmıştır. Özetle, bu çalışmada SDF-1 rs1801157 polimorfizminin Asyalılar arasında kanser gelişimi için bir risk faktörü, özellikle de artan ürolojik ve akciğer kanseri riski ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Ancak bu meta analize prostat kanseri ve SDF-1 rs1801157 polimorfizm ilişkisinin incelenebildiği yalnızca 3 çalışma dahil edilebilmiştir. Bu bulgular prostat kanseri ile belirtilen polimorfizm arasındaki ilişkinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma olduğunu göstermektedir (Tong et al., 2016).

Bizim çalışmamızda ise; Petersen ve arkadaşlarının sonuçlarıyla uyumlu olarak CXCL12 rs1801157 varyantına ait genotip ve allel frekansları incelendiğinde prostat kanseri riski ile bu polimorfizm arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

#### **5.2.1.4. CXCR4 rs2228014**

CXCR4, G-protein bağlı reseptörler ailesine ait olan ve işlevini CXCL12 ligandı ile etkileşimi aracılığıyla modüle eden bir transmembran reseptördür. CXCR4, kolorektal, meme ve oral skuamöz hücreli karsinom dahil olmak üzere birçok kanser türünün metastatik süreçlerinde önemli rol oynayabilir. CXCR4'ün CXCL12 tarafından aktivasyonu tümör hücrelerinin göçünü, invazyonunu ve anjiyogenezini indükleyebilir (Zhu et al., 2014).

CXCL12 ve onun reseptörü CXCR4, prostat, akciğer, meme ve glioblastom olmak üzere çeşitli kanserlerin metastazında rol oynayan en belirgin reseptör-ligand çiftlerinden biridir. CXCL12 ve reseptörü CXCR4, PCa hücrelerinin kemik metastazını teşvik etmek için birlikte hareket edebilir. PCa'da CXCR4'ün up-regülasyonu, kanser hücrelerinin invazif kapasitesinde bir artışa yol açabilir, inhibisyonu ise metastatik yeteneklerini azaltabilir. Son çalışmalar, CXCR4'ün sadece terapötik bir hedef değil, aynı zamanda bir prognostik belirteç olarak da hizmet edebileceğini göstermektedir. CXCL12-CXCR4 etkileşimi, PCa'daki metastatik bölgelerde kanser hücrelerinin kolonizasyonunu destekleyebilir. CXCR4'ün up-regülasyonu artmış metastatik aktiviteye yol açabilir (Sbrissa et al., 2019).

Kemokin CXCL12 ve reseptörü CXCR4'ün kanser metastazı ile ilişkili olduğu çalışmalarla belirlenmiştir. CXCL12/CXCR4 etkileşiminin ayrıca PCa metastazında

rol oynadığı gösterilmiştir. SDF-1, kemokinlerin CXC alt ailesine aittir ve stromal hücreler tarafından üretilir. Tek reseptörü CXCR4'ün ekspresyonu düşüktür veya normal prostat epitelinde yoktur. Kanser bölgesinde ise aşırı eksprese edilir ve invazyon ve metastazda önemli bir rol oynar. Sun ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada PCa'da CXCR4 ve CXCL12 ekspresyonu araştırılmış ve CXCR4 ekspresyonunun artmış malignite ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Sun et al., 2003).

İnsan CXCR4 geni, kromozom 2q21 üzerinde bulunur ve CXCR4'ün sinonim polimorfizmi, rs2228014, kodon 138 de sitozin timin (C/T) değişimi ile karakterizedir (Y. Wu et al., 2016).

Wu ve arkadaşları tarafından CXCR4 rs2228014 polimorfizmi ve kanser riskinin incelendiği meta analizde 11 çalışma değerlendirilmiştir. Analize 3684 kanser hastası ve 5114 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Homozigot ve resesif modelde rs2228014 polimorfizmi önemli ölçüde artmış kanser riski ile ilişkilendirilmiştir. CXCR4 genindeki rs2228014 polimorfizminin, özellikle Asya etnik kökeninde artmış kanser riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Y. Wu et al., 2016).

Moleküler epidemiyolojik çalışmalarda, CXCR4'ün yüksek oranda mutasyona uğradığı ve renal hücreli karsinom, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, oral kanser, hepatosellüler karsinom, akut miyeloid lösemi ve meme kanserinde pro-onkojenik bir role sahip olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, diğer çalışmalar rs2228014 polimorfizmi ile endometrial karsinom, mesane kanseri, kronik lenfositik lösemi ve prostat kanseri riski arasında önemli bir ilişki olmadığını göstermiştir (Y. Wu et al., 2016).

İşman ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada, CXCL12 rs1801157 ve CXCR4 rs2228014 polimorfizmleri ile prostat kanserinin duyarlılığı ve klinikopatolojik gelişimi arasındaki ilişki incelenmiştir. Polimorfizmlerin belirlenmesinde PCR-RFLP yöntemi kullanılmıştır ve çalışmaya 149 sağlıklı kontrol ve 152 prostat kanseri hastası dahil edilmiştir. Kontroller ve prostat kanseri hastaları arasında CXCL12 ve CXCR4 genotip dağılımlarında önemli bir fark tespit edilememiştir. CXCL12 geninin AA genotip dağılımının kemik metastazı olan hastalarda kemik metastazı olmayanlara göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda, CXCL12 ve CXCR4 gen polimorfizmlerinin prostat kanserine yatkınlık için risk faktörü olmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, CXCL12 gen

polimorfizminin, Türk erkek popülasyonunda prostat kanserinin ilerlemesi ve kemik metastazı ile ilişkili olabileceği belirlenmiştir (İşman et al., 2012).

Bizim çalışmamızda da, CXCR4 rs2228014 varyantına ait genotip ve allel frekansları değerlendirildiğinde tüm gruplar için prostat kanseri riski ile bu polimorfizm arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Bununla birlikte CXCR4 rs2228014 varyantı genotip frekansları ile LY96 serum seviyesi arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir.

### **5.2.2. Kalıp Tanıma Reseptörleri (PRR)**

PRR'lerin dış alanını oluşturan lösün açısından zengin tekrarlarla bulunan gen polimorfizmleri, reseptörün normalde tanıdıkları patojenlere bağlanma yeteneğini etkileyebilir. Transmembran alandaki SNP'ler, zar üzerinde bir reseptörün bulunmasına izin vermeyen hücre içi reseptör transportunda hatalara yol açabilir. Son olarak, iç alandaki polimorfizmler, adaptör proteinleri ile etkileşimin değişmesine veya dimerizasyonun bozulmasına neden olabilir. Dolayısıyla, PRR'leri kodlayan genlerin kalıtsal SNP'leri PRR ekspresyonunu ve aktivitesini değiştirebilir, çeşitli hastalıkların riskini modüle edebilir ve ilerlemelerini etkileyebilir (Kutikhin & Yuzhalin, 2013).

PRR'leri kodlayan gen polimorfizmleri ve PRR yolağının proteinleri tarafından hastalık riskinin modülasyonu için iki temel mekanizma düşünülebilir. Bunlardan ilki, enfeksiyon riskini artıran ve kronik şekilde gelişimini destekleyen bazı patojenlere (bakteri, virüs, mantar, protozoan ve helmintler olabilir) karşı bağışıklık tepkisinin bozulmasıdır. İkinci mekanizma ise, tehlikeli bir kronik inflamasyon durumu yaratan ligandın (eksojen veya endojen) bağlanmasından sonra proinflamatuvar sitokinlerin üretiminin artmasıdır (Kutikhin & Yuzhalin, 2013).

#### **5.2.2.1. Nod benzeri reseptörler**

Doğuştan gelen bağışıklık sistemi, konakçı hücrenin PRR'leri ile PAMP'ları tanıyarak patojen saldırısına karşı savunma yapar. NLR'ler, eksojen ligandları (PAMP) ve endojen ligandları (DAMP) bağlayan evrimsel olarak korunmuş sitozolik PRR'lerin bir ailesini oluşturur (Ozbayer et al., 2015).

NLR ailesi üyeleri arasında en erken keşfedilenler, kaspaz-1 güçlendirme alanlarını (CARD) içeren ve NF-kB sinyallemesini etkinleştiren sitozolik reseptörler NOD1/CARD4 ve NOD2/CARD15'tir. NOD1/CARD4 ve NOD2/CARD15 ana NLR

ailesi üyeleridir ve inflamatuvar sinyal yollarının aktive edilmesinde önemli rol oynarlar (Ozbayer et al., 2015).

#### **5.2.2.1.1. NOD1/CARD4 rs5743336**

NOD1/CARD4 (aynı zamanda NLRC1 olarak da bilinir) 7p14–15 kromozomunda lokalize olmuştur. Hem epitelyal hem de miyeloid kökenli hücrelerde eksprese edilir ve patojen tanınmasına katkıda bulunur. NOD1 rs5743336 varyasyonu, ekson 3'te 796. konumunda G/A değişimi ile karakterizedir. (Ozbayer et al., 2015).

NLR'ler, sitozolde bulunur, bakteriyel ve viral ligandları bağlarlar. Sitozole ek olarak, NOD1/CARD4 ve NOD2/CARD15, hücre yüzey membranında lokalize olabilirler. Reseptör lokalizasyonu, sinyalizasyonun başlamasını ve ardından NF-kB aktivasyonunu etkileyebilir. NLR gen polimorfizmleri, pro- ve anti-inflamatuvar sitokinler arasındaki dengeyi değiştirebilir ve enfeksiyon, kronik inflamasyon ve kanser riskini modüle edebilir (Ozbayer et al., 2015).

NOD1/CARD4 ve NOD2/CARD15 gen polimorfizmleri de birçok kanser türü için değişen risklerle ilişkilendirilebilir. Özbayer ve arkadaşları tarafından 2015 yılında yürütülen akciğer kanseri riskinde NOD1/CARD4 ve NOD2/CARD15 genetik varyasyonlarının rolünün incelendiği çalışmada, PCR-RFLP yöntemi ile NOD1/CARD4 (rs5743336) ve NOD2/CARD15 (rs2066847) SNP'leri analiz edilmiştir. Akciğer kanseri hastaları ve kontroller arasında NOD1/CARD4'ün rs5743336 varyantının genotip dağılımında anlamlı bir fark tespit edilmiştir (Ozbayer et al., 2015).

