



T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

PROSTAT KANSERİ İÇİN POTANSİYEL ERKEN TANI  
BELİRTEÇLERİ MİKRO RNA' LARIN PSA İLE KORELE  
KULLANIMININ POZİTİF BİYOPSİLERİ ORTAYA  
ÇIKARABİLMEDEKİ DURUMU

Dr. Aydemir ASDEMİR  
UZMANLIK TEZİ

SİVAS  
2015





T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

PROSTAT KANSERİ İÇİN POTANSİYEL ERKEN TANI  
BELİRTEÇLERİ MİKRO RNA' LARIN PSA İLE KORELE  
KULLANIMININ POZİTİF BİYOPSİLERİ ORTAYA  
ÇIKARABİLMEDEKİ DURUMU

Dr. Aydemir ASDEMİR  
UZMANLIK TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır

Prof. Dr. Semih AYAN  
DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ

Yrd. Doç. Dr. Esat KORĞALI  
VEKİL DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ

SİVAS

2015



Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu' nun 10.02.2010 tarih ve 2010/12 sayılı kararı ile kabul edilen “Tez Yazım Kılavuzu” na göre hazırlanmıştır.

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Üroloji Anabilim Dalı' nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Üye: Prof. Dr. Gökhan GÖKÇE .....

Üye: Prof. Dr. Emin Yener GÜLTEKİN .....

Üye: Prof. Dr. Bekir Süha PARLAKTAŞ .....

Bu tez, ..... tarih ve ..... sayılı Yönetim Kurulu Kararı ile belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Okay BULUT

Tıp Fakültesi Dekanı

## TEŞEKKÜR

Her zaman desteklerini esirgemeyen ve iyi bir bilim insanı olma yolunda bize rehber olan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Emin Yener GÜLTEKİN' e,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Tez Danışmanım Prof. Dr. Semih AYAN' a,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Başhekimimiz ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Gökhan GÖKÇE' ye,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Vekil Tez Danışmanım Anabilim Dalımız Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Esat KORĞALI' ya,

Şu anki çalışma arkadaşlarım Dr. Gökçe DÜNDAR, Dr. Resul ÇİÇEK, Dr. Halil GÜLBAHAR ve daha önce beraber çalıştığımız Dr. Fatih M.EFE, Dr. Hüseyin SAYGIN, Dr. K. Burak CENGİZ, Dr. Nursen ATASOY, Dr. Yasin ERDEN, Dr. Rıza ÇEVİK, Dr. Sebahattin ALBAYRAK' a ve tüm Üroloji Kliniği çalışanları ile intern doktorlarına,

Tüm hayatım boyunca fedakarlıkla ve sabırla yanımda olan sevgili anneme, babama , ağabeyime, kardeşime ve tüm aileme,

Son olarak uzmanlık eğitimim süresince ve tez aşamasında desteklerinden ve kendisinden çaldığım zamana karşı gösterdiği sabırdan dolayı eşim Tuğba YILDIZ ASDEMİR' e ve ailesine ,

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkürü bir borç bilirim.

## ÖZET

### **PROSTAT KANSERİ İÇİN POTANSİYEL ERKEN TANI BELİRTEÇLERİ MİKRO RNA' LARIN PSA İLE KORELE KULLANIMININ POZİTİF BİYOPSİLERİ ORTAYA ÇIKARABİLMEDEKİ DURUMU**

**Dr. Aydemir ASDEMİR, UZMANLIK TEZİ, C.Ü.T.F. ÜROLOJİ ANABİLİM  
DALI, SİVAS, 2015**

Prostat kanseri erkeklerde görülen en sık kanser türlerinden biridir. PSA halen prostat kanserinin erken tanısında duyarlılık ve özgüllüğü düşük olmasına rağmen en önemli belirteçtir. Prostat kanserinin kesin tanısı operasyon veya biyopsi materyallerinin histopatolojik doğrulamasına dayanır. Bu da negatif biyopsileri ve böylece biyopsiye bağlı komplikasyonları da azaltmak için PSA' ya alternatif veya birlikte kullanıldığında tanısal değerini arttıracak yeni arayışları gerekli kılmaktadır.

miRNA' lar nükleotid içeriği olarak kısa, 18-30 nükleotid uzunluğunda, kodlama yapmayan, hücrenin kendisinde üretilen, yeni keşfedilmiş bir RNA çeşididir ve gen ekspresyon düzenleyicisi işlevi görür. miRNA ekspresyon seviyesindeki değişiklikler, hastalık patogenezinde önemli olabilir. Prostat kanserinde geniş çaplı bir miRNA ekspresyon değişikliği gösterilmiştir.

Çalışmamız prostat kanserli 27 hasta ile 32 BPH' li kontrol grubunda yapıldı. Çalışma için her bireyden 3cc kan örneği alındı ve miRNA kitleri ile ilgili belirli protokol takip edilerek serum elde edildi. Serum örnekleri çalışma başlayıncaya kadar -80 °C' de bekletildi. RT PCR cihazı ile miRNA ekspresyon seviyelerine bakıldı.

Prostat kanserlilerde miRNA-221 ve miRNA-432 ekspresyon seviyeleri kontrol grubuna göre artmış, miRNA-17-5p, miRNA-30c, miRNA-107, miRNA-141, miRNA-145, miRNA-181a-2, miRNA-331-3p, miRNA-574-3p ekspresyon seviyeleri ise azalmış olarak bulundu. Her iki grupta da miRNA-21 ve miRNA-375' in ekspresyon seviyeleri benzerdi.

Prostat kanseri tanısında miRNA' ları belirteç olarak değerlendirebilmek için daha kapsamlı ve tümör dokusuyla birlikte araştırılmış yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar kelimeler:** prostat, miRNA, ekspresyon

Bu proje Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından T-588 numaralı tıpta uzmanlık tez projesi olarak desteklenmiştir.



## ABSTRACT

### STATUS OF THE USE OF POTENTIAL EARLY DIAGNOSTIC BIOMARKERS MICRO RNAs FOR PROSTATE CANCER WITH PSA ON DETECTING POSITIVE PROSTATE BIOPSIES

**Dr. Aydemir ASDEMİR, CUMHURİYET UNIVERSITY, FACULTY OF  
MEDICINE, DEPARTMENT OF UROLOGY, SİVAS, 2015**

Prostate cancer is one of the most seen cancers between men. Still PSA is the most important marker for early diagnose of prostate cancer even its sensitivity and spesifity is poor. Prostat cancer diagnose is corrected by the histopathology of biopsy or operation materials. So there is a need to identify novel therapeutic approaches in this disease alternative to PSA or together use with PSA to decrease negative biopsies and biopsy related complications and increase diagnostic value.

miRNAs are small, consisting of 18–30 nucleotides, non-coding, endogenously synthesized new class of small RNAs as regulators of gene expression. Alteration in miRNA expression may play a critical role in pathogenesis of the disease. It was shown that human prostate cancer possess a widespread deregulation of miRNA expression.

Our study is consisting of 59 man, 27 of them prostate cancer and 32 of them BPH control group. We collected 3cc blood sample from them. Than, we obtained serum samples as guided on our miRNA kits. Serum samples were kept back in -80 °C. miRNA expression levels were observed by RT PCR.

In prostate cancer group when compared with control group, it' s found that expression levels of miRNA-221 and miRNA-432 increased, expression levels of miRNA-17-5p, miRNA-30c, miRNA-107, miRNA-141, miRNA-145, miRNA-181a-2, miRNA-331-3p, miRNA-574-3p decreased and expression levels of miRNA-21 and miRNA-375 are nearly same . There is need to more comprehensive new studies including tumor tissues to spesify miRNAs as significant biomarkers on early diagnose of prostate cancer.

**Keywords:** prostate, miRNA, expression

This project was financially supported by a grant (T-588) from The Scientific Research Projects Council of Cumhuriyet University (CÜBAP).



## İÇİNDEKİLER

|                                          |     |
|------------------------------------------|-----|
| <b>ÖZET</b> .....                        | v   |
| <b>ABSTRACT</b> .....                    | vii |
| <b>İÇİNDEKİLER</b> .....                 | ix  |
| <b>TABLolar VE RESİMLER DİZİNİ</b> ..... | xi  |
| <b>KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....          | xii |

### BÖLÜM I

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| <b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> ..... | 1 |
|-------------------------------|---|

### BÖLÜM II

|                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------|----|
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....                               | 5  |
| <b>2.1. PROSTAT</b> .....                                    | 5  |
| 2.1.1. Prostat Anatomisi.....                                | 5  |
| 2.1.2. Prostat Embriyolojisi.....                            | 9  |
| 2.1.3. Prostat Histolojisi.....                              | 10 |
| <b>2.2. PROSTAT KANSERİ</b> .....                            | 10 |
| 2.2.1. Prostat Kanserin Tarihçesi .....                      | 10 |
| 2.2.2. Prostat Kanserin İnsidansı ve Epidemiyolojisi.....    | 11 |
| 2.2.3. Prostat Kanseri Risk Faktörleri.....                  | 11 |
| 2.2.4. Prostat Kanserin Klinik Özellikleri ve Tanısı.....    | 12 |
| 2.2.4.1. PCA3: Prostat Kanseri Antijeni 3.....               | 15 |
| 2.2.4.2. Gen Füzyonları Ve PCA .....                         | 15 |
| 2.2.5. Prostat Kanserin Histopatolojik Özellikleri.....      | 16 |
| 2.2.6. Prostat Adeno Kanseri Evreleme ve Derecelendirme..... | 17 |
| 2.2.7. Prostat Kanseri Prognostik Faktörler.....             | 21 |
| 2.2.8. miRNA' lar.....                                       | 24 |
| 2.2.8.1. Prostat Kanseri' nde miRNA' lar .....               | 26 |

### BÖLÜM III

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| <b>3. MATERYAL VE METOD</b> .....                           | 27 |
| 3.1. Hasta Ve Kontrol Grubu Örneklerinin Belirlenmesi ..... | 27 |

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| 3.2. Serum Örneklerinin İzolasyonu.....                        | 27 |
| 3.3. RNA İzolasyonu (Qiagen).....                              | 27 |
| 3.3.1. Serum/Plazma’ dan Total RNA İzolasyonu Protokolü.....   | 28 |
| 3.4. Reverz Transkripsiyon (RT) Reaksiyonu (cDNA Sentezi)..... | 29 |
| 3.5. cDNA’ nın Preamplifikasyonu Ve Real Time PCR.....         | 30 |
| 3.6. Çalışmada Kullanılan miRNA’ lar Ve Dizi Bilgileri.....    | 32 |
| 3.7. İstatistiksel Analiz.....                                 | 34 |