Mide kanseri (GC) ve yüksek riskli atrofik gastrit (HRAG) ile ACE, NOD1, TLR4 ve FAS gen polimorfizmlerinin ilişkisini araştırmayı amaçlayan çalışmaya Kafkas kökenli 574 birey (114 GC, 222 HRAG, 238 kontrol) dahil edilmiştir. Gen polimorfizmleri PCR-RFLP metodu ile belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, Kafkas popülasyonunda NOD1 rs5743336 polimorfizmi ile mide kanseri arasında bir ilişki tespit edilememiştir (Kupcinskas et al., 2011).

Kronik inflamasyonun kanser riski ile ilişkili olduğu ve NOD benzeri reseptör sinyalinin çeşitli hastalıklarla ilişkili kronik inflamasyona aracılık ettiği bilinmektedir. NOD1/CARD4 ve NOD2/CARD15'teki genetik varyasyonlar daha önce inflamatuvar bağırsak hastalığı (McGovern et al., 2005), Crohn hastalığı (Hampe et al., 2007;

Molnár et al., 2007), sarkoidoz (Tanabe et al., 2006), Non-Hodgkin lenfoma (Forrest et al., 2006) ve mide kanserinde (Kupcinskas et al., 2011) çalışılmıştır.

Bununla birlikte, çalışmamız, NOD1/CARD4 ve NOD2/CARD15 gen polimorfizmlerinin prostat kanseri riskini etkileyebileceği hipotezini test etmeyi amaçlayan ilk çalışmadır. Bizim çalışma bulgularımıza göre; NOD1/CARD4 rs5743336 polimorfizmi için non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında genotip frekansları arasındaki fark değerlendirildiğinde anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir. Yine prostat kanseri ve kontrol grubu arasında genotip dağılımları ve allel frekansları arasında anlamlı bir fark belirlenmiştir. Ayrıca heterozigot, homozigot ve dominant modelde genotip dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur.

#### **5.2.2.1.2. NOD2/CARD15 rs2066847**

NOD2 geni kromozomun 16q12 pozisyonunda bulunmaktadır. 12 eksondan ve sitozolik bir protein olan ürünü 1.040 amino asitten oluşur. NOD2/CARD15 (aynı zamanda NLRC2 olarak da bilinir) esas olarak miyeloid hücreler tarafından eksprese edilir. Patojenik organizmalara karşı immün yanıtta işlev görür. NOD2 proteini, bağışıklık sistemi işlevinde önemli bir rol oynar. Vücudu virüsler ve bakteriler gibi yabancı istilacılara karşı korumaya yardımcı olan bazı bağışıklık sistemi hücrelerinde (monositler, makrofajlar ve dendritik hücreler) aktiftir. NOD2, inflamatuvar yanıtta ve NF-kB yolağının aktivasyonunda rol oynar (Huszno et al., 2017).

NLR'ler ile ilgili olarak, üç bağımsız ana **NOD2/CARD15** gen polimorfizmi vardır. Bunlardan, **rs2066847** SNP'i erken bir durdurma kodonu ile sonuçlanan çerçeve kayması mutasyonudur ve kesilmiş protein sentezi ile sonuçlanır (Kutikhin & Yuzhalin, 2013).

2001–2003 yılları arasında rs2066847'nin insersiyon aleli ile Crohn hastalığı (CD) riskinin artması arasındaki bağlantı keşfedilmiştir. Sonraki iki yıl içinde NOD2/CARD15 rs2066847 insersiyon allelinin daha yüksek ülseratif kolit (UC) riski ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Hem UC hem de CD'nin artmış kolorektal kanser (CRC) riski ile bağlantılı olduğu bilindiği için, Kurzawski ve arkadaşları NOD2/CARD15 gen polimorfizmlerinin CRC riskinin değişmesi ile ilişkili olabileceğini düşünmüş ve bu konuya ilişkin ilk popülasyon çalışmasını gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda, rs2066847'nin insersiyon alelinin 50 yaşın

üzerindeki hastalarda daha yüksek CRC riski ile ilişkili olduğu ve bu allelin bu yaştan sonra CRC riskini artırabileceği sonucuna varılmıştır (Kurzawski et al., 2004).

Yukarıdaki çalışmada da belirtildiği üzere, NOD2 geni Crohn hastalığına duyarlılıkla ilişkilendirilmiştir. Crohn hastalığı olan kişiler, çoğu organ bölgesinde kanser için yüksek risk altındadır. Lubiński ve arkadaşları tarafından Polonyalı 2604 kanser hastası ve 1910 kontrol birey arasında NOD2 geninin 3020insC aleli ile kanser arasındaki ilişki incelenmiştir. Çalışma sonucunda, kolon kanseri, akciğer kanseri ve yumurtalık kanseri için önemli ilişkiler bulunmuştur. Ayrıca, NOD2 3020insC alelinin Polonyalı bireyler arasında nispeten yaygın olduğu (% 7,3) ve kanser vakalarının önemli bir kısmından sorumlu olabileceği belirlenmiştir (Lubiński et al., 2005).

Ancak bu bulguların tersine, Özbayer ve arkadaşları tarafından 2015 yılında yürütülen akciğer kanseri riskinde NOD1/CARD4 ve NOD2/CARD15 genetik varyasyonlarının rolünün incelendiği çalışmada, hasta ve kontrol bireylerde toplamda 3 adet İnsC alleli tespit edilmiş ve NOD2/CARD15'in rs2066847 genotipi ile akciğer kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenememiştir (Ozbayer et al., 2015).

Kolorektal kanser çalışmasında 50 yaşın üstündeki hastalarda rs2066847'nin insersiyon alelinin yüksek CRC riski ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Kurzawski et al., 2004). Prostat kanseri riski de yaşla birlikte arttığından ve NOD2/CARD15 rs2066847 SNP'i ile prostat kanseri riski arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışma literatürde bulunmadığından çalışmamızda bu genetik varyant ile prostat kanseri riski arasındaki ilişki incelenmiştir. Çalışmamız sonucunda tüm hasta ve kontrol bireylerin atasal tip allele sahip olduğu gözlenmiştir. NOD2/CARD15 rs2066847 polimorfizmi ile prostat kanseri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir.

#### **5.2.2.2. Toll-benzeri reseptörler**

Prostat kanserinde TLR'lerin işlevi ve biyolojik önemi karmaşık görünmektedir. Muhtemelen farklı ve tanımlanmamış TLR sinyal yolları, kanser hücrelerinde veya tümör ilerlemesi sırasında doğuştan gelen bağışıklık hücrelerinde aktive edilir. Prostat kanseri hücrelerinde TLR2, 4 ve 9'un aktivasyonları, tümör büyümesini teşvik ediyor gibi görünmektedir, ancak TLR3, 5, 7'nin aktivasyonu prostat kanserini inhibe edebilir. TLR4 bazı durumlarda tümör büyümesini teşvik ederken, bazı durumlarda inhibe etmektedir. Bunun sebebi TLR4 geni üzerindeki tek nükleotid polimorfizmleri

ve bunun sonucu olarak TLR4 ekspresyonu ve protein seviyesinde meydana gelen değişiklikler olabilir. TLR gen polimorfizmleri TLR sinyalinin değiştirebilir, dolayısıyla inflamasyonu ve prostat kanseri riskini etkileyebilir. TLR genlerindeki polimorfizmlerin, enfeksiyöz ve inflamatuvar hastalıklara duyarlılıkla ilişkili olduğu bildirilmektedir (S. Zhao et al., 2014).

#### **5.2.2.2.1. TLR4 rs4986791**

TLR4 geni üzerinde sinonim olmayan polimorfizm; rs4986791 (1196 C/T) dördüncü eksonda yer alır, TLR4'ün hücre dışı alanını etkiler ve sitozin-timin (C/T) değişimine neden olur. Bu da 399. konumda treonin yerine izolösin (Thr399Ile) amino asit değişimi ile sonuçlanır. Bu değişiklikler de ligand bağlayıcı reseptör alanında değişikliğe yol açar. TLR4 geninde meydana gelen bu fonksiyonel polimorfizm TLR4'ün LPS (ligand) ile etkileşimini modüle edebilir (Ferwerda et al., 2008).

Kronik inflamasyonun prostat karsinogenezinde anahtar rol oynadığı, dolayısıyla pro-inflamatuvar genlerdeki yaygın SNP'lerin PCa riski ile potansiyel olarak ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Balistreri ve arkadaşları tarafından PCa'nin hem önlenmesi hem de tedavisi için yeni stratejiler geliştirmek için deneysel bir temel olarak aday genleri belirlemek amacıyla yürütülen çalışmada, TLR4 geni üzerindeki Asp299Gly ve Thr399Ile polimorfizmleri hasta ve kontrol bireyler arasında değerlendirilmiştir. Sicilyalı popülasyonunda TLR4 Asp299Gly ve Thr399Ile polimorfizmleri ile prostat kanseri riski arasında önemli bir ilişki tespit edilememiştir (Balistreri et al., 2010).

Değirmenci ve arkadaşları tarafından, 2019 yılında, Tip 2 diyabet ve inflamatuvar yolakta etkili IRAK1, TRAP gen varyantları ve TLR4 geni üzerinde bulunan rs4986790, rs4986791 polimorfizmleri ve bu varyantların inflamatuvar faktörleri (TNF- $\alpha$ , IL-6, MCP-1 ve IL-1 $\beta$ ) nasıl etkilediğini araştırmayı amaçlayan bir çalışma yürütülmüştür. TLR4 rs4986790 ve rs4986791 varyasyonları, PCR-RFLP yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda TLR4, IRAK1 ve TIRAP gen varyantları ile tip 2 diyabet riski ve insülin direnci arasında ilişki tespit edilememiştir. Ancak, TNF- $\alpha$ , IL-6, MCP-1 ve IL-1 $\beta$  seviyelerinin diyabet ve insülin direnci ile de ilişkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, Tip 2 diyabet ve insülin direnci gruplarında gen varyantları anlamlı olmamasına rağmen, IRAK1, TLR4 ve TIRAP gen varyantlarının TNF- $\alpha$ , IL-

6, MCP-1 ve IL-1 $\beta$  serum seviyeleri ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Degirmenci et al., 2019).

Bizim çalışmamız sonucunda da tüm kontrol bireylerin atasal tip genotipe sahip olduğu (CC) ve hasta bireylerin de tamamına yakınının (1 CT, 1 TT) atasal tip allele sahip olduğu gözlenmiştir. Bizim bulgularımıza göre de yukarıdaki çalışmalarla benzer olarak TLR4 rs4986791 polimorfizmi ile prostat kanseri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir.

### **5.2.3. Siklooksijenazlar**

#### **5.2.3.1. COX-2 rs689466**

İnsan COX-2'yi kodlayan gen, kromozom 1q25.2-q25.3 üzerinde bulunan 10 eksonlu 8 kb'lik bir gendir. rs689466 SNP'i, COX2 promotöründe -1195. (-1195G/A) pozisyonda yer alır (W. Wang & Wang, 2018).

Siklooksijenaz 2 (COX-2), araşidonik asidi güçlü inflamasyon araçları olan prostaglandinlere dönüştüren ana enzimdir. Steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler) COX-2'nin enzimatik aktivitesini inhibe eder ve NSAID'lerin uzun süreli kullanımının prostat kanseri riskini orta derecede düşürdüğü gösterilmiştir. Bu bilgiler ışığında Cheng ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada COX-2 geni üzerindeki yaygın genetik varyasyonların ilerlemiş prostat kanseri riskini etkileyip etkilemediği araştırılmıştır. COX-2 geninde bulunan rs689466'nın da içinde bulunduğu 9 SNP, ileri prostat kanseri vaka-kontrol çalışmasında 1012 erkek arasında genotiplendirilmiştir. İlk olarak, 506 ileri vaka ve 506 kontrol içeren çalışmada COX-2 SNP'leri ile prostat kanseri riski arasındaki ilişki test edilmiştir. Üç SNP'in (rs2745557, rs2206593 ve rs689470) prostat kanseri riski ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde ilişkili olduğu bulunurken, rs689466 polimorfizmi ile prostat kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Cheng et al., 2007).

Wu ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, prostat tümörlerinde aşırı eksprese edildiği bildirilen COX-2 genindeki polimorfik genotiplerin prostat kanseri ile ilişkisi değerlendirilmiştir. COX-2'nin altı polimorfik varyantı (rs689466, rs20417, rs5275, rs2745557, rs16825748, rs2066826) prostat kanseri duyarlılığı ile ilişkileri açısından analiz edilmiştir. İncelenen altı polimorfik bölge arasında sadece COX-2 promotörü rs14133 genotiplerinin prostat kanseri ve kontrol grupları arasında farklı

şekilde dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Diğer polimorfizmler için ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (H.-C. Wu et al., 2011).

Sugie ve arkadaşları tarafından 2014 yılında, COX-2 rs689466 polimorfizmi ile prostat kanseri riski arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışma yürütülmüştür. Çalışmaya 134 prostat kanseri hastası ve 86 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. COX-2 rs689466 polimorfizminin değerlendirilmesinde PCR-RFLP metodu kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, COX-2 rs689465 polimorfizmi genotip dağılımları ve allel frekanslarının prostat kanseri ve kontrol grupları arasında önemli ölçüde farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışma yukarıdaki çalışmanın aksine, COX-2 rs689466 varyantı ile prostat kanseri riski arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (Sugie et al., 2014).

Çalışmalardan da görüleceği üzere polimorfizmler farklı toplumlar için farklılık gösterebilmektedir. Literatür bilgileri tarandığında ülkemizde COX-2 rs689466 polimorfizminin çeşitli hastalıklarla ilişkilendirildiği çalışmalar bulunmaktadır. Ancak çalışmamız Türk toplumunda COX-2 rs689466 polimorfizminin prostat kanseri ile ilişkisinin incelendiği ilk çalışmadır. Çalışma sonuçlarımıza göre; COX-2 rs689466 (1195 G/A) genotip frekansları değerlendirildiğinde tüm gruplar arasında (Kontrol, BPH, LPCa, MPCa) ve non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında genotip frekansları arasında önemli derecede anlamlı bir fark belirlenmiştir. Yine heterozigot ve dominant modelde genotip dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Allel frekansları açısından değerlendirildiğinde de non-kanseröz grup (Kontrol, BPH) ve prostat kanseri grubu (LPCa, MPCa) arasında önemli oranda anlamlı fark gözlenmiştir. G alleli bulunduran bireylerin prostat kanseri riskinin A aleli bulunduran bireylere göre 3.934 kat arttığı belirlenmiştir. Tüm bu sonuçlara ek olarak çalışmamıza dahil edilen hasta gruplarındaki tüm bireylerin PSA değerleri ile gen varyantları arasında ilişki olup olmadığının belirlenmesi için yapılan analizde COX-2 rs689466 polimorfizmi genotip dağılımları ile PSA değerleri arasında anlamlı bir fark belirlenmiştir. IL-1 $\beta$  serum seviyeleri ile COX-2 rs689466 varyantı genotip dağılımları arasında da anlamlı bir fark saptanmıştır. COX-2 rs689466 varyantı için AG genotipi bulunduran bireylerde AA genotipi bulunduran bireylere kıyasla IL-1 $\beta$  serum seviyelerinin önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. Bulgularımız COX-2 geni rs689466 polimorfizmin Türk

toplumunda prostat kanseri tanısında kullanışlı bir biyobelirteç olabileceğini göstermektedir.

### **5.3. İnflamatuar Protein Seviyeleri**

2019 yılında yapılan bir çalışmada, sitokin ailesine ait IL-6'nın prostat kanseri patogenezindeki rolü değerlendirilmiş ve serum IL-6 seviyeleri, serum PSA seviyeleri ile uyumlu olarak PCa ile ilişkilendirilmiştir (Taheri et al., 2019). Bizim çalışmamızda da inflammatuar yolakta etkili olduğu bilinen ve literatür taramaları sonucu sıkça çalışılmadıkları belirlenen 3 proteinin (IL-1 $\beta$ , TLR4 ve LY-96) serum seviyeleri Elisa kiti kullanılarak belirlenmiş ve PCa riski ile ilişkileri değerlendirilmiştir ve 3 protein için de yapılan analizlerde tüm gruplar arasında anlamlı fark belirlenmiştir.

#### **5.3.1. IL-1 $\beta$**

Sitokin aracılı immün ve inflammatuar yanıtların, prostat kanseri patogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. İnterlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), inflamasyon ve bağışıklıkta rol oynayan interlökin-1 ailesinin 17 kDa'lık bir sitokin üyesidir. B lenfositler, makrofajlar, endotel hücreleri, fibroblastlar, dendritik hücreler tarafından üretilir. IL-1 $\beta$  polimorfizmleri, mide kanseri (El-Omar et al., 2000), hepatosellüler karsinom (Y. Wang et al., 2003) ve akciğer kanseri (Zienolddiny et al., 2004) gibi çeşitli kötü huylu tümör türleriyle de ilişkilendirilmiştir. IL-1 $\beta$  gen polimorfizmleri, yabancı tip gen ile karşılaştırıldığında IL-1 $\beta$  üretiminde bir artışla ilişkilidir (Yencilek et al., 2015). Kanser hastalarında tespit edilen IL-1 $\beta$  polimorfizmleri serum IL-1 $\beta$  seviyelerinin de yüksek seyretmesine neden olabilir.

Yencilek ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada Türk popülasyonunda IL1 $\beta$  -511'in (rs16944) genotipik frekansları prostat kanseri hastaları ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık gösterdiği belirlenmiştir (Yencilek et al., 2015).

Prostat kanseri hastalarında direkt olarak serum IL-1 $\beta$  seviyelerinin değerlendirildiği bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Ancak 2018 yılında, prostat kanseri radyoterapisinde akut/geç rektal toksisite ile radyoterapi öncesi abdominal cerrahinin varlığı arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada önceki bir ameliyatın inflammatuar moleküllerin plazma düzeyini etkileyebileceği ve bunun radyosensitivitede artışa neden olabileceği öngörülmüştür. İnflamatuar yanıt ile ilişkili moleküllerden 3 sitokin (IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF alfa), 2 kemokin (CCL2 ve CXCL8)

plazma seviyeleri, radikal radyoterapi gören prostat kanseri hastalarında ölçülmüştür. IL-1 $\beta$ , IL-6, CXCL8, TNF alfa, CCL2 ve PTX3 miktarları, uygun Elisa kitleri kullanılarak belirlenmiştir. İnflamatuar moleküllerden, IL-1 $\beta$  ve IL-6, çoğu hastada tespit edilememiştir ve hastalar arasında çok düşük değişkenlik göstermiştir (Bedini et al., 2018).

IL-1 $\beta$ , prostat kanserinde hem pro-tümör hem de anti-tümör özellik gösterebilir. Bu özellikleri etkileştiği moleküler ve onların hücre içi seviyeleriyle ilişkilidir. IL-1 $\beta$ , IL-6 aracılığıyla normal fibroblastlar ile ortak kültürle güçlendirilmiş prostat kanseri hücreleri üzerinde çoğalmayı önleyici bir etkiye sahiptir. Yine, in vitro monositten türetilmiş IL-1 $\beta$ , prostat kanseri hücrelerinin proliferasyonunu inhibe eder veya apoptozu indükler (Rébé & Ghiringhelli, 2020).

IL-1 $\beta$ , ayrıca birkaç yolla prostat tümörünün ilerlemesini indükleyebilir. IL-1 $\beta$ , NF- $\kappa$ B aracılığıyla, prostat kanseri malignitesinden sorumlu olan ve hastalar için kötü prognozla ilişkilendirilen iki ETS ailesi üyesinin aktivasyonunu indükler. IL-1 $\beta$  ayrıca prostat tümörünün ilerlemesinde rol oynayan endotelin 1 (ET-1) ekspresyonunu da indükleyebilir. Son olarak IL-1 $\beta$ , kanser ilerlemesinde rol oynayan bir metalloproteaz olan matrisinin ekspresyonunu indükleyebileceği insan LNCaP prostat kanseri hücrelerinde gösterilmiştir. IL-1 $\beta$  için yüksek skor değerleri veya interferon (IFN) için düşük skor değerleri (immünohistokimyal ölçümler) prostat kanserinin biyokimyasal nüksü ile önemli ölçüde ilişkili bulunmuştur (Rébé & Ghiringhelli, 2020).