#### **BÖLÜM IV**

|                 |    |
|-----------------|----|
| 4.BULGULAR..... | 35 |
|-----------------|----|

#### **BÖLÜM V**

|                 |    |
|-----------------|----|
| 5.TARTIŞMA..... | 41 |
|-----------------|----|

#### **BÖLÜM VI**

|                 |    |
|-----------------|----|
| 6.SONUÇLAR..... | 50 |
|-----------------|----|

#### **BÖLÜM VII**

|                  |    |
|------------------|----|
| 7.KAYNAKLAR..... | 52 |
|------------------|----|

## TABLOLAR ve RESİMLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 2.1.</b> Prostat Kanseri 2009 TNM Evrelemesi.....                                                                                                                                | 19 |
| <b>Tablo 2.2.</b> Prostat Kanseri Patolojik Evreleme.....                                                                                                                                 | 20 |
| <b>Tablo 3.1.</b> Reverz Transkripsiyon Mix Hazırlanışı.....                                                                                                                              | 30 |
| <b>Tablo 3.2.</b> PCR Reaksiyonu İçin Mix Hazırlanışı.....                                                                                                                                | 31 |
| <b>Tablo 3.3.</b> Çalışmada Kullanılan miRNA'lar Ve Dizi Bilgileri (Qiagen).....                                                                                                          | 33 |
| <b>Tablo 3.4.</b> miScript PCR Kontrolleri (Qiagen).....                                                                                                                                  | 34 |
| <b>Tablo 4.1.</b> Prostat Kanserliler Ve BPH' lilerde miRNA'ların Ekspresyon Değerleri Ve Her İki Grubun Karşılaştırılması Sonucunda Ortaya Çıkan İstatistiksel Farklılık Ölçütleri ..... | 36 |
| <b>Tablo 4.2.</b> Prostat Kanserliler Ve BPH' lilerde PSA İle Prostat Volümü Ve Her İki Grubun Karşılaştırılması Sonucunda Ortaya Çıkan İstatistiksel Farklılık Ölçütleri.....            | 36 |
| <b>Tablo 4.3.</b> Prostat Kanserlilerde Gleason Skorları, miRNA Ekspresyon Değerleri, PSA Ve Prostat Volümüne Bağlı Olarak Yapılan Korelasyon Analizinin Sonuçları.....                   | 38 |
| <b>Tablo 4.4.</b> BPH' lilerde miRNA Ekspresyon Değerleri, PSA ve Prostat Volümüne Bağlı Olarak Yapılan Korelasyon Analizinin Sonuçları .....                                             | 40 |
| <br><b>Resim 2.1.</b> Prostatın Zonal Anatomisi.....                                                                                                                                      | 6  |
| <b>Resim 2.2.</b> Sagittal Kesitten Prostat Zonları.....                                                                                                                                  | 7  |

## KISALTMALAR DİZİNİ

|                |                                              |
|----------------|----------------------------------------------|
| PSA            | : prostata spesifik antijen                  |
| miR : miRNA    | : mikro RNA                                  |
| RNA            | : ribonükleik asit                           |
| RT PCR         | : gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu |
| PCR            | : polimeraz zincir reaksiyonu                |
| RT             | : reverz transkripsiyon                      |
| cDNA           | : tamamlayıcı deoksiribonükleik asit         |
| PCA3           | : prostat kanser antijeni 3                  |
| UTR            | : urasil timidin riboz                       |
| DNA            | : deoksi ribonükleik asit                    |
| mRNA           | : mesajcı RNA                                |
| BPH            | : benign prostat hiperplazisi                |
| PİN            | : prostatik intraepitelyal neoplazi          |
| ABD            | : Amerika Birleşik Devletleri                |
| IGF-I          | : insülin benzeri büyüme faktörü I           |
| TRUS           | : transrektal ultrasonografi                 |
| HGPIN          | : yüksek dereceli PİN                        |
| TNM            | : tümör nod metastaz                         |
| tPSA           | : total PSA                                  |
| cTNM           | : klinik TNM                                 |
| pTNM           | : patolojik TNM                              |
| TUR            | : trans üretral rezeksiyon                   |
| PSAP           | : prostatik asit fosfataz                    |
| PSMA           | : prostata spesifik membran antijeni         |
| ERG            | : bir onkogen                                |
| rpm            | : round per minute (dakikadaki devir sayısı) |
| ml             | : mililitre                                  |
| <sup>0</sup> C | : santigrad derece                           |
| μl             | : mikrolitre                                 |
| dk             | : dakika                                     |
| g              | : gravite                                    |
| rcf            | : rölatif santrifüj gücü                     |
| sn             | : saniye                                     |
| RWT            | : yıkama tampon çözeltisi adı                |
| RPE            | : tampon çözelti adı                         |
| μg             | : microgram                                  |
| ng             | : nanogram                                   |
| SYBR           | : PCR'a özgü boya çeşidi                     |

|       |                                                                      |
|-------|----------------------------------------------------------------------|
| PV    | : prostat volümü                                                     |
| E2F1  | : elongasyon 2 faktör 1                                              |
| PTEN  | : fosfataz ve tensin homologu                                        |
| AKT   | : serin/treonin spesifik protein kinaz                               |
| ERBB2 | : gen adı(tirozin-protein kinaz erbB-2'yi kodlayan)                  |
| LNCaP | : insan prostat kanseri FGC hücre dizisi klonu                       |
| RAS   | : proto onkogen ailesinin adı                                        |
| BCL2  | : apoptozisle ilgili medyatör                                        |
| MCL1  | : gen adı (myeloid lösemi hücre diferansiyasyon proteinini kodlayan) |
| CAPRA | : prostat kanserinin risk değerlendirmesi                            |



## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Prostat kanseri 2012 verilerine göre erkeklerde tahmini 241.740 yeni vaka ile cilt kanserinden sonra görülme sıklığında ikinci ve metastaz potansiyelinin yüksek olması nedeniyle 28.170 vaka ile akciğer kanserinden sonra kansere bağlı ölümlerde ikinci sırada yer almaktadır (1). Ülkemizde yapılan çalışmada insidans 35/100000 olarak ifade edilmiştir (2).

Prostat kanseri sık rastlanılan bir tümör olmasına rağmen karsinogenezin moleküler temelleri konusunda az bilgi mevcuttur. Genellikle yavaş büyüyen ve geç bulgu veren bir tümördür. Heterojen bir yapıya sahip olması nedeniyle tümörün seyri oldukça değişkendir. Otopsi çalışmaları sonuçlarına göre; 4. dekadaki erkeklerin %30' u, 6. dekadaki erkeklerin %50' si ve 85 yaş üstündeki erkeklerin %75' inden fazlasında histolojik (latent) prostat kanseri saptanmıştır. 50 yaşından küçük erkeklerde prostat kanseri teşhisi tüm vakaların sadece % 2' sidir (3).

PSA halen prostat kanserinin erken tanısında duyarlılık ve özgüllüğü düşük olmasına rağmen en önemli belirteçtir. PSA ile prostat kanserinin erken tespit edilme ihtimali mümkün olmakla birlikte kesin değildir. Erken tanı mortalite oranını azaltmaktadır. Prostat kanseri kesin tanısı operasyon veya biyopsi materyallerinin histopatolojik doğrulamasına dayanır. Bu da negatif biyopsileri ve böylece biyopsiye bağlı komplikasyonları azaltmak için PSA' ya alternatif veya birlikte kullanıldığında tanısal değerini arttıracak yeni arayışları gerekli kılmaktadır. Bu konuda PSA dansitesi, PSA velositesi gibi parametreler denenmiş olup duyarlılık ve özgüllükleri düşük kalmıştır. Son zamanlardaki arayışlar PCA-3, gen füzyonları ve miRNA' ları ortaya çıkarmıştır.

Son yıllarda tümörlerin çoğu, tarama programları çerçevesinde insidental olarak belirlenmekte ve bu tümörlerin malignite potansiyeli kesin olarak bilinmemektedir. Bu vakalarda gereksiz tedavileri önlemek ve bazen çok agresif seyredebilen tümörleri ayırmak için yeni metodlara ihtiyaç duyulmaktadır. Halen prostat kanserinin taramasında PSA ile parmakla rektal muayene kullanılmaktadır. Fakat bunların duyarlılık ve özgüllüğü düşüktür. Prostat kanserinin prognozunu değerlendirmede kullanılan mevcut metodlar; klinik evreleme, histopatolojik grade,

hücre kinetik çalışmaları ve nomogramlardır (Kattan, Partin vs.). Hücre proliferasyon hızının ölçülmesi, tümör fenotipi hakkında prognostik bilgi sağlar.

Son yüzyılda miRNA' lar diye adlandırılan ve kodlama yapmayan bir grup RNA tespit edilmiştir. Bu tek zincirli, 18-30 nükleotid içeren, kodlama yapmayan küçük RNA' lar yani miRNA' lar post transkripsiyonel olarak gen ekspresyonunu düzenleyen, endojen olarak sentezlenen RNA' lardır (4). miRNA' lar, mRNA' nın 3'- translasyon olmamış bölgelerindeki (3'-UTR) tamamlayıcı alana bağlanarak hedef genlerin ekspresyonlarını negatif olarak regüle ederler (7). DNA' dan transkripsiyonu yapılan ancak protein çevirisi yapılmayan genler tarafından kodlanan miRNA' lar, hedef genindeki mRNA' lara düşük özgüllükte bağlanmasına, mRNA yıkımına ve translasyonel inhibisyona neden olabileceği için gen ekspresyonunun kontrolünde önemli rollere sahiptir (6-8). Overeksprese ve /veya amplifiye olmuş bazı miRNA' ların onkogen, azalmış eksprese olmuş ve/veya delesyona uğramış bazılarının ise tümör baskılayıcı gen gibi işlev görmesi, tümör progresyonu, metastazı ve invazyonunda miRNA' ların düzenleyici olabileceğini göstermektedir (9).

miRNA' lar posttranskripsiyonel gen ekspresyonunda önemli role sahiptir ve onların deregülasyonu hücrelerin transkripsiyonunda değişikliğe, tümör formasyonuna ve progresyonuna neden olabilir. Bugün için, tümörlerin yaygın deregüle miRNA seviyelerine sahip olduğu bilinir. Farklı tümör tiplerinde spesifik miRNA' ların artmış ekspresyonu veya azalmış regülasyonu onları potansiyel tanı belirteçleri veya tedavi hedefleri olarak düşündürebilir. Tümör hücrelerindeki tümör baskılayıcı genleri inhibe eden artmış regülasyonlu miRNA' lar yaygın olarak onkogenik miRNA' lar veya onkomir' ler olarak, tümör progresyonunu düzenleyen azalmış regülasyonlu miRNA' lar ise tümör baskılayıcı miRNA olarak adlandırılır (6).

miRNA' lar gelişme, farklılaşma, sağkalım, apoptozis, yaşlanma ve metabolizma gibi çeşitli biyolojik olayların kontrolünde de görev alırlar. Aynı zamanda ökaryotik hücrelerin birçok normal işlevinde yer aldığı için, miRNA' lardaki kusurlar başta kanser olmak üzere çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir (6, 10). Ayrıca pek çok miRNA' nın lokalizasyon ve ekspresyon profilleri göz önüne alındığında karsinogeneizde anahtar rollere sahip olabileceği öngörülmüştür (11).

Belirli bir tümör için bir çok genin ekspresyon profili, robotik teknolojiler (mikroarray, mikrodizilim) kullanılarak miRNome üyelerinin öngörüsü ile çıkarılabilmekte ve araştırılan tümör belirlenebilmektedir (12). Tümörün protein kalıbını çıkararak, çoklu biyo belirteçlerin panel şeklinde çalışılabilmesi temeline dayanan genomiks ve proteomiks teknolojileri, kanser gibi bir çok genin ve faktörün etkilendiği hastalık tablolarında, özgül ve duyarlı diyagnostik, prognostik, ve terapötik hedefli moleküler klinik çalışmalara önemli ipuçları verebilen yeni bir çalışma alanıdır. Plazma ve serumda miRNA' ların varlığını ilk kez Lawrie ve arkadaşları göstermiştir (13). O günden bu yana, dolaşımdaki miRNA' ların prostat, kolorektal, özofajiyal gibi çeşitli kanserlerde plazma veya serumda değişik seviyelerde eksprese olduğu rapor edilmiştir (14-16). miRNA' ların en önemli avantajı plazma veya serumdaki farkedilebilir stabiliteleri kadar invaziv olmayan şekilde tekrar ölçümlerinin mümkün olmasıdır (17, 18). Serum ve plazmada miRNA' ların tespit edilmesi kısmen kolaydır ve dolaşımdaki miRNA' ların invaziv olmayan belirteçler olarak kullanılabilmesi mümkündür (19). miRNA' lardaki değişim, prostat, böbrek ve mesane başta olmak üzere ürolojik kanserlerin patofizyolojisinde önemli rol oynayabilir. Yapılan çalışmalarda, malign hücrelerde miRNA ekspresyon spektrumunun sağlıklı hücrelere göre anlamlı olarak farklı olduğu gösterilmiştir. Diğer taraftan miRNA' lar dokuya özgü eksprese olmaktadır ve doku tipindeki ekspresyon değişikliklerinin hastalığın prognozu ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir (8, 20). Özetle miRNA' ların prognostik biyo belirteç olması için, miRNA ile tümör evresi ve derecesi arasındaki ilişkiyi aynı zamanda her doku için ayrı ayrı analiz etmek gerekmektedir.

miRNA profilini ortaya çıkarmak ya da ekspresyon düzeylerini belirlemek tek başına yeterli değildir. Bu moleküler belirteçleri klinikte uygulama sahasına sokmak da gereklidir. Bunun için, öncelikle, birincil veya metastatik tümörlerde miRNA ekspresyon düzeylerinin nasıl olduğu bilinmelidir. Farklı tümör tipleri için benzer miRNA' lar çok veya az eksprese oluyorsa, bu miRNA' ların hedef yönleri nelerdir tespit edilmelidir. Bu hedefler farklı tümör tipleri için aynı mı yoksa farklı mıdır belirlenmelidir. Cevap bekleyen bu ve benzeri soruları aydınlatacak potansiyeli olan miRNA ve bu miRNA' ların hedef gen mRNA' sıyla ilişkisini açığa çıkarmayı amaçlayan çalışmaların, prostat kanseri gibi çeşitli ürolojik kanserlerdeki sayılarının

artmasıyla birlikte, bu kanserlerin tanımlanmasında, gelecekteki tedavi olanaklarının seçiminde küçük ama işlevi büyük olan adımlar atılacağına ve başka çalışmalara ışık tutulacağına inanmaktayız.

Bu fikirlerden yola çıkarak, bu çalışmada günümüze kadar ürolojik kanserlerle ilişkili olduğu tanımlanmış miRNA' ların prostat kanserindeki ekspresyon profillerinin belirlenmesine katkıda bulunabilmek amaçlanmıştır. Bunun için ürolojik kanserlerde yaygın olarak çalışılmış ve az bir kısmı da ürolojik kanserlerde çalışılmamış olmakla beraber başka adeno kanser patofizyolojisinde rol aldığı bilinen 12 miRNA belirlenerek bir panel haline getirilmiş ve prostat kanserli bireylerin BPH' li bireylerden sadece serumdaki değerlerine bakılarak ayrılabilmesi konusunda katkı sağlayabilmek hedeflenmiştir. Çalışmamızda araştırmaların kliniğe de yansıtılarak, çeşitli miRNA' lar ile PSA' nın birlikte kullanımının prostat kanseri tanısındaki etkinliğine ve gereksiz prostat biyopsilerini ne ölçüde azaltabileceğine odaklandık. Bu miRNA' lar miRNA-17-5p, miRNA-21, miRNA-30c, miRNA-107, miRNA-141, miRNA-145, miRNA-181a-2, miRNA-221, miRNA-331-3p, miRNA-375, miRNA-432 ve miRNA-574-3p' dir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. PROSTAT

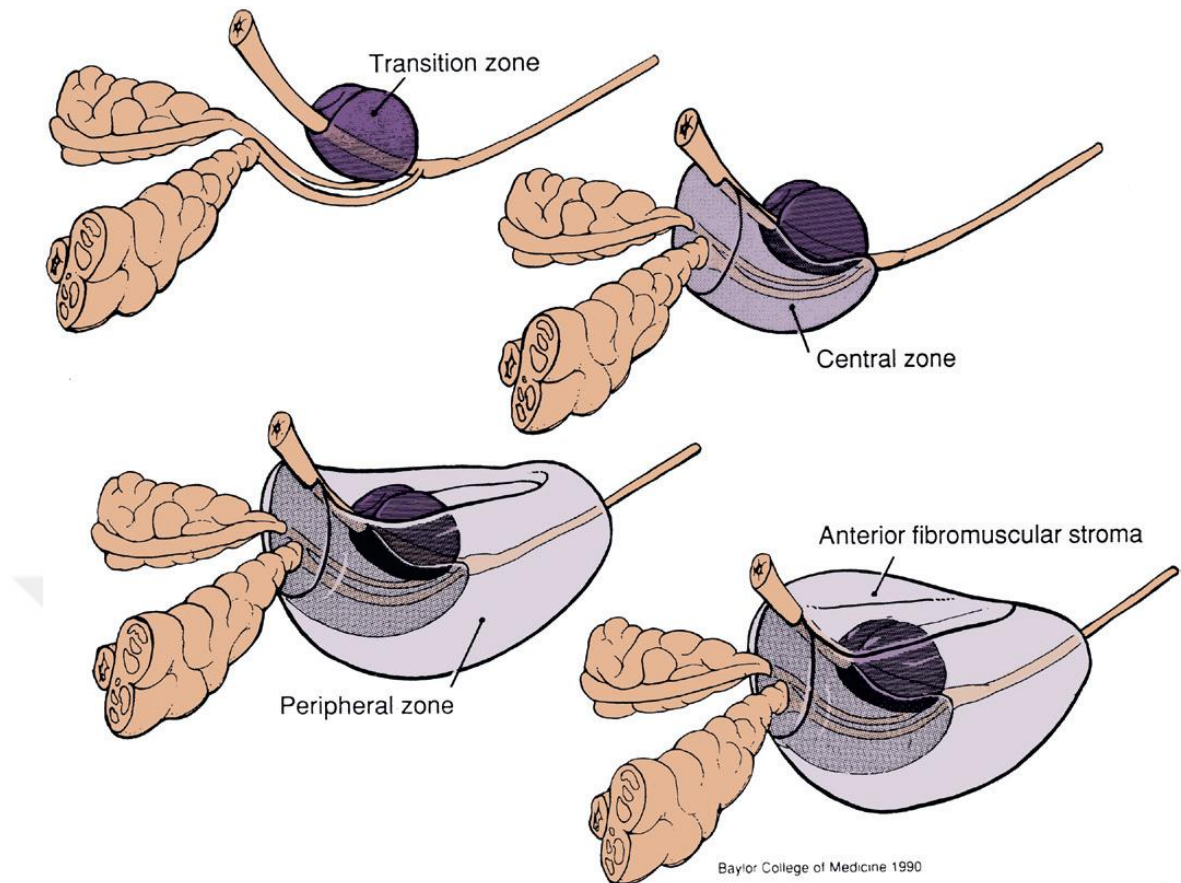
#### 2.1.1. Prostat Anatomisi

Erkek genital sisteminin en büyük aksesuar bezi olan prostat, mesane boynu ile ürogenital diyafram arasında, gerçek pelviste yer alır. Pubis simfizisin alt sınırının arkasında ve rektumun önünde bulunur. Prostat bezi, tabanı proksimalde mesane boynu ve veziküla seminalis giriş noktalarında, apeksi distalde ürogenital diyaframda olan ters çevrilmiş koniye benzeyen, prostatik üretrayı çevreleyen fibromusküler glandüler bir organdır (21). 20 yaşındaki erkekte, transvers çapı tabanda 4,5 cm, vertikal çapı 3,5-4 cm, anteroposterior çapı 3 cm olan prostat bezi, ortalama 20 gr ağırlığındadır. Prostatik üretra, bezin merkezinde vertikal olarak ilerlerken, verumontanum seviyesinde öne doğru yaklaşık 35°' lik açılanma oluşturur. Denonviller fasyası olarak bilinen ince bağ dokusu tabakası, posteriorda prostat ve veziküla seminalisleri rektumdan ayırır (21).

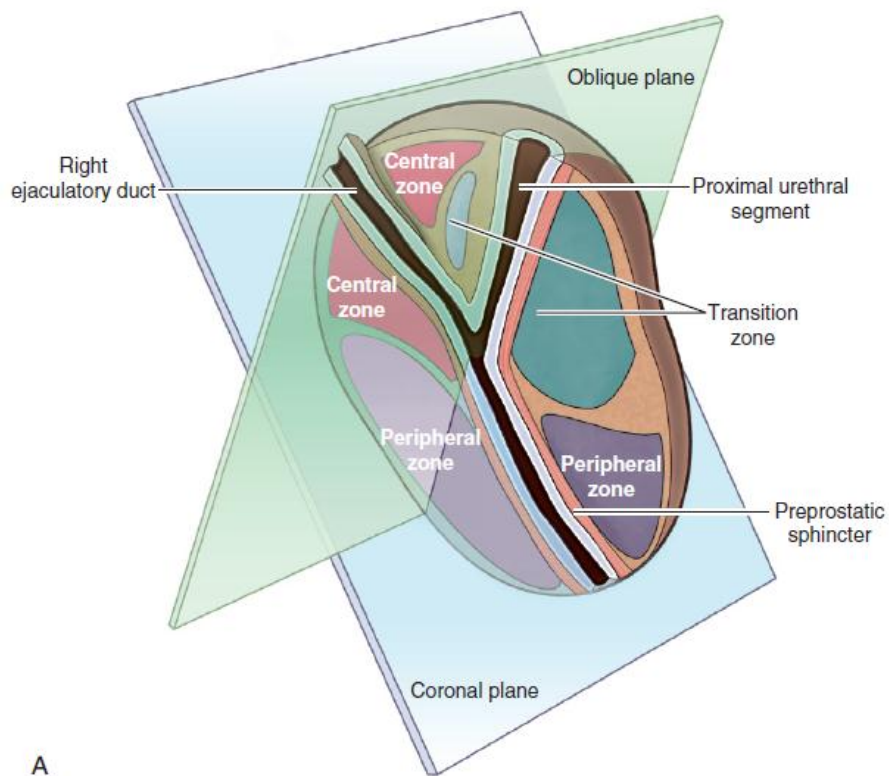
Prostat kanlanması başlıca arteria vezikalıs inferior, rectalis media ve arteria pudenda interna' dan sağlanır. Prostat venleri presakral vertebral pleksuslarla (Batson venleri) anastomoz yaparlar. Bu yapı prostat kanserinin erken vertebral yayılımını açıklar. Son olarak internal iliak venlere drene olur. Lenfatikleri ise bezin çevresinde pleksus oluşturarak internal iliak lenf düğümlerine boşalır. Prostatın sinirleri, inferior hipogastrik pleksustan gelmektedir (22)

#### Zonal Anatomi

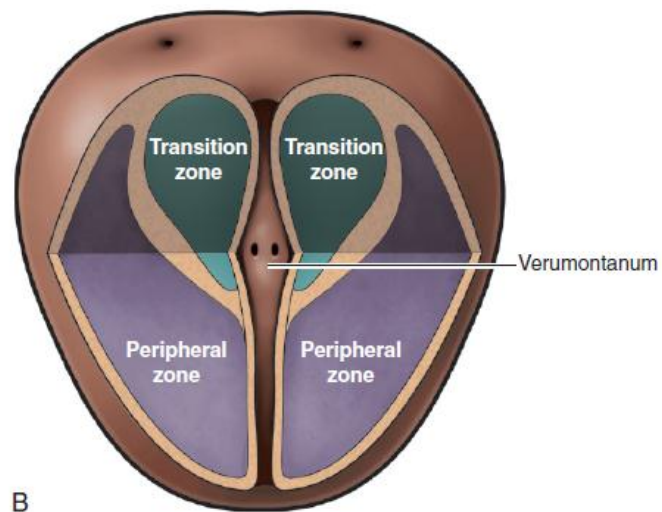
Orta hattın palpasyonuna dayanarak, sağ ve sol lobdan söz edilse de, prostat dokusu teorik olarak, iç ve dış zonlara ayrılmaktadır. Genelde iç zon BPH' nin, dış zon ise kanserin geliştiği anatomik bölgelerdir (21). Ancak bazı kanserler iç zonda yerleşebileceği gibi, BPH de dış zonda bulunabilir (23) . Prostat dokusu, en çok kabul gören McNeal' in anatomik modelinde, prostatik üretra ile olan ilişkisine göre, beş farklı bölgeye ayrılır. Anterior veya ventral fibromusküler bölge ve preprostatik sfinkter nonglandüler bölümü oluşturur; santral zon, periferik zon ve transizyonel zon ise glandüler bölümü oluşturur (24, 25).