Bizim çalışmamızda ise inflammatuar yolda etkili olan ve daha önce ekspresyon seviyeleri ve genetik polimorfizmleri çeşitli kanserlerle ilişkilendirilen IL-1 $\beta$ 'nın serum seviyesi kontrol, BPH ve prostat kanseri hastalarında değerlendirilmiştir. Çalışmamız sonucunda; serum IL-1 $\beta$  düzeyleri tüm gruplar arasında (Kontrol, BPH, LPCa, MPCa) değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlenmiştir. Ayrıca tüm gruplar için kendi aralarında yapılan çoklu karşılaştırma sonuçlarına göre; kontrol grubu ile BPH, LPCa ve MPCa grupları IL-1 $\beta$  düzeyleri karşılaştırıldığında ikili grupların tamamında anlamlı bir fark tespit edilmiştir. IL-1 $\beta$  düzeylerinin kontrol grubunda tüm hasta gruplarına göre anlamlı oranda düşük olduğu belirlenmiştir.

### 5.3.2. LY96

Lenfosit antijen 96 (LY96, MD2) bir ko-reseptördür ve TLR4 ile bir kompleks oluşturur. LPS, TLR4-MD2 kompleksinin her iki üyesi ile etkileşime girer, oligomerizasyonu ve homodimer oluşumunu tetikler, bu da NF- $\kappa$ B aktivasyonuna ve pro-inflamatuar sitokinlerin üretimine neden olan bir sinyal zincirini başlatır (Traka, Melchini, & Mithen, 2014).

Prostat kansinomu, oldukça heterojen bir hastalıktır. Halvorsen ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada prostat kanserinde farklı şekilde ifade edilen genleri DNA mikrodizi analizi ile tespit etmek ve eşleşen benign ve malign doku çiftlerinde ifade profillerini değerlendirmek amaçlanmıştır. Çalışmaya, 33 radikal prostatektomiden, 29 primer tümör, 19 çift malign ve benign doku örneği ve 4 eşleşmemiş benign doku örneğini içeren 52 örnek dahil edilmiştir. Çalışma sonunda LY96 geninin iyi huylu dokuya kıyasla 29 lokalize prostat kanserinde down-regüle olduğu gösterilmiştir (Halvorsen et al., 2005).

İnsan metastatik prostat kanseri PC3 hücrelerinde TLR ilişkili CD14, MD2 ve Myd88 protein seviyeleri western blot ile değerlendirildiğinde protein seviyelerinin arttığı belirlenmiştir (Hua et al., 2009).

Bizim çalışmamızda serum LY96 düzeyleri tüm gruplar arasında (Kontrol, BPH, LPCa, MPCa) değerlendirilmiştir ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Çoklu karşılaştırma sonuçlarına göre ise; kontrol grubu ile BPH ve MPCa grubu arasında anlamlı fark bulunurken, kontrol grubu ile LPCa grupları arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Ayrıca LPCa ve MPCa grupları arasında serum LY96 düzeyleri değerlendirildiğinde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

### 5.3.3. TLR4

Kronik inflammatuar hastalıkların birçoğu TLR sinyali ile kanser gelişimine katkıda bulunur. Birçok çalışmada, farklı tümör hücrelerinde TLR ekspresyonunun artığı bildirilmiştir. İnflamatuar hücrelerden salınan çeşitli endojen TLR ligandları, sitokinlerin ekspresyonu, büyüme faktörleri, anjiyogenik faktörler ve ekstraselüler matriksi parçalayan proteazlar ile prekanseröz hücrelerde TLR sinyal yollarını aktive eder. Böylece, TLR kanserin gelişmesini ve ilerlemesini destekleyen mikroçevresel koşulları tetikler (Kurt et al., 2016).

TLR'ler kolorektal kanser (CRC) patogenezinde rol oynar. Ancak, CRC'de serum TLR konsantrasyonlarının önemi bilinmemektedir. Paarnio ve arkadaşları tarafından 2019 yılında gerçekleştirilen çalışmada CRC'li 118 hasta ve 88 kontrolden alınan preoperatif örneklerde serum TLR2 ve TLR4 konsantrasyonları Elisa ile analiz edilmiştir. Ayrıca doku TLR ekspresyonu immünohistokimya ile değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, hastalarda ortalama serum TLR4 seviyeleri kontrollere göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, tümör hücrelerinde TLR2 veya TLR4 ekspresyonunun, serum seviyeleri ile korelasyon göstermediği belirtilmiştir (Paarnio et al., 2019).

Değirmenci ve arkadaşları tarafından, 2019 yılında, Tip 2 diyabet ve inflamatuvar yolakta etkili IRAK1, TRAP gen varyantları ve TLR4 geni üzerinde bulunan rs4986790, rs4986791 polimorfizmleri ve bu varyantların inflamatuvar faktörleri (TNF- $\alpha$ , IL-6, MCP-1 ve IL-1 $\beta$ ) nasıl etkilediğini araştırmayı amaçlayan bir çalışma yürütülmüştür. Serum IL-1 $\beta$ , IL6, MCP-1 ve TNF- $\alpha$  seviyeleri, Elisa kitleri kullanılarak ölçülmüştür. Çalışma sonucunda TLR4, IRAK1 ve TIRAP gen varyantları ile tip 2 diyabet riski ve insülin direnci arasında ilişki tespit edilememiştir. Ancak, TNF- $\alpha$ , IL-6, MCP-1 ve IL-1 $\beta$  seviyelerinin diyabet ve insülin direnci ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, Tip 2 diyabet ve insülin direnci gruplarında gen varyantları anlamlı olmamasına rağmen, IRAK1, TLR4 ve TIRAP gen varyantlarının TNF- $\alpha$ , IL-6, MCP-1 ve IL-1 $\beta$  serum seviyeleri ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Degirmenci et al., 2019).

Bizim çalışmamız sonucunda serum TLR4 düzeyleri tüm gruplar arasında (Kontrol, BPH, LPCa, MPCa) istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur. Ayrıca tüm grupların ikişerli kombinasyonları ile yapılan çoklu karşılaştırma sonuçlarına göre; kontrol grubu ile BPH ve LPCa grubu arasında anlamlı fark bulunurken, kontrol grubu MPCa grubu arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Bununla birlikte LPCa ve MPCa grupları arasında serum TLR4 düzeyleri değerlendirildiğinde anlamlı farklılık saptanmıştır.

Çalışmamızda ayrıca çalışmamıza dahil edilen tüm bireylerde CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4, NOD1 ve COX-2 gen polimorfizmleri genotip dağılımları ile serum IL-1 $\beta$ , LY96 ve TLR4 düzeyleri arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda TLR4 serum seviyesi ile incelenen gen varyantları genotip dağılımları arasında fark bulunamazken, COX-2 rs689466 varyantı ile IL-1 $\beta$

serum seviyeleri, CXCR4 ve NOD1 varyantları ile LY96 serum seviyeleri arasında anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır.



## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

- Prostat kanseri, özellikle yaşlı erkekleri etkileyen, erkeklerde en sık görülen ikinci kanserdir. Yeni vaka sayısı bakımından dünyadaki en yaygın altıncı kanserdir. Prostat kanserinin oluşumunda diğer kanser tiplerinde olduğu gibi büyüme, farklılaşma, çoğalma, apoptoz ve inflamasyon gibi hücrel aktiviteyi düzenleyen proteinlerin bozulması veya bu proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonlardan dolayı proteinlerin işlevini yitirmesi rol oynamaktadır. Prostat kanseri ve karsinogenezle ilgili araştırmalara her gün bir yenisi eklenmekte olup, hastalığın moleküler nedenlerinin belirlenmesi günümüz kanser araştırmalarının ana hedefidir.

- Biz de araştırmamızda prostat kanseri ile inflamatuvar süreçte etkili olan kemokinler (CCL11, CCR3, CXCL12, CXCR4), kalıp tanıma reseptörleri (NOD1, NOD2, TLR4) ve sikloksijenaz (COX-2) genlerine ait 8 SNP arasındaki ilişkiyi ve inflamatuvar süreçte görevli TLR4, LY96, IL-1 $\beta$  proteinlerinin serum seviyelerinin prostat kanseri riski ile ilişkisini belirlemeyi amaçladık.

- Polimorfizm çalışmaları sonucunda; değerlendirilen tüm gruplar arasında yapılan analizlerde (Non-kanseröz/Prostat kanseri, Prostat kanseri/Kontrol, Tüm gruplar: Kontrol/BPH/LPCa/MPCa) **CCR3 rs4987053** ve **COX-2 rs689466** varyantları genotip dağılımları ve allel frekansları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmiştir. Prostat kanseri ve kontrol grubu arasında COX-2 rs689466 varyantı için heterozigot ve dominant modelde, CCR3 rs4987053 varyantı için de homozigot, resesif ve dominant modellerde genotip dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir.

- Ayrıca **NOD1 rs5743336** polimorfizmi genotip frekansları non-kanseröz grup ve prostat kanseri grubu arasında anlamlı fark belirlenmiştir. NOD1 rs5743336 varyantı için prostat kanseri ve kontrol grubu arasında genotip dağılımları ve allel frekansları arasında, ayrıca heterozigot, homozigot ve dominant modelde genotip dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir.

-Özellikle COX-2 rs689466 varyantı bütün gruplarda önemli oranda farklılıklar göstermiştir, allel frekansları için non-kanseröz ve prostat kanseri grupları arasında yapılan değerlendirmede G alleli bulduran bireylerin prostat kanseri riskinin A alleli bulduran bireylere göre 3.934 kat arttığı belirlenmiştir.

- CCR3 rs4987053 varyantı için de C alleli bulduran bireylerin prostat kanseri riskinin T alleli bulduran bireylere göre 1.825 kat arttığı tespit edilmiştir. Bu

sonuçlara dayanarak **CCR3 rs4987053**, **COX-2 rs689466** ve **NOD1 rs5743336** polimorfizmlerinin Türk toplumunda prostat kanseri için önemli prognostik belirteçler olabileceği düşünülmektedir.