**Resim 2.1** Prostatın Zonal Anatomisi ( Chung B.I., Sommer G., Brooks J.D. Anatomy of the Lower Urinary Tract and Male Genitalia. In: Walsh P, Retik A, Vaughan E, Wein A. Campbell's Urology, Chapter 2, Page: 58, 2012)



A



B

**Resim 2.2** Prostatın Zonal Anatomisi (Roehrborn C.G. Benign Prostatic Hyperplasia: Etiology, Pathophysiology, Epidemiology, and Natural History. In: Walsh P, Retik A, Vaughan E, Wein A. Campbell's Urology, Chapter 91, Page:2580, 2012. )

**A-** Sagittal Kesit      **B-** Coronal Kesit

## A- Glandüler Prostat Dokusu

**1) Santral Zon:** Glandüler prostat dokusunun yaklaşık %25' ini oluşturur. Apeksi verumontanumda, tabanı mesane boynunda, ters bir koni şeklinde, ejakülatuar duktusları sarar ve lateral köşesi, proksimal periferik zon köşesi ile birleşir. Santral zon duktusları, verumontanumda ejakülatuar duktus ağızlarının yanına açılır (26). Santral zon histolojisinin önemi, buradaki duktusların yüksek dereceli PİN' yi taklit edecek şekilde psödostratifikasyon göstermesi ve kribriform yapı içermesidir.

**2) Transizyonel Zon:** Distal ve proksimal üretranın birleşim yerinde, üretranın hemen çevresinde yer alan küçük bir grup glandüler elemandan oluşmuştur. Tüm prostatın %5' inden azını oluşturmaya rağmen fonksiyonel önemi çok fazladır. Benign prostat hiperplazisinin köken aldığı zondur (27).

**3) Periferik Zon:** Glandüler prostat dokusunun %70' ini oluşturur. Prostat bezinin bazal kısmında, santral ve transizyonel zonu çevreleyerek, distalde posterior, posterolateral ve lateral yönde uzanır ve distal prostatik üretrayı sarar. Periferik zon asinüsleri küçük ve yuvarlaktır. Hücreleri düzenlidir ve stroması gevşektir (26). Periferik zon, prostat dokusunu çevreden sınırlar. İnflamasyon, kanser ve PİN' nin en sık görüldüğü bölgedir ve kanserlerin %70-75'i bu bölgeden köken alır (24).

**4) Preprostatik Bölge:** Periüretral duktusları ve transizyonel zonu içerir. Normal glandüler prostat dokusunun yaklaşık %5' ini oluşturur. Transizyonel zon, proksimal prostatik üretra etrafında yerleşir (24). Transizyonel zon, BPH' nde en çok tutulan bölgedir. Prostat kanserlerinin yaklaşık %15-20' si transizyonel zondan köken alır (28).

## B- Nonglandüler Prostat Dokusu:

Tüm prostat dokusunun 1/3' ünü oluşturan en geniş parçasıdır. Preprostatik sfinkter, çizgili sfinkter, anterior fibromusküler stroma ve prostat kapsülünden oluşur (24).

**1) Proksimal (Preprostatik) Sfinkter:** Proksimal üretra segmenti etrafında, düz kas liflerinden oluşan, manşon tarzında yapıdır. Ejekülasyon sırasında proksimal segmentin kapanmasını sağlayarak, seminal sıvının retrograd akışını önler. Ayrıca istirahat tonisitesi ile de proksimal üretral segmentin kapanmasını sağlar (24, 29).

**2) Çizgili sfinkter:** Verumontanum ve prostat apeksi arasında bulunur. Prostat apeksinin altında eksternal üretral sfinkter ile devam eder (24).

**3) Anterior fibromusküler stroma:** Prostatın anteromedial yüzeyinde yer alır. Mesane boynundan aşağıya doğru genişleyerek ilerleyen doku, prostat apeksinde daralarak üretra ile birleşir. Yoğun fibröz doku ve düz kas liflerinden oluşmuştur, çok az bez yapısı içerir.

**4) Prostat kapsülü:** Fibromusküler stromanın periferde yoğunlaşmasından oluşur ve prostatın eksternal yüzeyinin çoğunu çevreler. Prostatın posterior ve lateral yüzeylerini saran kapsül, ön tarafta anterior fibromusküler stroma ile devam eder. Santral ve periferik zonlardaki terminal asinüsler kapsüle ulaşırken, transizyonel bölgenin terminal asinüsleri, anterior fibromusküler stromaya ulaşır. Prostatın apeksinde, anterolateral bölgede, kapsül ortadan kalkar ve bezler, eksternal sfinkterinkiler de dahil olmak üzere çizgili kaslarla iç içe uzanır. Mesane boynunda da kapsül bulunmaz ve stroma mesane boynu düz kas lifleriyle iç içe geçer (24).

### 2.1.2. Prostat Embriyolojisi

Prostatik üretra epiteli, ürogenital sinüs endoderminden köken alır. Embriyonel gelişimin üçüncü ayında prolifer olmaya başlayarak çevresindeki mezenşimal doku içine penetre olan bazı tomurcuklanmalar gösterir. Prostatın glandüler bez epiteli bu endodermal hücre tomurcuklarından gelişirken, epitel hücreleriyle ilişkili mezenşimden ise, organın stroması ve düz kasları meydana gelmektedir (30). Üretral orta noktada, verumontanum seviyesinde prostata açılan ejakülatuar duktuslar ve etrafındaki mezenkim dokusu, Wolff kanalı (mezonefrik kanal) kökenlidir. Bu nedenle prostat çift embriyonik kökenlidir (24). Neonatal dönemde çapı 1 cm' den az olan prostat, puberteye kadar gelişerek 2 cm' den küçük

apa ulaşır. Puberteden sonra prostatın matürasyonu hızlanır. 20 yaşında erişkin halini alır (24).

### **2.1.3. Prostat Histolojisi**

Prostat epitelyal ve stromal hücrelerden oluşur. Epitelyal hücreler, prostatik üretraya açılan duktuslardan başlayıp, asinüslerde sonlanan bez yapılarını oluştururlar. Prostat duktus ve asinüsü arasındaki ayırım, primer olarak küçük büyütmedeki yapısal özelliklere dayanılarak yapılır. Duktuslar, dallanma gösteren, uzun tübüler yapılar şeklinde izlenirken; asinüsler, lobüler üniteler halinde gruplanma gösteren, yuvarlak bez yapılarından oluşur. Enine kesitlerde duktuslar asinüslerden ayırt edilemez. Glandüler prostat epiteli; sekretuar, bazal ve nöroendokrin hücrelerden oluşur (28, 31).

## **2.2. PROSTAT KANSERİ**

### **2.2.1. Prostat Kanserinin Tarihçesi**

Prostat bezi ilk kez İtalyan hekim Niccolo Massa tarafından tanımlanmıştır ve Yunanca’da “önceden hazırlama” anlamına gelmektedir. 16. yüzyıl Avrupa’ında ünlü Fransız cerrahı Ambroise Pare mumyalanmış kadavralar üzerinde yeni tıbbi teknikler denemiş ve prostat bezini mesaneden ayrı bir organ olarak tanımlayan ilk kişi olmuştur. Meninin oluşturulmasını sağlayan organlar ve ejakülasyon kanallarıyla prostat bezinin arasındaki bağlantıyı detaylandırmış, ejakülasyon esnasında nasıl çalıştığını açıklamıştır. alışmaları, prostat fonksiyonlarını anlamamızda büyük katkılar sağlamıştır.

Prostat kanseri ilk kez 1817 yılında doktor George Langstaff tarafından tıp literatüründe tanımlanmıştır (32) ve prostat ilk kez 1904 yılında Johns Hopkins Hastanesi’nde alışan Young tarafından cerrahi olarak radikal perineal prostatektomi ile çıkarılmıştır. Bu teknik sonraları, 40 yaş erkekler için operasyonla hastalığın oluşturduğu yan etkileri azaltmak amacı ile kullanılmıştır; fakat, neredeyse tüm hastalar ameliyat sonrasında cinsel işlevlerini yitirmişlerdir. 1945 yılında Millin, radikal retropubik prostatektomiye ilk kez uygulamış ve bu metod, 1983 yılında Walsh tarafından erkeğin cinsel iktidarını devam ettirebilmesi için modifiye

edilmiştir. 1941 yılında Charles Brenton Huggins, ilerlemiş prostat kanserli hastalarda androjen hormonunun kan dolaşımından uzaklaştırılması için orşiektomi operasyonunu uygulamış, oral östrojenlerin prostat kanserli hastaların tedavisinde kullanımını rapor etmiştir. 1966 yılında prostat kanserinin hormonal tedavisi ile ilgili yeni çalışmaları nedeniyle Huggins, Fizyoloji ve Tıp alanında Nobel ödülüne layık görülmüştür (33). Prostat kanserinin tanı ve tedavisinde en büyük ilerlemeler 1980' li yılların ortalarından itibaren sağlanmıştır. Özellikle 1990' lı yıllardan beri geliştirilen yeni testler ve prostat kanseri tedavisindeki çarpıcı değişiklikler, prostat kanserinin evresi ve bu hastalığa bağlı ölüm oranlarını azaltmıştır. Prostat kanserinin tedavisinde yaşanan bu gelişmelere karşın hastalığın gelişimine yönelik araştırmalar yetersiz kalmıştır. Prostat kanserinin erken teşhisi ve uygun tedavisi için yeni ve daha iyi çözümlerin oluşturulmasında moleküler araştırmalara yer verilmesinin gereği vurgulanmıştır.

### **2.2.2. Prostat Kanserinin İnsidansı Ve Epidemiyolojisi**

Prostat kanseri 2012 verilerine göre erkeklerde tahmini 241.740 yeni vaka ile cilt kanserinden sonra görülme sıklığında ikinci ve metastaz potansiyelinin yüksek olması nedeniyle 28.170 vaka ile akciğer kanserinden sonra kanser kaynaklı ölümlerde ikinci sırada yer almaktadır (1). Türkiye'de yapılan çalışmada insidans 35/100000 olarak ifade edilmiştir (2).

### **2.2.3. Prostat Kanseri Risk Faktörleri**

**Yaş:** Prostat kanseri ileri yaş erkeklerin hastalığı olup, tanı anındaki ortalama yaş 68 olup yeni tanı konmuş hastaların %63' ü 65 yaşın üstündedir. 85 yaşında, prostat kanseri riski tüm dünyada %0.5-20 arasında değişir. Otopsi çalışmaları sonuçlarına göre; 4. dekadaki erkeklerin %30' u, 6. dekadaki erkeklerin %50' si ve 85 yaş üstündeki erkeklerin %75' inden fazlasında histolojik (latent) prostat kanseri saptanmıştır. 50 yaşından küçük erkeklerde prostat kanseri teşhisi tüm vakaların sadece %2' sidir (3).

**Coğrafi Özellikler:** Prostat kanseri insidansı etnik populasyonlar ve ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Asyada, özellikle Çinlilerde (yıllık olarak 1.9/100.000) düşük oranda saptanırken; Kuzey Amerika, İskandinav ülkeleri ve özellikle Afrikalı Amerikalılarda (yıllık olarak 249/100.000 ) en yüksektir (3).