- SNP'lerin kansere yatkınlıkla sonuçlanan etkilerinin altında yatan mekanizmaları anlamak, çeşitli kanserlerin moleküler patogenezini anlamak için çok önemlidir. Klinik açıdan, SNP'ler birçok kanser türünde potansiyel tanısal ve terapötik biyobelirteçlerdir. Yapılan çalışmalarda da görüldüğü gibi, bir SNP bir hastalık türü için risk faktörü iken diğer hastalıkla ilişkili bulunmayabilir. Ayrıca bir SNP bir kanser türü için risk faktörü iken, aynı SNP diğer kanser türü için koruyucu olabilmektedir. SNP'ler aynı hastalık için popülasyonlar arasında da farklılık gösterebilmektedir. Bu nedenle hastalık riskini belirlemede tanı aracı olarak kullanılabilir bu belirteçlerle yapılacak çalışmalar literatüre zengin bir bilgi kaynağı olacaktır.

- Çalışmamızda ayrıca, inflamatuvar yolakta etkili olduğu bilinen 3 proteinin (IL-1 $\beta$ , TLR4 ve LY-96) serum seviyeleri değerlendirilmiş ve IL-1 $\beta$ , TLR4 ve LY-96 protein seviyeleri için tüm gruplar arasında anlamlı fark belirlenmiştir. Günümüzde muhtemelen prostat kanserinin tanısında kullanılan serum PSA testlerinin varlığından dolayı inflamatuvar proteinlerin serum seviyelerinin prostat kanseri riski ile ilişkilendirildiği çok fazla çalışma tasarlanmamıştır. Serumda PSA'dan başka spesifik proteinlerin prostat kanseri ile ilişkisinin incelenmesi prostat kanseri tanısında daha güçlü belirteçlerin belirlenmesini sağlayabilir.

- Prostat kanseri ve çalışmamızda ele alınan inflamatuvar gen polimorfizmleri ve proteinler ile ilgili henüz kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Ayrıca literatür bilgileri tarandığında çalışmamız, CCL11 rs16969415, CCR3 rs4987053, NOD1 rs5743336, NOD2 rs2066847 polimorfizmleri ve TLR4, LY96 serum seviyeleri ile prostat kanseri ilişkisinin araştırılması konusunda yapılan ilk çalışmadır. Bu nedenle yapmış olduğumuz çalışmanın toplum taraması yönünden değerlendirildiğinde ülkemizdeki prostat kanseri gelişiminde genetik yatkınlığın rolünün belirlenmesine yönelik katkı sağlayacağı ve erken teşhise yardımcı olacağı ve diğer toplumlarda bu polimorfizmlerin çalışılması için kaynak oluşturacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adami, H.-O., Kuper, H., Andersson, S.-O., Bergström, R., & Dillner, J. (2003). Prostate cancer risk and serologic evidence of human papilloma virus infection: a population-based case-control study. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 12(9), 872-875.
- Alavanja, M. C., Samanic, C., Dosemeci, M., Lubin, J., Tarone, R., Lynch, C. F., . . . Barker, J. (2003). Use of agricultural pesticides and prostate cancer risk in the Agricultural Health Study cohort. *American journal of epidemiology*, 157(9), 800-814.
- Augustsson, K., Michaud, D. S., Rimm, E. B., Leitzmann, M. F., Stampfer, M. J., Willett, W. C., & Giovannucci, E. (2003). A prospective study of intake of fish and marine fatty acids and prostate cancer. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 12(1), 64-67.
- Balistreri, C., Caruso, C., Carruba, G., Miceli, V., Campisi, I., List, F., . . . Candore, G. (2010). A pilot study on prostate cancer risk and pro-inflammatory genotypes: pathophysiology and therapeutic implications. *Current pharmaceutical design*, 16(6), 718-724.
- Bedini, N., Cicchetti, A., Palorini, F., Magnani, T., Zuco, V., Pennati, M., . . . Villa, S. (2018). Evaluation of mediators associated with the inflammatory response in prostate cancer patients undergoing radiotherapy. *Disease markers*, 2018.
- Berges, R. R., Vukanovic, J., Epstein, J. I., CarMichel, M., Cisek, L., Johnson, D. E., . . . Isaacs, J. T. (1995). Implication of cell kinetic changes during the progression of human prostatic cancer. *Clinical cancer research*, 1(5), 473-480.
- Bhurgri, Y., Kayani, N., Pervez, S., Ahmed, R., Tahir, I., Afif, M., . . . Bhurgri, A. (2009). Incidence and trends of prostate cancer in Karachi South. *Asian Pac J Cancer Prev*, 10, 45-48.
- Boehm, B. J., Colopy, S. A., Jerde, T. J., Loftus, C. J., & Bushman, W. (2012). Acute bacterial inflammation of the mouse prostate. *The Prostate*, 72(3), 307-317.
- Bonkhoff, H. (1996). Role of the basal cells in premalignant changes of the human prostate: a stem cell concept for the development of prostate cancer. *European urology*, 30, 201-205.
- Bonkhoff, H., & Remberger, K. (1996). Differentiation pathways and histogenetic aspects of normal and abnormal prostatic growth: a stem cell model. *The Prostate*, 28(2), 98-106.
- Breunis, W., Biezeveld, M., Geissler, J., Kuipers, I., Lam, J., Ottenkamp, J., . . . Kuijpers, T. (2007). Polymorphisms in chemokine receptor genes and susceptibility to Kawasaki disease. *Clinical & Experimental Immunology*, 150(1), 83-90.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Calder, P. C. (2002). Fatty Acids and Gene Expression Related to Inflammation. *Clinical Nutrition: Early Intervention*, 7, 19.
- Chan, J. M., & Giovannucci, E. L. (2001). Dairy products, calcium, and vitamin D and risk of prostate cancer. *Epidemiologic reviews*, 23(1), 87-92.
- Chan, J. M., Stampfer, M. J., Ma, J., Gann, P., Gaziano, J. M., Pollak, M., & Giovannucci, E. (2002). Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF binding protein-3 as predictors of advanced-stage prostate cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 94(14), 1099-1106.
- Chang, S., Hursting, S. D., Contois, J. H., Strom, S. S., Yamamura, Y., Babaian, R. J., . . . Amos, C. I. (2001). Leptin and prostate cancer. *The Prostate*, 46(1), 62-67.
- Chen, C., Lewis, S. K., Voigt, L., Fitzpatrick, A., Plymate, S. R., & Weiss, N. S. (2005). Prostate carcinoma incidence in relation to prediagnostic circulating levels of insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding protein 3, and insulin. *Cancer*, 103(1), 76-84.
- Chen, C., Weiss, N. S., Stanczyk, F. Z., Lewis, S. K., DiTommaso, D., Etzioni, R., . . . Goodman, G. E. (2003). Endogenous sex hormones and prostate cancer risk: a case-control study nested within the Carotene and Retinol Efficacy Trial. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 12(12), 1410-1416.
- Chen, N., & Zhou, Q. (2016). The evolving Gleason grading system. *Chinese Journal of Cancer Research*, 28(1), 58.
- Cheng, I., Liu, X., Plummer, S., Krumroy, L., Casey, G., & Witte, J. (2007). COX2 genetic variation, NSAIDs, and advanced prostate cancer risk. *British journal of cancer*, 97(4), 557-561.
- Clements, J., & Mukhtar, A. (1994). Glandular kallikreins and prostate-specific antigen are expressed in the human endometrium. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 78(6), 1536-1539.
- Cohen, R. J., Glezerson, G., Taylor, L. F., Grundle, H. A., & Naudé, J. H. (1993). The neuroendocrine cell population of the human prostate gland. *The Journal of urology*, 150(2 Part 1), 365-368.
- Corrêa, L. H. F. C. (2013). Estudo de polimorfismos nos genes CCL5 e CCL11 associados a complicações pulmonares em crianças portadoras de anemia falciforme= Polymorphisms in CCL5 and CCL11 genes associated with respiratory complications in children with sickle cell anemia.
- Crum, N. F., Spencer, C. R., & Amling, C. L. (2004). Prostate carcinoma among men with human immunodeficiency virus infection. *Cancer*, 101(2), 294-299.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Curado, M.-P., Edwards, B., Shin, H. R., Storm, H., Ferlay, J., Heanue, M., & Boyle, P. (2007). *Cancer incidence in five continents, Volume IX*: IARC Press, International Agency for Research on Cancer.
- Daniyal, M., Siddiqui, Z. A., Akram, M., Asif, H., Sultana, S., & Khan, A. (2014). Epidemiology, etiology, diagnosis and treatment of prostate cancer. *Asian Pac J Cancer Prev, 15*(22), 9575-9578.
- De Marzo, A. M., Marchi, V. L., Epstein, J. I., & Nelson, W. G. (1999). Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: implications for prostatic carcinogenesis. *The American journal of pathology, 155*(6), 1985-1992.
- De Nunzio, C., Kramer, G., Marberger, M., Montironi, R., Nelson, W., Schröder, F., . . . Tubaro, A. (2011). The controversial relationship between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer: the role of inflammation. *European urology, 60*(1), 106-117.
- Degirmenci, I., Ozbayer, C., Kebapci, M. N., Kurt, H., Colak, E., & Gunes, H. V. (2019). Common variants of genes encoding TLR4 and TLR4 pathway members TIRAP and IRAK1 are effective on MCP1, IL6, IL1 $\beta$ , and TNF $\alpha$  levels in type 2 diabetes and insulin resistance. *Inflammation Research, 68*(9), 801-814.
- DeMarzo, A. M., Nelson, W. G., Isaacs, W. B., & Epstein, J. I. (2003). Pathological and molecular aspects of prostate cancer. *The Lancet, 361*(9361), 955-964.
- Deng, N., Zhou, H., Fan, H., & Yuan, Y. (2017). Single nucleotide polymorphisms and cancer susceptibility. *Oncotarget, 8*(66), 110635.
- Dennis, L. K., & Hayes, R. B. (2001). Alcohol and prostate cancer. *Epidemiologic reviews, 23*(1), 110-114.
- di Sant'Agnes, P. A., & Cockett, A. T. (1996). Neuroendocrine differentiation in prostatic malignancy. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society, 78*(2), 357-361.
- Di Silverio, F., Gentile, V., De Matteis, A., Mariotti, G., Giuseppe, V., Luigi, P. A., & Sciarra, A. (2003). Distribution of inflammation, pre-malignant lesions, incidental carcinoma in histologically confirmed benign prostatic hyperplasia: a retrospective analysis. *European urology, 43*(2), 164-175.
- Eaton, N., Reeves, G., Appleby, P., & Key, T. (1999). Endogenous sex hormones and prostate cancer: a quantitative review of prospective studies. *British journal of cancer, 80*(7), 930.
- Ekmekçi, A., Konaç, E., & Önen, H. İ. (2008). Gen polimorfizmi ve kansere yatkınlık. *Marmara Medical Journal, 21*(3), 282-295.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- El-Omar, E. M., Carrington, M., Chow, W.-H., McColl, K. E., Bream, J. H., Young, H. A., . . . Rothman, N. (2000). Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*, *404*(6776), 398-402.
- Elgamal, A.-A. A., Ectors, N. L., Sunardhi-Widyaputra, S., Van Poppel, H. P., Van Damme, B. J., & Baert, L. V. (1996). Detection of prostate specific antigen in pancreas and salivary glands: a potential impact on prostate cancer overestimation. *The Journal of urology*, *156*(2), 464-468.
- Elgamal, A. A., Van de Voorde, W., Van Poppel, H., Lauweryns, J., & Baert, L. (1994). Immunohistochemical localization of prostate-specific markers within the accessory male sex glands of Cowper, Littre, and morgagni. *Urology*, *44*(1), 84-90.
- Elkahwaji, J. E. (2013). The role of inflammatory mediators in the development of prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Research and reports in urology*, *5*, 1.
- English, H. F., Santen, R. J., & Lsaacs, J. T. (1987). Response of glandular versus basal rat ventral prostatic epithelial cells to androgen withdrawal and replacement. *The Prostate*, *11*(3), 229-242.
- Eser, S., Zorlu, F., Divtik, R. T., Çal, Ç., Ozkan, M., & Kirkali, Z. (2009). Incidence and epidemiological features of cancers of the genitourinary tract in Izmir between 1993-2002. *Asian Pac J Cancer Prev*, *10*(3), 491-496.
- Ferwerda, B., McCall, M. B., Verheijen, K., Kullberg, B.-J., Van Der Ven, A. J., Van der Meer, J. W., & Netea, M. G. (2008). Functional consequences of toll-like receptor 4 polymorphisms. *Molecular Medicine*, *14*(5-6), 346-352.
- Forrest, M. S., Skibola, C. F., Lightfoot, T. J., Bracci, P. M., Willett, E. V., Smith, M. T., . . . Roman, E. (2006). Polymorphisms in innate immunity genes and risk of non-Hodgkin lymphoma. *British journal of haematology*, *134*(2), 180-183.
- Fukunaga, K., Asano, K., Mao, X. Q., Gao, P. S., Roberts, M., Oguma, T., . . . Shirakawa, T. (2001). Genetic polymorphisms of CC chemokine receptor 3 in Japanese and British asthmatics. *European Respiratory Journal*, *17*(1), 59-63.
- Giovannucci, E. (2001). Medical history and etiology of prostate cancer. *Epidemiologic reviews*, *23*(1), 159-162.
- Goode, E. L., Maurer, M. J., Sellers, T. A., Phelan, C. M., Kalli, K. R., Fridley, B. L., . . . Keeney, G. L. (2010). Inherited determinants of ovarian cancer survival. *Clinical cancer research*, *16*(3), 995-1007.
- Greten, F. R., & Grivennikov, S. I. (2019). Inflammation and cancer: triggers, mechanisms, and consequences. *Immunity*, *51*(1), 27-41.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Grönberg, H. (2003). Prostate cancer epidemiology. *The Lancet*, 361(9360), 859-864.
- Guess, H. A. (2001). Benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Epidemiologic reviews*, 23(1), 152-158.
- Halvorsen, O. J., Øyan, A. M., Bø, T. H., Olsen, S., Rostad, K., Haukaas, S. A., . . . Stordrange, L. (2005). Gene expression profiles in prostate cancer: association with patient subgroups and tumour differentiation. *International journal of oncology*, 26(2), 329-336.
- Hampe, J., Franke, A., Rosenstiel, P., Till, A., Teuber, M., Huse, K., . . . Briggs, J. (2007). A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1. *Nature genetics*, 39(2), 207-211.
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646-674.