**İrk:** Afrikalı Amerikalılarda görülme oranı beyaz Amerikalılara göre 1.6 kat daha fazladır (3).

**Hormonal Faktörler:** Prostat kanserinin gelişimi ve ilerlemesi androjenlerden etkilenir. Medikal veya cerrahi kastrasyon ile testesteronun kesilmesi sonucu tümör geriler (34). İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I), tümör hücrelerinin proliferasyon, diferansiyasyon ve apoptozisini düzenler. Prostat kanseri riski, yüksek plazma IGF-I düzeyi ile doğru orantılıdır (3).

**Diyet:** Prostat kanseri gelişiminde rol oynayabileceğine dair çalışmalar mevcuttur. (3).

#### 2.2.4. Prostat Kanserinin Klinik Özellikleri ve Tanısı

Prostat kanseri erken dönemde nadiren semptom oluşturur. Mikroskobik kanserler otopsilerde veya BPH gibi nedenlerle çıkarılan prostat dokusunda tesadüfen tespit edilirler. Prostat kanseri, parmakla rektal muayenede şüpheli nodül veya yükselmiş serum PSA düzeyi nedeniyle yapılan biyopsi sonucunda da ortaya konabilir. Klinik olarak ilerlemiş prostat kanserli hastalarda; alt üriner sistem semptomları görülebilir. Özenli yapılan parmakla rektal muayene ile bazı posterior lokalizasyonlu prostat kanserleri erken tespit edilebilmekle birlikte, duyarlılık ve özgüllüğü düşüktür. Transrektal ultrasonun prostat kanser tanısındaki esas rolü; diagnostik kullanımından ziyade biyopsi alımında yol gösterici olmasıdır. TRUS, 5 mm' ye kadar olan hipoekoik prostat tümörlerini saptayabilmesine rağmen, izoekoik olanların %30 kadarını tespit edememektedir. Kesin tanı için transperineal veya transrektal biyopsi gereklidir. Bilgisayarlı tomografi ve magnetik rezonans görüntüleme ile lenf nodundaki mikroskobik metastazlar tespit edilemediği için bir çok merkez evreleme için pelvik lenfadenektomiye kullanır (34). PSA, prostat

kanserinin tarama, tanı ve takibinde yaygın olarak kullanılan bir tümör belirleyicisidir (35). PSA, hem normal hem de tümöral prostatik epitel tarafından üretilmektedir. PSA prostatik asinüslerin içine yüksek yoğunlukta salgılanır ve oradan seminal sıvıya geçip, seminal sekresyonların akışkan durumda kalmasını sağlayarak, spermlerin hareket yeteneğini artırır. Serum PSA yüksekliği, ilerlemiş kanserde olduğu gibi lokalize kanserde de görülebilir. Serum PSA seviyesinde artış, PSA' nın prostat dokusu içine difüzyonunu sağlayan normal prostat yapısının bozularak, normal yapısını kaybetmesinin bir sonucu olarak ortaya çıkabilmekte ve PSA' nın dolaşıma katılmasına neden olabilmektedir. Bu, prostatın hastalıklarında (BPH, prostatit, prostat kanseri) ve prostat manüplasyonları (prostat masajı, prostat biyopsisi) sonucunda meydana gelir (36). Ejekülasyon sonrası PSA' da anlamlı bir artışın olmadığı izlenmiştir (37). 30 ile 40 yaş arası erkeklerde ya da gençlerde ejakülasyon sonrası serum PSA değerlerinde anlamlı bir azalma izlenmiştir (38). Yaşlı grupta ise ejakülasyon PSA' da artışa yol açarak, hatalı yükselmelerle sonuçlanabilir (39). Lokalize prostat kanserli hastaların %20-25' inde PSA 4.0 ng/ml' nin altında seyreder. BPH' li hastaların %25' inde ise 4 ng/ml' in üzerindedir. Tüm bu bulgular PSA' nın kansere değil de organa özgü olmasına bağlı olup, bu belirtecin kullanımında özgüllüğüne ait kısıtlamalar oluşturmaktadır. Catalona ve arkadaşlarının çalışmasında PSA değeri 2.6-4 ng/ml olan bireylerin %22' sinde prostat kanseri gösterilmiştir (40). Öte yandan PSA' sı 4-10 ng/ml arasında olanlarda kanser oranı %25' dir. Bir başka ifadeyle PSA' sı 4-10 ng/ml arasında yapılan biyopsilerin %75' i gereksiz biyopsilerdir.

PSA'nın prostat kanseri tanısındaki etkinliğini, doğruluk yüzdesini arttırmak ve lüzumsuz biyopsi sayısını azaltmak amacıyla bazı alternatif formüller geliştirilmiştir. PSA dansitesi, transizyonel zon PSA dansitesi, PSA velositesi, yaşa bağlı PSA ve serbest/total PSA oranları; total PSA'nın özgüllük ve etkinliğini arttırmaya yönelik çalışmalarda ortaya atılmış ve bir ölçüde başarılı olmuş PSA türevleridir. PSA dansitesi, PSA' nın ultrasonografi ile hesaplanan prostat hacmine bölünmesi ile bulunur. İlk çalışmalarda PSA dansitesinin 0.15' in üzerinde olmasının prostat kanseri lehine olduğuna dair veriler elde edilmişse de, prostat boyutundaki, şeklindeki ve epitelyal-stroma oranındaki vakalara özgün değişiklikler bu PSA türevlerinin güncel kullanımını kısıtlamıştır. PSA dansitesi için 0.15 değeri referans

olarak alındığında kanserlerin %50' sinin kaçırılabilceğini gösteren çalışmalar yapılmıştır. PSA hızı (velositesi) özgüllüğü arttırmak amacıyla diğer bir PSA türevi olarak zaman içinde kullanılmıştır. PSA' nın 10 ng/ml' nin altında olduğu olgularda, yılda 0.75 ng/ml üzerindeki artışlar %72 duyarlılık, %95 özgüllük ile prostat kanseri varlığını öngörür. PSA' nın artışına neden olabilecek malignite dışı etmenlerin varlığı (BPH, prostatit vb) ve velosite tayini için önceki PSA değerlerinin bilinmesi gerekliliği, bu PSA türevinin güncel kullanımını sınırlayan başlıca etmenlerdir. Diğer PSA türevlerinden transizyonel zon PSA dansitesi ve yaşa özgü PSA değerleri de benzer nedenlerle kullanımını büyük ölçüde yitirmiş PSA türevleridir. Günümüzde prostat hastalıklarının benign/malign ayırımında en çok kullanılan PSA türevi serbest/total PSA oranıdır. Serbest/total PSA oranı aynı zamanda güncel olarak kullanılmaya başlanan diğer PSA alt tiplerinin araştırılmasının temelini oluşturmaktadır. Çalışmalara genel olarak göz atıldığında serbest/total PSA oranları için %14-25 arasında referans değerler kabul edildiği takdirde, %95 duyarlılığa karşın %40' lara varan özgüllük değerleri elde edilebilmektedir. Yapılan çalışmalarda 4-10 ng/ml arasında serbest/total PSA oranı %10' un altında ise biyopside kanser bulma oranı %56, serbest/total PSA oranı %25' in üzerinde ise kanser bulma oranı %8' den küçüktür. Gri zonda özgüllükte görülen bu iyileşmeler, PSA 2.5-4 ng/ml aralığında da karşımıza çıkmaktadır (41)

Serum PSA' nın normal kişilerde tavsiye edilen yaşa spesifik üst referans değerleri; 40-49 yaş için 2.5 ng/ml, 50-59 yaş için 3.5 ng/ml, 60-69 yaş için 4.5 ng/ml, 70-79 yaş için 6.5 ng/ml' dir (42). PSA prostat kanserinde taramada, tanıda, evrelemede ve tedavi sonrası izlemde yaygın olarak kullanılmaktadır. Prostat Kanseri Önleme Çalışması (PCPT; Prostat Cancer Prevention Trial ) ile ilgili vurgulanması gereken en önemli noktalardan birisi PSA değeri 4 ng/ml altında olan erkeklerde kanser yok denilebilecek değerin olmamasıdır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre PSA değeri 0.5 ng/ml' nin altında ve 0.6-1.0 ng/ml arasında olan erkeklerde sırasıyla %6.6 ve %10.1 oranında kanser saptanmıştır. PSA değeri arttıkça prostat kanseri riski de artmaktadır (43). The National Comprehensive Network klavuzuna göre PSA değeri 2.5 ng/ml' nin üzerinde olan erkeklerde prostat biyopsisi yapılması önerilirken, Avrupa Üroloji klavuzlarında öneride bulunabilmek için daha fazla veri toplama gerekliliği ifade edilmektedir (44).

### 2.2.4.1. PCA3: Prostat Kanseri Antijeni 3

Kromozom 9q21' de yerleşmiş kodlanmayan mRNA' dır. BPH' ne oranla metastazlar dahil prostat kanseri dokusunda yüksek oranda üretilir. Prostat kanserine özgüdür. En spesifik prostat kanseri genidir. PSA' nın tanısai değerini artırır. Prostat kanseri tanısının invaziv olmayan idrar belirtecidir. Sadece prostat dokusunda eksprese edilir (45).

Prostat kanser hücresi sağ kalımında ve androjen reseptörü sinyali regülasyonunda fonksiyon görür (46). Prostat kanseri dokusunda BPH dokusuna göre ortalama 66 kat daha fazla eksprese edilir (47). PCA3 parmakla rektal muayene sonrası idrarda bakılır. İdrarda PSA Protein, PSA mRNA, PCA3 mRNA olarak bakılır. PCA3 skoru PCA3 RNA miktarının PSA RNA miktarına bölünüp 1000 ile çarpımıyla elde edilir (48). En iyi tanısai doğruluğun gözlendiği PCA3 sınır değeri 35'tir. PCA3 skoru arttıkça biyopside prostat kanseri olasılığı artar (49).

Prostat kanserinden diğer histolojileri ayırt eder (50). Prostat hacminden etkilenmez (51). Histolojik kronik prostatit ve HGPIN, PCA3 skorunu etkilemez (52). PCA3 tümör hacmini belirler. PCA3 skoru düşük gradeli, düşük hacimli tümörlerde daha düşüktür. PCA3 tümör agresifliği hakkında bilgi verir (53).

PCA3 nomogramı biyopsinin öngörü kesinliğini artırır (54). PCA3 nomogramı doğruluk oranı %73' tür (55).

PCA3 skoru ile gleason skoru, tümör ve evre arasında anlamlı ilişki gösterilememiştir (56). Preoperatif idrar PCA3 düzeyi ile lokalize hastalık öngörülebilir, lokal ileri prostat kanserini belirlemede faydası gösterilememiştir (57).

### 2.2.4.2. Gen Füzyonları Ve PCA

Kromozom 21'de lokalize prostat spesifik geninde Transmembran proteaz ve serin 2' yi ilgilendiren gen füzyonları gösterilmiştir. Prostat kanserli hastaların %50' sinde TMPRSS2-ERG (Trans Membrane PRotease Serine 2 gene – onkogeni ERG) gen füzyonu görülür. Füzyon sonrası ERG onkogeni androjene daha duyarlı olur. Gen füzyonları sadece kanser hücrelerinde ve HGPIN'de görülür (58). TMPRSS2-ERG gen füzyonu parmakla rektal muayene sonrası idrarda tespit edilebilir. Prostat kanseri tanısında özgüllüğü %90' dır (59). PCA3 ve TMPRSS2-ERG gen füzyonu

kombinasyonunda prostat kanseri tanısında duyarlılık %91.7 ve özgüllük %97.5' e kadar çıkmaktadır (60).

### **2.2.5. Prostat Kanserinin Histopatolojik Özellikleri**

Prostattaki kanserlerin %95' den fazlası adeno kanserlerdir. Diğer %5' in %90' ını transizyonel hücreli kanser oluşturur ve geriye kalan diğer kanserler ise nöroendokrin kanserler ve sarkomlardır (61).