- Haverkamp, J., Charbonneau, B., & Ratliff, T. L. (2008). Prostate inflammation and its potential impact on prostate cancer: a current review. *Journal of cellular biochemistry*, 103(5), 1344-1353.
- Hayes, R., Pottern, L., Strickler, H., Rabkin, C., Pope, V., Swanson, G., . . . Schwartz, A. (2000). Sexual behaviour, STDs and risks for prostate cancer. *British journal of cancer*, 82(3), 718.
- Hessvik, N. P., Sandvig, K., & Llorente, A. (2013). Exosomal miRNAs as biomarkers for prostate cancer. *Frontiers in genetics*, 4, 36.
- Hickey, K., Do, K.-A., & Green, A. (2001). Smoking and prostate cancer. *Epidemiologic reviews*, 23(1), 115-125.
- Hill, P., Wynder, E., Garbaczewski, L., Garnes, H., & Walker, A. (1979). Diet and urinary steroids in black and white North American men and black South African men. *Cancer Research*, 39(12), 5101-5105.
- Hirata, H., Hinoda, Y., Kikuno, N., Kawamoto, K., Dahiya, A. V., Suehiro, Y., . . . Dahiya, R. (2007). CXCL12 G801A polymorphism is a risk factor for sporadic prostate cancer susceptibility. *Clinical cancer research*, 13(17), 5056-5062.
- Ho, D.-R. (2017). Prostate inflammation: A brief review. *Urological Science*, 28(3), 113-118.
- Howarth, D., Aronson, I., & Diamandis, E. (1997). Immunohistochemical localization of prostate-specific antigen in benign and malignant breast tissues. *British journal of cancer*, 75(11), 1646-1651.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Hsing, A. W. (1996). Hormones and prostate cancer: where do we go from here? In: Citeseer.
- Hsing, A. W. (2001). Hormones and prostate cancer: what's next? *Epidemiologic reviews*, 23(1), 42-58.
- Hsing, A. W., & Chokkalingam, A. P. (2006). Prostate cancer epidemiology. *Front Biosci*, 11(5), 1388-1413.
- Hsing, A. W., Chokkalingam, A. P., Gao, Y.-T., Madigan, M. P., Deng, J., Gridley, G., & Fraumeni Jr, J. F. (2002). Allium vegetables and risk of prostate cancer: a population-based study. *Journal of the National Cancer Institute*, 94(21), 1648-1651.
- Hsing, A. W., Chua Jr, S., Gao, Y.-T., Gentschein, E., Chang, L., Deng, J., & Stanczyk, F. Z. (2001). Prostate cancer risk and serum levels of insulin and leptin: a population-based study. *Journal of the National Cancer Institute*, 93(10), 783-789.
- Hsing, A. W., Deng, J., Sesterhenn, I. A., Mostofi, F., Stanczyk, F. Z., Benichou, J., . . . Gao, Y.-T. (2000). Body size and prostate cancer: a population-based case-control study in China. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 9(12), 1335-1341.
- Hsing, A. W., & Devesa, S. S. (2001). Trends and patterns of prostate cancer: what do they suggest? *Epidemiologic reviews*, 23(1), 3-13.
- Hsing, A. W., Tsao, L., & Devesa, S. S. (2000). International trends and patterns of prostate cancer incidence and mortality. *International journal of cancer*, 85(1), 60-67.
- Hua, D., Liu, M.-y., Qin, X.-j., Zhang, H.-m., Chen, Y., Qin, G.-j., . . . Liu, D.-x. (2009). Small interfering RNA-directed targeting of Toll-like receptor 4 inhibits human prostate cancer cell invasion, survival, and tumorigenicity. *Molecular immunology*, 46(15), 2876-2884.
- Hubbard, J. S., Rohrmann, S., Landis, P. K., Metter, E. J., Muller, D. C., Andres, R., . . . Platz, E. A. (2004). Association of prostate cancer risk with insulin, glucose, and anthropometry in the Baltimore longitudinal study of aging. *Urology*, 63(2), 253-258.
- Huggins, C., & Hodges, C. V. (1941). Studies on prostatic cancer. *Cancer Res*, 1, 297.
- Humphrey, P. A. (2003). *Prostate pathology*: American Society for Clinical Pathology Chicago.
- Huszno, J., Grzybowska, E., Kołosza, Z., Tęcza, K., Piłat, J. P., Mazur, M., & Nowara, E. (2017). The 3020insC allele of the NOD2 gene in breast cancer patients—a clinicopathological analysis. *Diabetes*, 11, 41.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- İşman, F. K., Kucukgergin, C., Daşdemir, S., Cakmakoglu, B., Sanli, O., & Seckin, S. (2012). Association between SDF1-3' A or CXCR4 gene polymorphisms with predisposition to and clinicopathological characteristics of prostate cancer with or without metastases. *Molecular biology reports*, 39(12), 11073-11079.
- Kang, W. S., Kim, Y. J., Park, H. J., Kim, S. K., Paik, J.-W., & Kim, J. W. (2018). Association of CCL11 promoter polymorphisms with schizophrenia in a Korean population. *Gene*, 656, 80-85.
- Kawai, T., & Akira, S. (2009). The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *International immunology*, 21(4), 317-337.
- Klein, E. A. (2004). Selenium: epidemiology and basic science. *The Journal of urology*, 171(2s), S50-S53.
- Klink, J. C., Bañez, L. L., Gerber, L., Lark, A., Vollmer, R. T., & Freedland, S. J. (2013). Intratumoral inflammation is associated with more aggressive prostate cancer. *World journal of urology*, 31(6), 1497-1503.
- Kochetova, O. V., Avzaletdinova, D. S., Morugova, T. V., & Mustafina, O. E. (2019). Chemokine gene polymorphisms association with increased risk of type 2 diabetes mellitus in Tatar ethnic group, Russia. *Molecular biology reports*, 46(1), 887-896.
- Kolonel, L. N. (2001). Fat, meat, and prostate cancer. *Epidemiologic reviews*, 23(1), 72-81.
- Kolonel, L. N., Nomura, A. M., & Cooney, R. V. (1999). Dietary fat and prostate cancer: current status. *Journal of the National Cancer Institute*, 91(5), 414-428.
- Kristal, A. R., & Lampe, J. W. (2002). Brassica vegetables and prostate cancer risk: a review of the epidemiological evidence. *Nutrition and cancer*, 42(1), 1-9.
- Kupcinkas, J., Wex, T., Bornschein, J., Selgrad, M., Leja, M., Juozaityte, E., . . . Malfertheiner, P. (2011). Lack of association between gene polymorphisms of Angiotensin converting enzyme, Nod-like receptor 1, Toll-like receptor 4, FAS/FASL and the presence of Helicobacter pylori-induced premalignant gastric lesions and gastric cancer in Caucasians. *BMC medical genetics*, 12(1), 112.
- Kurt, H., Ozbayer, C., Bayramoglu, A., Gunes, H. V., Degirmenci, İ., Oner, K. S., & Metintas, M. (2016). Determination of the relationship between rs4986790 and rs4986791 variants of TLR4 gene and lung cancer. *Inflammation*, 39(1), 166-171.
- Kurzawski, G., Suchy, J., Kładny, J., Grabowska, E., Mierzejewski, M., Jakubowska, A., . . . Szych, Z. (2004). The NOD2 3020insC mutation and the risk of colorectal cancer. *Cancer research*, 64(5), 1604-1606.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Kutikhin, A. G., & Yuzhalin, A. E. (2013). *Genomics of Pattern Recognition Receptors: Applications in Oncology and Cardiovascular Diseases*: Springer Science & Business Media.
- Lee, C. H., Akin-Olugbade, O., & Kirschenbaum, A. (2011). Overview of prostate anatomy, histology, and pathology. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 40(3), 565-575.
- Lee, I.-M., Sesso, H. D., Chen, J.-J., & Paffenbarger Jr, R. S. (2001). Does physical activity play a role in the prevention of prostate cancer? *Epidemiologic reviews*, 23(1), 132.
- Leitzmann, M. F., Stampfer, M. J., Ma, J., Chan, J. M., Colditz, G. A., Willett, W. C., & Giovannucci, E. (2002). Aspirin use in relation to risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 11(10), 1108-1111.
- Leitzmann, M. F., Stampfer, M. J., Wu, K., Colditz, G. A., Willett, W. C., & Giovannucci, E. L. (2003). Zinc supplement use and risk of prostate cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 95(13), 1004-1007.
- LeRoith, D., & Roberts Jr, C. T. (2003). The insulin-like growth factor system and cancer. *Cancer letters*, 195(2), 127-137.
- Levesque, M., Hu, H., Diamandis, E. P., & D'Costa, M. (1995). Prostate-Specific antigen expression by various tumors. *Journal of clinical laboratory analysis*, 9(2), 123-128.
- Lichtenstein, P., Holm, N. V., Verkasalo, P. K., Iliadou, A., Kaprio, J., Koskenvuo, M., . . . Hemminki, K. (2000). Environmental and heritable factors in the causation of cancer—analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *New England Journal of Medicine*, 343(2), 78-85.
- Lubiński, J., Huzarski, T., Kurzawski, G., Suchy, J., Masojć, B., Mierzejewski, M., . . . Teodorczyk, U. (2005). The 3020insC allele of NOD2 predisposes to cancers of multiple organs. *Hereditary Cancer in Clinical Practice*, 3(2), 59.
- Mahmud, S., Franco, E., & Aprikian, A. (2004). Prostate cancer and use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: systematic review and meta-analysis. *British journal of cancer*, 90(1), 93.
- Marså, K., Johnsen, N. F., Bidstrup, P. E., Johannesen-Henry, C. T., & Friis, S. (2008). Social inequality and incidence of and survival from male genital cancer in a population-based study in Denmark, 1994–2003. *European journal of cancer*, 44(14), 2018-2029.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- McGovern, D. P., Hysi, P., Ahmad, T., van Heel, D. A., Moffatt, M. F., Carey, A., . . . Jewell, D. P. (2005). Association between a complex insertion/deletion polymorphism in NOD1 (CARD4) and susceptibility to inflammatory bowel disease. *Human molecular genetics*, 14(10), 1245-1250.
- Mohr, B. A., Feldman, H. A., Kalish, L. A., Longcope, C., & McKinlay, J. B. (2001). Are serum hormones associated with the risk of prostate cancer? Prospective results from the Massachusetts Male Aging Study. *Urology*, 57(5), 930-935.
- Molnár, T., Hofner, P., Nagy, F., Lakatos, P. L., Fischer, S., Lakatos, L., . . . Palatka, K. (2007). NOD1 gene E266K polymorphism is associated with disease susceptibility but not with disease phenotype or NOD2/CARD15 in Hungarian patients with Crohn's disease. *Digestive and Liver Disease*, 39(12), 1064-1070.
- Moreira, L., & Zamboni, D. S. (2012). NOD1 and NOD2 signaling in infection and inflammation. *Frontiers in immunology*, 3, 328.
- Mydlo, J. H. (June 27, 2019). *Prostate Cancer*
- Nath, A., Singh, J., Vendan, S. E., Priyanka, P., & Sinha, S. (2012). Elevated level of prostate specific antigen among prostate cancer patients and high prevalence in the Gangetic zone of Bihar, India. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(1), 221-223.
- Nelson, J., & Harris, R. E. (2000). Inverse association of prostate cancer and non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): results of a case-control study. *Oncology reports*, 7(1), 169-239.
- Nickel, J., True, L., Krieger, J., Berger, R., Boag, A., Young, I., . . . Network, t. I. P. C. (2001). Consensus development of a histopathological classification system for chronic prostatic inflammation. *BJU international*, 87(9), 797-805.
- Niu, Y., Xu, Y., Zhang, J., Bai, J., Yang, H., & Ma, T. (2001). Proliferation and differentiation of prostatic stromal cells. *BJU international*, 87(4), 386-393.
- Noble, R. L. (1977). The development of prostatic adenocarcinoma in Nb rats following prolonged sex hormone administration. *Cancer Research*, 37(6), 1929-1933.
- Norrish, A. E., Ferguson, L. R., Knize, M. G., Felton, J. S., Sharpe, S. J., & Jackson, R. T. (1999). Heterocyclic amine content of cooked meat and risk of prostate cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 91(23), 2038-2044.
- Norrish, A. E., Jackson, R. T., & McRae, C. U. (1998). Non-steroidal anti-inflammatory drugs and prostate cancer progression. *International journal of cancer*, 77(4), 511-515.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Ou, T., Lilly, M., & Jiang, W. (2018). The pathologic role of toll-like receptor 4 in prostate cancer. *Frontiers in immunology*, 9, 1188.
- Ozbayer, C., Kurt, H., Bayramoglu, A., Gunes, H. V., Metintas, M., Degirmenci, I., & Oner, K. S. (2015). The role of NOD1/CARD4 and NOD2/CARD15 genetic variations in lung cancer risk. *Inflammation Research*, 64(10), 775-779.