Prostat kanserlerinin yaklaşık %70' i periferel zonda, çoğunlukla posterior bölgede yerleşir. Makroskopik incelemede neoplastik doku, etrafındaki non-neoplastik parankimden sert, gri veya sarı renkli, kötü sınırlı alanlar olarak ayrılır (62). Prostat kanserleri, parmakla rektal muayenede sıklıkla unilateral görülmekle birlikte, patolojik incelemede %70' inden fazlası bilateralidir. Olguların %85' inden fazlasında multifokal adeno kanser mevcuttur. Bunlar tümörün intraglandüler yayılımından çok gerçek multisentrik özelliğini gösterir. Santral bölgede lokalize olan tümörlerde multisentrisite daha az görülür. Prostat adeno kanserleri için dört mikroskopik pattern tariflenmiştir: orta çaplı glandlar, küçük glandlar, diffüz tek hücre infiltrasyonu ve kribriform yapı. Adeno kanserlerin çoğu histolojik olarak; iyi sınırlı, kolaylıkla ayırt edilebilen gland patterni oluşturur. Nöroendokrin özellik gösteren kanser, müsinöz adeno kanser, taşlı yüzük hücreli adeno kanser, adenoskuamoz kanser, skuamoz hücreli adeno kanser, adenoid bazal hücreli tümör (adenoid kistik kanser benzeri tümör), bazaloid kanser, lenfoepitelyoma benzeri kanser, tübülökistik berrak hücreli adeno kanser, sarkomatoid kanser, periferik duktus ve asinüs adeno kanseri varyantlarıdır (63).

Periüretal bölgede bulunan büyük duktuslardan köken alan kanserler çoğunlukla verumontanumda veya etrafında yerleşim gösterir. Prostat kanserlerinin % 0,4-0,8' i duktuslardan köken alır. Sistoskopik muayenede sıklıkla polipoid villöz veya infiltratif üretal komponent olarak görülür. Mikroskopik olarak tanımlanan tipleri büyük (prostatik) duktus adeno kanseri, endometrial tip (endometrioid) adeno kanser, primer transizyonel hücreli (ürotelial) kanser ve miks adeno kanser - transizyonel hücreli kanserdir (63) :

### 2.2.6 Prostat Adeno Kanserinde Evreleme Ve Derecelendirme

Prostat kanserinin evrelemesinde iki amaç vardır; prognozu tayin etmek ve hastalığın yaygınlığına göre uygun tedaviyi belirlemek (64). Prostat kanseri TNM sistemine göre evrelendirilmektedir. En son 2009 yılında gözden geçirilmiştir. Prostat kanserinde klinik evrelendirme (cTNM) ve patolojik evrelendirme (pTNM) vardır. Patolojik evrelendirme klinik evrelendirme ile aynıdır, ancak patolojik evrelendirmede T1 kategorisi yoktur. M ve N kategorisi tayini için bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans, kemik iliği için manyetik rezonans, kemik sintigrafisi kullanılabilir. Bu sınıflandırma adeno kanserler içindir; sarkom ya da prostatın değişici epitel hücreli kanserlerini kapsamaz. Prostatın değişici epitel hücreli kanseri üretra tümörü olarak sınıflandırılır. Bu nedenle hastalığın patolojik olarak kesinleştirilmesi şarttır. 2009 TNM sistemi Tablo 2.1’ de gösterilmiştir. Patolojik evreleme ise makroskopik ve mikroskopik incelemeye dayanır (Tablo 2.2). Patolojik evreleme, prognozu belirlemede klinik evrelemeden daha faydalıdır. Çünkü tümör volümü, cerrahi sınır, ektrakapsüler yayılım, vezikula seminalis ve pelvik lenf nodu tutulumu hakkında bilgi verir (64).

Prostat adeno kanserinin değerlendirilmesinde birçok derecelendirme sistemi mevcut olmasına rağmen en çok kabul gören Gleason derecelendirmesidir. Gleason sistemi; tümörün, küçük büyütmede tespit edilen, glandüler diferansiyasyon ve büyüme patterninin, stroma ile ilişkisine dayanır. Sitolojik özellikler tümör derecelendirmesinde rol oynamaz. Gleason sistemi, diferansiyasyon derecesi ve prostat stroması ile glandüler dokunun ilişkisine göre 5 dereceye ayrılır. 1 en iyi diferansiyasyonu, 5 en kötü diferansiyasyonu gösterir (65).

Derece 1: Tümör çevresi sınırlı, üniform, sıkışık ve ayırık yerleşimli bez yapılardan oluşur.

Derece 2: Genel olarak tümör çevresi sınırlı iken yer yer çevredeki non-neoplastik dokuya uzanımlar mevcuttur. Bez yapılar tekli ve ayrı ayrıdır. Ancak derece 1’ deki kadar üniform olmayıp daha gevşek yerleşimlidir.

Derece 3: Tümör non-neoplastik prostat dokusuna infiltre olmuştur. Bez yapılarının şekil ve boyutlarında belirgin farklılıklar izlenir. Derece 1 ve 2’ ye oranla daha ufak oldukları izlenir.

Derece 4: Bez yapıları birleşiktir. Tümör kenarları düzensiz, infiltratif karakterli olarak izlenir.

Derece 5: Glandüler diferansiyasyon tamamıyla ortadan kalkmıştır. Ortası nekroze tümör sahaları izlenebilir (65).

Primer (en sık) ve sekonder (ikinci en sık) yapısal patternler belirlenir. Hem birinci hem ikinci dereceler prognozda anlamlı kabul edilir. Her iki derece toplanarak “Gleason Skoru” elde edilir. Gleason skoru 2-4 iyi, 5-6 orta, 7 orta-kötü ve 8-10 kötü derecede diferansiye tümörleri gösterir (65).



Tablo 2.1 Prostat Kanseri 2009 TNM Evrelemesi

| Primer Tümör (T)                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Tx</b>                                                                                                                  | Primer tümör değerlendirilemiyor                                                                                                                                                                                            |
| <b>T0</b>                                                                                                                  | Primer tümör varlığına dair bir belirti yok                                                                                                                                                                                 |
| <b>T1</b>                                                                                                                  | Tümör klinik olarak saptanamıyor; palpe edilemiyor ya da görüntülenemiyor                                                                                                                                                   |
|                                                                                                                            | <b>a</b> Tümör rezeke edilen dokunun $\leq$ % 5 insidental olarak mevcut                                                                                                                                                    |
|                                                                                                                            | <b>b</b> Tümör rezeke edilen dokunun $>$ % 5 insidental olarak mevcut                                                                                                                                                       |
|                                                                                                                            | <b>c</b> Tümör iğne biyopsisi ile tanımlanmış (Örneğin, PSA'nın yüksek bulunması nedeniyle biyopsi istenmesi sonucu) (palpabl veya görüntüleme ile tespit edilebilir değil, bir veya iki lobda iğne biyopsisi ile bulunmuş) |
| <b>T2</b>                                                                                                                  | Tümör palpabl ve prostat dışına çıkmamış (prostat içine sınırlı)                                                                                                                                                            |
|                                                                                                                            | <b>a</b> Tümör tek bir lobun yarısında ya da daha azında sınırlı                                                                                                                                                            |
|                                                                                                                            | <b>b</b> Tümör tek bir lobun yarısından daha fazla yer kaplıyor, fakat iki lobda değil                                                                                                                                      |
|                                                                                                                            | <b>c</b> Tümör her iki lobu da içeriyor                                                                                                                                                                                     |
| <b>T3</b>                                                                                                                  | Tümör kapsülden prostat dışına çıkıyor (prostat apeksine invazyon, prostat kapsül içine [dışına değil] invazyon pT3 gibi değil pT2 gibi sınıflandırılır)                                                                    |
|                                                                                                                            | <b>a</b> Mikroskopik mesane boynu tutulumunu içeren kapsül dışına taşma (tek veya çift taraflı)                                                                                                                             |
|                                                                                                                            | <b>b</b> Seminal vezikül(ler) invaze                                                                                                                                                                                        |
| <b>T4</b>                                                                                                                  | Tümör fiks ya da seminal veziküller dışındaki dokuları invaze ediyor (Mesane boynu, eksternal sfinkter, rektum, levator kasları ve / veya pelvis duvarı).                                                                   |
| <b>Bölgesel Lenf Düğümleri (N)</b> (0,2 cm'den büyük olmayan metastaz pN1 mi (mikro metastaz) olarak değerlendirilebilir.) |                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Nx</b>                                                                                                                  | Bölgesel lenf düğümleri değerlendirilemiyor                                                                                                                                                                                 |
| <b>N0</b>                                                                                                                  | Bölgesel lenf düğümü metastazı yok                                                                                                                                                                                          |
| <b>N1</b>                                                                                                                  | Bölgesel lenf düğümü metastazı var                                                                                                                                                                                          |
| <b>Uzak Metastaz (M)</b> (Birden fazla bölge metastazında en ileri evre kullanılması uygun olur)                           |                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Mx</b>                                                                                                                  | Uzak metastaz değerlendirilemiyor (hiç bir şekilde değerlendirilmemiş)                                                                                                                                                      |
| <b>M0</b>                                                                                                                  | Uzak metastaz yok                                                                                                                                                                                                           |
| <b>M1</b>                                                                                                                  | Uzak metastaz var                                                                                                                                                                                                           |
|                                                                                                                            | <b>a</b> Bölgesel olmayan lenf düğüm/lerinde metastaz                                                                                                                                                                       |
|                                                                                                                            | <b>b</b> Kemik/lerde metastaz var                                                                                                                                                                                           |
|                                                                                                                            | <b>c</b> Başka bölge/lerde metastaz var                                                                                                                                                                                     |

**Tablo 2.2 Prostat Kanseri Patolojik (pT) Evreleme**

|             |                          |                                                                              |
|-------------|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| <b>pT2*</b> | Organa sınırlı           |                                                                              |
|             | <b>a</b>                 | Tek taraflı, bir lobun yarısını veya daha azını tutan                        |
|             | <b>b</b>                 | Bir lobun yarısından fazlasını tek taraflı tutan fakat her iki lobu tutmayan |
|             | <b>c</b>                 | Tümör her iki lobu da kaplıyor                                               |
| <b>pT3</b>  | Kapsül dışına yayılım    |                                                                              |
|             | <b>a</b>                 | Kapsül dışına yayılım                                                        |
|             | <b>b</b>                 | V. seminalis invazyonu                                                       |
| <b>pT4</b>  | Mesane, rektum invazyonu |                                                                              |

\* Patolojik T1 evrelemesi yoktur.

### Nomogramlar

Nomogram, hastalar ya da hasta gruplarının akıbetleri ile ilgili sürekli risklerin tayini için kullanılan modellerin grafik olarak temsil edilmesidir. Ancak bu nomogramların bazıları grafik (Kattan), bazıları ise tablolar (Partin) şeklindedir (66).

### Patolojik Evre Tahmini

Partin ve arkadaşları tarafından oluşturulan bu tablolar, olasılıkları sürekli bir biçimde değil de kategorik olarak sunmaktadır. Yani kategorik olarak olasılık yüzdeleri vermektedir. Bu nomogramda pre-operatif tPSA (0-2.5, 2.6- 4.0, 4.1-6.0, 6.1-10.0 ve > 10.0 ng/ml), klinik evre (T1c, T2a, T2b ve T2c) ve biyopsi Gleason toplamaları (2 – 4, 5 – 6, 3+4=7, 4+3=7 ve 8 – 10) kullanılarak radikal prostatektomi sonrası muhtemel patolojik evreleri (organa sınırlı, prostat dışı yayılım, seminal vezikül invazyonu, lenf nodu invazyonu) yüzdesel olarak tahmin edilmeye çalışılmıştır (66).

**Prognoz tahmini:** Kattan ve arkadaşları olasılıkları kategorik değil de sürekli bir skala üzerinde belirleyerek tahmin etmeye yarayan ilk nomogramları oluşturmuşlardır. Tedaviden sonraki yıllar içinde nüks (progresyon) olasılığının belirlenmesi her bir klinik parametre için belirlenen puanların toplamının skala

üzerinde işaretlenmesine dayanır. Skalada tedaviden sonra kaç yıl için tahmin yapıldığı yazılıdır. Preoperatif nomogramda preoperatif klinik parametreler (klinik evre, tPSA, biyopsi Gleason derecesi), postoperatif nomogramda ise patolojik parametreler (prostatektomi Gleason derecesi, prostat dışı yayılım, cerrahi sınır durumu, seminal vezikül invazyonu, lenf nodu invazyonu ) ve ek olarak preoperatif tPSA kullanılır (66).

### 2.2.7. Prostat Kanserinde Prognostik Faktörler

**Evre:** Tümör invazyonunun prostat kapsülü içine veya kapsül boyunca yayılımı, yüksek tümör derecesi, büyük tümör volümü, lenf nodu metastazının varlığı ve makroskopik olarak görülüyor olması kötü prognoz ile birlikte (63).

**Derece:** Gleason skoru 2-4 düşük, gleason skoru 8-10 yüksek biyolojik malignite gösteren tümörlerdir (67).

**Cerrahi Sınırlar:** Pozitif cerrahi sınır ile tümör progresyonu arasında güçlü bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (63).

**Tümör volümü:** Morfometrik tekniklerle ölçülen tümör volümü; Gleason derecesi, kapsül invazyonu, cerrahi sınırlar, vezikula seminalis invazyonu ve lenf nodu metastazı ile ilişkili bulunmuştur (63). 0.5 cc' den küçük tümörlerde ekstraprostatik yayılım nadirdir. 4 cc' den küçük tümörlerde lenf nodu metastazı veya vezikula seminalis invazyonu nadir olarak görülür. Tümör volümü derece ile de orantılıdır. (68).

**Yaş:** Prostat kanseri ileri yaş erkeklerin hastalığı olup, yeni tanı konmuş hastaların %63' ü 65 yaşın üstündedir. 50 yaşından küçük erkeklerde prostat kanseri teşhisi % 2 civarındadır (3). 35 yaşın altındaki vakalar kötü diferansiyasyon ve çok agresif davranışla karakterize olsa da hasta yaşı önemli bir prognostik parametre olarak görülmemektedir (21, 69).

**İrk:** Daha ileri evrede tespit edilmesinden dolayı, Afrikalı Amerikalılarda ölüm oranı beyaz Amerikalılara göre 2.4 kat daha fazladır (3).

**Başlangıç tanı metodu:** TUR' la prostat kanseri tanısı konan olgularda tümör yayılım insidansı, iğne biyopsisi ile tanı konulan olgulara oranla daha yüksektir. Bu durumun TUR yönteminin bir sonucu mu veya TUR ile tanı konabilen tümörlerin genellikle daha ileri evre tümörler olmasından mı kaynaklandığı henüz aydınlatılamamıştır (63).

**Serum PSA düzeyleri:** Tümör volümünün, tümör yaygınlığının ve tedaviye yanıtın indirekt göstergesi olan serum PSA düzeyinin prostat kanserinin prognozu ile ilişkili olduğu bilinmektedir. İleri evre hastalığı olanlar daha yüksek derece ve daha yüksek volüme sahiptir ve PSA değerlerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (44).

**PSAP ve PSA immünoreaktivitesi:** Dokularında PSAP ve PSA immünoreaktivitesi zayıf olan veya gösterilemeyen prostat kanserli vakalar, daha agresif davranış gösterirler (44, 63).

**Perinöral invazyon:** Perinöral invazyon, prostat kanseri tanısında değeri zamanla anlaşılan bir göstergedir, fakat prognostik değeri tartışmalıdır. Prostatın periferik zon adeno kanserleri prostat dışına perinöral boşluk aracılığıyla yayılır. Perinöral invazyon tek başına kötü prognoz oluşturmaz. Çünkü perinöral invazyon sadece tümörün azalmış dirençle birlikte bir bölgede yayılmasıdır, lenfatik içine invazyon değildir (21, 63). Biyopsilerde %38 oranında saptanır. Biyopside tek malignite bulgusu olabilir. Malignite için önemli bir kanıttır, ancak patognomonik değildir, çünkü nadiren benign asinüsler de izlenebilir. Buna karşı siniri çepe çevre kucaklama, intranöral invazyon ve gangliyon invazyonu sadece kanserde görülür. İğne biyopsilerinde saptandığında yüksek ekstraprostatik uzanım olasılığına işaret eder (70). Ancak gleason skoru, serum PSA ve kanser yaygınlığı göz önüne alındığında bağımsız bir prognostik faktör değildir, ancak varlığı ekstraprostatik uzanım ile %93 oranında ilişkilidir (71-73).

**Lenfovasküler invazyon:** Radikal prostatektomide vasküler invazyon nadiren tespit edilir. 4 cc' den küçük tümörlerin sadece %7' sinde görülür. Radikal prostatektomide saptanan vasküler boşluklara yayılım ile Gleason skoru, ekstraprostatik yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve tümör progresyonu ilişkili bulunmuştur (21, 63).

**Prostata spesifik membran antijeni (PSMA):** Proteolitik aktivitesi olan bir membran glikoproteinidir. En çok prostattan eksprese olur ve serum düzeyi sıklıkla prostat kanserli hastalarda artar. Çeşitli solid tümörlerin yeni oluşan damarlarında da PSMA' nın eksprese olduğu gösterilmiştir. Yine meme, duodenum, böbrek, prostat ve normal damarlarda da PSMA ekspresyonu tespit edilmiştir. Tümör görüntülemesinde kullanılan anti-PSMA monoklonal antikor J591' in tedavi amaçlı kullanılabilirliği de araştırılmaya başlanmıştır. Hem düşük dereceli hem de yüksek dereceli olan primer ve metastatik prostat kanserlerine ek olarak, intraepitelyal neoplazmların da çoğu tarafından salınır. Lenf nodu metastazı, veziküla seminalis invazyonu ve ekstraprostatik yayılım ile korele değildir (35, 74).

**Androjen reseptör durumu:** Prostat kanserinde androjen reseptör ekspresyonu heterojendir. İmmünohistokimyasal olarak androjen reseptörleri tespit edilemeyen tümörlerde prognoz daha kötüdür. Metastatik prostat kanserinde androjen reseptör geninde mutasyonlar saptanmıştır ve bunlar androjen bağımsız tümörlerdir (63, 74).

**DNA flowsitometri durumu:** Görüntüleme veya DNA flowsitometri ile saptanan tümör anaploidisi hem yüksek Gleason skoru, hem de daha yüksek lokal ve uzak yayılımla ilişkilidir. DNA flowsitometri durumu güçlü bir prognostik belirleyicidir, fakat klinikteki rolü tartışmalıdır (74, 75).

**Epitelyal Cadherinler:** Kanser hücrelerinde normalde mevcut olan hücre - hücre etkileşimi kaybolmuştur. E-cadherin, adezyon proteinlerinden biridir. Kromozom 16q23' de haritalanır ve prostat kanserinde allelik kayıp bölgesidir.

Prostat kanserinde özellikle kötü diferansiye tümörlerde E-cadherin ekspresyonu belirgin olarak azalmıştır (74).

**Dolaşımdaki tümör hücreleri:** PCR tekniği ile dolaşımdaki PSA oluşturan tümör hücrelerinin saptanması, tümör rekürrensini ve tümörün prostat glandına sınırlı olmama ihtimalinin yüksekliğini gösterebilir (63, 75).

**Heredite ve Genetik:** Prostat kanserinin başlangıç ve ilerlemesine yol açan spesifik nedenler henüz bilinmemesine rağmen, genetik ve çevresel faktörlerin bu hastalığın oluşumunda rol oynadığı gösterilmiştir. Çoğu prostat kanseri poligenik gibi olmasına rağmen gerçek herediter prostat kanseri varlığı için üç epidemiyolojik gözlem önerilmektedir. Bunlar; akrabalarında 55 yaş altında prostat kanseri görülenler akrabalarında daha ileri yaşta kanser görülenlerden daha yüksek riske sahiptir, erken başlangıçlı prostat kanserli ailelerde daha güçlü aile öyküsü vardır ve etkilenen aile bireylerinin sayısı ile başlangıçtaki yaşı akrabalar arasındaki riskin en önemli belirleyicileridir. Prostat kanserlerinin %15' inin ailesel ve/veya herediter olduğuna inanılmaktadır (3). İsveç ve ABD' de yaşayan, prostat kanseri açısından yüksek riskli 91 ailenin genetik incelemesi, 1. kromozomun uzun kolunda bir major hassasiyet bölgesi (1q24-25) bulunduğunu ortaya koymuştur. Bu kişilerde prostat kanseri daha erken yaşta görülmektedir (76).

#### 2.2.8. miRNA' lar

Son on yılda miRNA' lar diye adlandırılan bir grup kodlama yapmayan RNA' lar tespit edilmiştir. miRNA' lar post transkripsiyonel olarak gen ekspresyonunu düzenleyen endojen olarak sentezlenen 18-30 nükleotid içeren küçük RNA' lardır. Virüsler, bitkiler ve hayvan hücrelerinde bulunurlar (77, 78). Bu tek zincirli RNA' lar mRNA' nın 3' translayon olmamış bölgelerindeki tamamlayıcı alana ( 3'-UTR) bağlanarak hedef genlerin ekspresyonlarını negatif olarak regüle ederler (5). Kanserlerde regülasyonu artmış miRNA' lar onkogen; regülasyonu azalmış olanlar tümör baskılayıcı olarak ifade edilir (16). Plazma ve serumdaki miRNA' ların varlığını ilk kez Lawrie ve arkadaşları gösterdiler (13). O günden bu yana, dolaşımdaki miRNA' ların prostat, kolorektal, özofajiyal ve çeşitli kanserlerde

plazma veya serumda ekspresyon değişiklikleri gösterdiği rapor edildi (14-16). miRNA' ların en önemli avantajı plazma veya serumdaki farkedilebilir stabiliteleri kadar invaziv olmayan tekrarlanabilir ölçümlerinin mümkün olmasıdır (17, 18). miRNA' lar serum ve plazmadan elde edilmesi kısmen kolay olup invaziv olmayan biyo belirteçler olma potansiyeline sahiptirler (19). Kanser tedavisinde erken tanı çok önemlidir. Minimal invaziv tekniklerle erken tanı için belirteç arayışı devam etmektedir. Çeşitli kanser tipleri için erken tanı ve/veya prognostik belirteç olarak miRNA' ları öneren bir çok çalışma mevcuttur (79-81).

miRNA' lar posttranskripsiyonel gen ekspresyonunda önemli role sahiptir ve onların deregülasyonu hücrelerin transkripsiyonunda değişikliğe, tümör formasyonuna ve progresyonuna neden olabilir. Bugün için tümörlerin yaygın deregüle miRNA seviyelerine sahip olduğu bilinmektedir. Farklı tümör tiplerinde spesifik miRNA' ların artmış ekspresyonu veya azalmış regülasyonu onları potansiyel tanı belirteçleri veya tedavi hedefleri yapabilir. Tümör hücrelerindeki tümör baskılayıcı genleri inhibe eden regülasyonu artmış miRNA' lar yaygın olarak onkogenik miRNA' lar veya onkomir' ler olarak adlandırılırlar. Bir miRNA birden fazla miRNA' yı hedef alabilirken, bir çok miRNA da bir miRNA' yı hedef alabilir (6).