- Paarnio, K., Tuomisto, A., Väyrynen, S. A., Väyrynen, J. P., Klintrup, K., Ohtonen, P., . . . Karttunen, T. J. (2019). Serum TLR2 and TLR4 levels in colorectal cancer and their association with systemic inflammatory markers, tumor characteristics, and disease outcome. *Apmis*, 127(8), 561-569.
- Pak, R. W., Lanteri, V. J., Scheuch, J. R., & Sawczuk, I. S. (2002). Review of vitamin E and selenium in the prevention of prostate cancer: implications of the selenium and vitamin E chemoprevention trial. *Integrative cancer therapies*, 1(4), 338-344.
- Parkin, D. M., Pisani, P., & Ferlay, J. (1999). Global cancer statistics. *CA: a cancer journal for clinicians*, 49(1), 33-64.
- Petersen, D. C., Severi, G., Hoang, H. N., Padilla, E. J., Southey, M. C., English, D. R., . . . Hayes, V. M. (2008). No association between common chemokine and chemokine receptor gene variants and prostate cancer risk. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 17(12), 3615-3617.
- Pezaro, C., Woo, H. H., & Davis, I. D. (2014). Prostate cancer: measuring PSA. *Internal medicine journal*, 44(5), 433-440.
- Piotrowski, I., Kulcenty, K., & Suchorska, W. (2020). Interplay between inflammation and cancer. *Reports of practical oncology and radiotherapy: journal of Greatpoland Cancer Center in Poznan and Polish Society of Radiation Oncology*, 25(3), 422.
- Platz, E. A., & De Marzo, A. M. (2004). Epidemiology of inflammation and prostate cancer. *The Journal of urology*, 171(2), S36-S40.
- Platz, E. A., Leitzmann, M. F., Rifai, N., Kantoff, P. W., Chen, Y.-C., Stampfer, M. J., . . . Giovannucci, E. (2005). Sex steroid hormones and the androgen receptor gene CAG repeat and subsequent risk of prostate cancer in the prostate-specific antigen era. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 14(5), 1262-1269.
- Platz, E. A., Rohrmann, S., Pearson, J. D., Corrada, M. M., Watson, D. J., De Marzo, A. M., . . . Carter, H. B. (2005). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of prostate cancer in the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 14(2), 390-396.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Raby, B. A., Van Steen, K., Lazarus, R., Celedón, J. C., Silverman, E. K., & Weiss, S. T. (2006). Eotaxin polymorphisms and serum total IgE levels in children with asthma. *Journal of allergy and clinical immunology*, *117*(2), 298-305.
- Rani, A., Dasgupta, P., & Murphy, J. J. (2019). Prostate cancer: The role of inflammation and chemokines. *The American journal of pathology*, *189*(11), 2119-2137.
- Rébé, C., & Ghiringhelli, F. (2020). Interleukin-1 $\beta$  and Cancer. *Cancers*, *12*(7), 1791.
- Rodriguez, C., McCullough, M. L., Mondul, A. M., Jacobs, E. J., Fakhrabadi-Shokoohi, D., Giovannucci, E. L., . . . Calle, E. E. (2003). Calcium, dairy products, and risk of prostate cancer in a prospective cohort of United States men. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, *12*(7), 597-603.
- Rosenblatt, K. A., Carter, J. J., Iwasaki, L. M., Galloway, D. A., & Stanford, J. L. (2003). Serologic evidence of human papillomavirus 16 and 18 infections and risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, *12*(8), 763-768.
- Sanda, M. G., Cadeddu, J. A., Kirkby, E., Chen, R. C., Crispino, T., Fontanarosa, J., . . . Makarov, D. V. (2018). Clinically localized prostate cancer: AUA/ASTRO/SUO guideline. Part I: risk stratification, shared decision making, and care options. *The Journal of urology*, *199*(3), 683-690.
- Saraç, H. (2018). *The Role of KDM3B in Castration Resistant Prostate Cancer* (Doctoral dissertation, Koç University).
- Sbrissa, D., Semaan, L., Govindarajan, B., Li, Y., Caruthers, N. J., Stemmer, P. M., . . . Shisheva, A. (2019). A novel cross-talk between CXCR4 and PI4KIII $\alpha$  in prostate cancer cells. *Oncogene*, *38*(3), 332-344.
- Schmidt, A., & Weber, O. (2006). In memoriam of Rudolf virchow: a historical retrospective including aspects of inflammation, infection and neoplasia. In *Infection and inflammation: impacts on oncogenesis* (Vol. 13, pp. 1-15): Karger Publishers.
- Schroder, K., & Tschopp, J. (2010). The inflammasomes. *Cell*, *140*(6), 821-832.
- Seisen, T., Rouprêt, M., Faix, A., & Droupy, S. (2012). The prostate gland: a crossroad between the urinary and the seminal tracts. *Progres en urologie: journal de l'Association francaise d'urologie et de la Societe francaise d'urologie*, *22*, S2-6.
- Sharma-Wagner, S., Chokkalingam, A. P., Malker, H. S., Stone, B., McLaughlin, J. K., & Hsing, A. W. (2000). Occupation and prostate cancer risk in Sweden. *Journal of occupational and environmental medicine*, *42*(5), 517-525.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Shenfield, G. M. (2004). Genetic polymorphisms, drug metabolism and drug concentrations. *The Clinical Biochemist Reviews*, 25(4), 203.
- Stanford, J. L., & Ostrander, E. A. (2001). Familial prostate cancer. *Epidemiologic reviews*, 23(1), 19-23.
- Stattin, P., Lumme, S., Tenkanen, L., Alfthan, H., Jellum, E., Hallmans, G., . . . Lehtinen, M. (2004). High levels of circulating testosterone are not associated with increased prostate cancer risk: a pooled prospective study. *International journal of cancer*, 108(3), 418-424.
- Stattin, P. r., Rinaldi, S., Biessy, C., Stenman, U.-H. k., Hallmans, G. r., & Kaaks, R. (2004). High levels of circulating insulin-like growth factor-I increase prostate cancer risk: a prospective study in a population-based nonscreened cohort. *Journal of Clinical Oncology*, 22(15), 3104-3112.
- Steiner, G. E., Stix, U., Handisurya, A., Willheim, M., Haitel, A., Reithmayr, F., . . . Kramer, G. (2003). Cytokine expression pattern in benign prostatic hyperplasia infiltrating T cells and impact of lymphocytic infiltration on cytokine mRNA profile in prostatic tissue. *Laboratory investigation*, 83(8), 1131-1146.
- Sternberg, S. S. (1997). *Histology for pathologists*: Lippincott-Raven.
- Sugie, S., Tsukino, H., Mukai, S., Akioka, T., Shibata, N., Nagano, M., & Kamoto, T. (2014). Cyclooxygenase 2 genotypes influence prostate cancer susceptibility in Japanese Men. *Tumor Biology*, 35(3), 2717-2721.
- Sun, Y. X., Wang, J., Shelburne, C. E., Lopatin, D. E., Chinnaiyan, A. M., Rubin, M. A., . . . Taichman, R. S. (2003). Expression of CXCR4 and CXCL12 (SDF-1) in human prostate cancers (PCa) in vivo. *Journal of cellular biochemistry*, 89(3), 462-473.
- Taheri, M., Noroozi, R., Rakhshan, A., Ghanbari, M., Omrani, M. D., & Ghafouri-Fard, S. (2019). IL-6 genomic variants and risk of prostate cancer. *Urology journal*, 16(5), 463-468.
- Tanabe, T., Ishige, I., Suzuki, Y., Aita, Y., Furukawa, A., Ishige, Y., . . . Ikushima, S. (2006). Sarcoidosis and NOD1 variation with impaired recognition of intracellular Propionibacterium acnes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1762(9), 794-801.
- Taverna, G., Pedretti, E., Di Caro, G., Borroni, E. M., Marchesi, F., & Grizzi, F. (2015). Inflammation and prostate cancer: friends or foe? *Inflammation Research*, 64(5), 275-286.
- Terry, P., Lichtenstein, P., Feychting, M., Ahlbom, A., & Wolk, A. (2001). Fatty fish consumption and risk of prostate cancer. *The Lancet*, 357(9270), 1764-1766.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Tewari, A. K., Stockert, J. A., Yadav, S. S., Yadav, K. K., & Khan, I. (2018). Inflammation and prostate cancer. In *Cell & Molecular Biology of Prostate Cancer* (pp. 41-65): Springer.
- Theyer, G., Kramer, G., Assmann, I., Sherwood, E., Preinfalk, W., Marberger, M., . . . Steiner, G. (1992). Phenotypic characterization of infiltrating leukocytes in benign prostatic hyperplasia. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 66(1), 96.
- Tong, X., Ma, Y., Deng, H., Wang, X., Liu, S., Yan, Z., . . . Fan, H. (2016). The SDF-1 rs1801157 polymorphism is associated with cancer risk: an update pooled analysis and FPRP test of 17,876 participants. *Scientific reports*, 6(1), 1-10.
- Traka, M. H., Melchini, A., & Mithen, R. F. (2014). Sulforaphane and prostate cancer interception. *Drug discovery today*, 19(9), 1488-1492.
- Van der Gulden, J., Kolk, J., & Verbeek, A. (1995). Work environment and prostate cancer risk. *The Prostate*, 27(5), 250-257.
- Vignal, A., Milan, D., SanCristobal, M., & Eggen, A. (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution*, 34(3), 275-305.
- Vindrieux, D., Escobar, P., & Lazennec, G. (2009). Emerging roles of chemokines in prostate cancer. *Endocrine-related cancer*, 16(3), 663.
- Virtamo, J., Pietinen, P., Huttunen, J., Korhonen, P., Malila, N., Virtanen, M., . . . Albert, P. (2003). Incidence of cancer and mortality following alpha-tocopherol and beta-carotene supplementation: a postintervention follow-up. *Jama*, 290(4), 476-485.
- Wallace, T. A., Prueitt, R. L., Yi, M., Howe, T. M., Gillespie, J. W., Yfantis, H. G., . . . Ambros, S. (2008). Tumor immunobiological differences in prostate cancer between African-American and European-American men. *Cancer research*, 68(3), 927-936.
- Wang, W., & Wang, J. (2018). Toll-Like Receptor 4 (TLR4)/Cyclooxygenase-2 (COX-2) Regulates Prostate Cancer Cell Proliferation, Migration, and Invasion by NF- $\kappa$ B Activation. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 24, 5588.
- Wang, Y., Kato, N., Hoshida, Y., Yoshida, H., Taniguchi, H., Goto, T., . . . Shiratori, Y. (2003). Interleukin-1 $\beta$  gene polymorphisms associated with hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus infection. *Hepatology*, 37(1), 65-71.
- Wein, A., & Kavoussi, L. (2012). Campbell-Walsh urology. Drake M, editor. In: USA: Elsevier.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Woodson, K., Tangrea, J. A., Pollak, M., Copeland, T. D., Taylor, P. R., Virtamo, J., & Albanes, D. (2003). Serum insulin-like growth factor I: tumor marker or etiologic factor? A prospective study of prostate cancer among Finnish men. *Cancer Research*, 63(14), 3991-3994.
- Wu, H.-C., Chang, C.-H., Ke, H.-L., Chang, W.-S., Cheng, H.-N., Lin, H.-H., . . . Lo, W.-C. (2011). Association of cyclooxygenase 2 polymorphic genotypes with prostate cancer in taiwan. *Anticancer research*, 31(1), 221-225.
- Wu, Y., Zhang, C., Xu, W., Zhang, J., Zheng, Y., Lu, Z., . . . Jiang, K. (2016). CXC motif chemokine receptor 4 gene polymorphism and cancer risk. *Medicine*, 95(49).
- Yencilek, F., Yildirim, A., Yilmaz, S. G., Altinkilic, E. M., Dalan, A. B., Bastug, Y., & Isbir, T. (2015). Investigation of interleukin-1 $\beta$  polymorphisms in prostate cancer. *Anticancer research*, 35(11), 6057-6061.
- Yu, H., Diamandis, E. P., Levesque, M., Asa, S. L., Monne, M., & Croce, C. M. (1995). Expression of the prostate-specific antigen gene by a primary ovarian carcinoma. *Cancer research*, 55(8), 1603-1606.
- Yu, H., & Rohan, T. (2000). Role of the insulin-like growth factor family in cancer development and progression. *Journal of the National Cancer Institute*, 92(18), 1472-1489.
- Zhao, S., Zhang, Y., Zhang, Q., Wang, F., & Zhang, D. (2014). Toll-like receptors and prostate cancer. *Frontiers in immunology*, 5, 352.
- Zhao, X.-Y., & Feldman, D. (2001). The role of vitamin D in prostate cancer. *Steroids*, 66(3-5), 293-300.
- Zhu, K., Jiang, B., Hu, R., Yang, Y., Miao, M., Li, Y., & Liu, Z. (2014). The CXCL12 G801A polymorphism is associated with cancer risk: a meta-analysis. *PloS one*, 9(9), e108953.
- Zienolddiny, S., Ryberg, D., Maggini, V., Skaug, V., Canzian, F., & Haugen, A. (2004). Polymorphisms of the interleukin-1  $\beta$  gene are associated with increased risk of non-small cell lung cancer. *International journal of cancer*, 109(3), 353-356.
- Zorlu, F., Zorlu, R., Divrik, R., Eser, S., & Yorukoglu, K. (2014). Prostate cancer incidence in Turkey: an epidemiological study. *Asian Pac J Cancer Prev*, 15(21), 9125-9130.