miRNA' lar hücre gelişimi, değişimi, çoğalması, hücre döngü kontrolü, apoptozis ve metabolizma gibi çeşitli işlemlerde önemli rollere sahiptir (4). miRNA' ların ekspresyonları kromozomal yeniden düzenlenmelerden (delesyonlar, amplifikasyonlar ve mutasyonlar), promotör (teşvik edici) metilasyonundan ve transkripsiyonun düzenlenmesinden etkilenebilir. Sapmalar, miRNA' nın artmış veya azalmış regülasyonu ile sonuçlanabilir. Ek olarak tek bir miRNA yüzlerce mRNA' yı hedef alabilir. Dolayısıyla miRNA değişimleri çeşitli mRNA' ların ve proteinlerin ekspresyonunu bozabilir ve çeşitli kanserlerin ortaya çıkmasına neden olabilir (79, 80). Farklı kanserlerdeki hastalık spesifik miRNA ekspresyon profilleri hakkında çeşitli araştırmalar yapılmıştır (81, 82). Kanserlerdeki miRNA profil ekspresyonlarının önemi, tanı, evreleme, progresyon, prognoz ve tedaviye yanıtta kullanılabilişliğine bağlı olarak artmaktadır. Sonuç olarak, miRNA' lar tanı ve tedaviye yanıt tahmini ile prognoz için yeni biyo belirteç adayları olarak kabul görmektedirler. miRNA' ların ısı, çok düşük veya yüksek pH, uzamış depolama ve

çeşitli donma çözülme siklusları gibi durumlara tabii tutulduklarında dahi stabil kaldıklarını ve diğer vücut sıvıları kadar serum ve plazmadaki ribonükleazdan iyi derecede korunduklarını gösteren çalışmalar vardır (17, 83). Bu nedenle kanser dokularındaki miRNA ekspresyon profilleri her bir kanser için diyagnostik ve prognostik belirteçler olabilir. Bazı çalışmalar miRNA' ların artmış veya azalmış regülasyonlarının kanser patogenezi ile de ilişkili olduğunu gösterdi (81, 84).

#### **2.2.8.1. Prostat Kanserinde miRNA' lar**

Bugün için, prostat kanseri profilini genetik açıdan ortaya çıkarma çalışmaları 2006' dan beri bağımsız laboratuvarlar tarafından gerçekleştirilmektedir ve bunların çoğu prostat kanserinde miRNA' ların yaygın deregülasyonunu göstermiştir (85, 86).

Kromozomal instabilite, epigenetik silinme, tümör baskılayıcı genlerin değişimi, ve bazı protein ekspresyonları gibi moleküler değişimler prostat kanserinin tümörigenezisi ile ilişkilidir (87, 88). Spesifik miRNA' ların ekspresyonu, normal ve kanser dokuları arasında ayırım yapmak için kullanılabilir. Sapsmış ERG onkogen ekspresyonu, PTEN (fosfataz ve tensin homoloğu) kaybı ve CD9 inaktivasyonunun prostat kanserinin progresyonunu sağladığı belirtilmektedir (89,90).

Lodes ve arkadaşları 1 mL kadar az serumda prostat kanserini tespit edebilmek ve normal ile prostat kanseri hastalarını ayırabilmek için yeterli miRNA' ların mevcut olabileceğini belirttiler (91). Bu sonuçlar miRNA' ların vücut sıvılarının az miktarında ölçülebileceğini ve biyo belirteçler olarak tespit edilebileceğini gösterir. Sonuç olarak dolaşımdaki miRNA ekspresyon değişiklikleri klinik tanı ve prognoz için kullanışlı biyo belirteçler olabilir. Prostat kanser dokularındaki miRNA' lar normal kontrollerle karşılaştırıldığında kanseri tespit etmek için kullanılabilecek gözden kaçan biyo belirteçler olabilir.

### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1. Hasta Ve Kontrol Grubu Örneklerinin Belirlenmesi

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama Ve Araştırma Hastanesi Üroloji Anabilim Dalı' na Haziran 2014 ile Kasım 2014 arasında müracaat eden, ve bir kısmı ameliyat edilen 27 prostat kanser hastası ile 32 BPH' li kontrol grubu çalışmaya dahil edilmiştir. Araştırmaya Tıp Fakültesi yerel etik kurulu onayı alınarak başlanmıştır (Etik kurul tarihi 24.12.2013, etik kurul karar no 2013-12/16). Belirlediğimiz hasta ve kontrol grubu bireylerinden 3cc kan örneği alındı ve aşağıdaki protokol takip edilerek serum elde edildi, serum örnekleri çalışma başlayıncaya kadar  $-80^{\circ}\text{C}$  de bekletildi, çalışma sayısına ulaşıldığında genetik ölçümlere geçildi.

#### 3.2. Serum Örneklerinin İzolasyonu

1. Biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri 4000 rpm' de 10 dk santrifüj edildi.
2. Santrifüj sonrası örneklerin serum kısmı steril 2 ml' lik eppendorf tüplere alınarak  $10^{\circ}\text{C}$ ' lik soğutmalı ortamda 10000 rpm' de 5 dk santrifüj edildi.
3. Üstteki süpernatant kısmı tekrar 2 ml' lik steril eppendorf tüplere alındı. Bu şekilde ikinci bir yüksek hızlı santrifüjleme basamağı uygulanarak geri kalan hücre parçacıklarının uzaklaştırılması sağlandı.
4. Elde edilen serum örnekleri steril mikrosantrifüj tüplerine alınarak RNA ekstraksiyonu yapıncaya kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ ' de saklandı.

#### 3.3. RNA İzolasyonu (Qiagen)

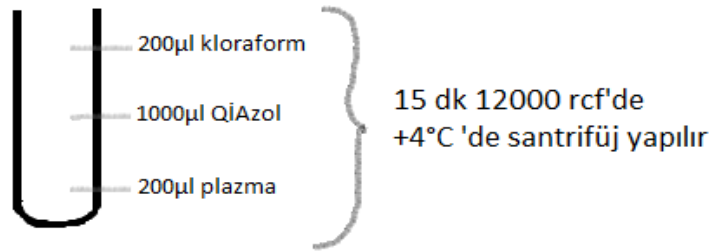
Serumdan elde edilen Total RNA (miRNA' larla birlikte tüm RNA çözeltisi) karışımı miRNeasy Mini Kit (Qiagen) kullanılarak, üretici firmanın talimatlarına uygun şekilde ekstrakt edildi. Bunun için aşağıdaki protokol takip edildi ve total RNA izolasyonu yapıldı. Kullanılan spin kolon yönteminde, Total RNA ekstraksiyonunda 4 ana aşama bulunmaktadır. Bunlar:

- A. Lizis: Kimyasal ve mekanik olarak parçalanma basamağıdır.
- B. Bindirme: Ortaya çıkan lizatın (RNA ve diğer hücre parçacıkları) filtreli spin tüplerine aktarılması basamağıdır.
- C. Yıkama: Ortaya çıkan kontaminantların uzaklaştırılması basamağıdır.

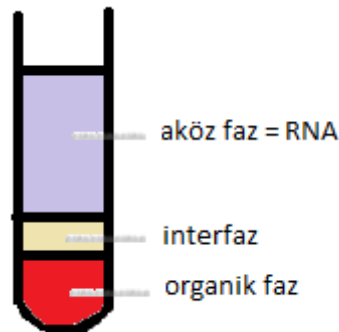
**D. Elüsyon:** Saf DNA' nın filtreden saflaştırılması basamağıdır.

### 3.3.1. Serum/Plazma' dan Total RNA İzolasyonu Protokolü:

1. Santrifüj +4°C' ye ayarlandı.
2. Daha önce elde edilerek -80 °C' ye kaldırılan serum/plazma örnekleri dondurucudan çıkarılarak soğuk spora alındı ve ara sıra vortex yapılarak erimeleri sağlandı.
3. 200 µl serum örneği üzerine 1000 µl QIAzol eklendi ve pipetaj yapıp kapağı kapatılarak, kuvvetlice vortexlendi.
4. Homojenat içeren tüp oda sıcaklığında 5 dk beklemeye bırakıldı.
5. Homojenat üzerine 200 µl kloroform eklenip kapağı kapatıldı ve 15 sn boyunca kuvvetlice vortexlendi. Homojenat içeren tüp oda sıcaklığında 2-3 dk beklemeye bırakıldı.



6. 12,000 x g' de, 4°C' de 15 dk santrifüj yapıldı ve santrifüjden sonra sıvı, renksiz üst faz, beyaz ara faz ve kırmızı alt faz olmak üzere 3 adet faz gözlemlendi. Üst faz RNA' yı içerir ve yaklaşık 600 µl alınmalıdır.



7. Yeniden steril tüplere örnek isimleri yazıldı. Aköz faz, interfazdan almaksızın dikkatlice yeni eppendorf tüplere taşındı.

8. Sıvı üst kısım yeni bir toplama tüpü içine aktarılarak, RNA' yı çöktürmek için üzerine 1.5 kat (900µl) %100' lük etanol eklendi ve pipetaj yapıldı. Bir kaç kez alt üst edilerek karıştırıldı ve bekletilmeden işleme devam edildi.
9. 700 µl kadar örnek (RNA + Etanol solüsyonu) toplama tüpü içine yerleştirilmiş RNeasy Mini Spin kolona aktarıldı ve 12000 rcf' de 15 sn oda sıcaklığında (+23°C' de) santrifüj edildi.
10. Gerektiğinde ikinci kez, bir önceki basamak örneğin kalanı için tekrarlandı ve toplama tüpü içinde toplanan sıvı atıldı. Bu toplama tüpü bir sonraki basamakta tekrar kullanıldı.
11. Kolon üzerine 700 µl Wash Buffer RWT eklenip aynı koşullarda (12000 rcf' de 15 sn oda sıcaklığında) tekrar santrifüj edildi, toplama tüpü içinde toplanan sıvı atıldı. Bu toplama tüpü bir sonraki basamakta tekrar kullanıldı.
12. Kolon üzerine 500 µl Buffer RPE eklenip aynı koşullarda tekrar santrifüj edildi ve toplama tüpü içinde toplanan sıvı atıldı. Bu toplama tüpü bir sonraki basamakta tekrar kullanıldı.
13. Kolon üzerine tekrar 500 µl Buffer RPE eklenip kolonun kuruması için 2 dk aynı koşullarda santrifüj edildi ve toplama tüpü içinde toplanan sıvı atıldı.
14. Kolon tek başına maksimum hızda santrifüj edilerek bir sonraki basamaklara çözelti taşınımının engellenmesi sağlandı.
15. RNeasy Mini spin kolon yeni 1.5ml' lik toplama tüpü içine alınarak, 30-50 µl RNase' sız su eklenip,  $\geq 8000 \times g$  ' de 1 dk santrifüj edilerek elüsyon tamamlandı. Bu işlemde eklenen RNA miktarı 30 µg' dan fazlaysa 15. basamak aynı hacim ve aynı tüp içerisine tekrarlandı.
16. İzole edilen RNA soğuk blokla -80°C' de saklandı.

#### **3.4. Reverz Transkripsiyon (RT) Reaksiyonu (cDNA Sentezi )**

Total RNA örnekleri (2 µl), Qiagen, MiScript reverz transkripsiyon kiti kullanılarak cDNA' ya dönüştürüldü. RNA örnekleri tek zincirli olduğu için bunu çift zincirli hale getirmek için cDNA haline getirildi. Bu basamakta miScript Reverse Transcriptase kiti kullanılarak, 20 µl total reaksiyon hacminde cDNA elde edildi. PCR analizlerine kadar cDNA örnekleri -80°C' de saklandı.

Aşağıda tablo 3.1’ de gösterildiği şekilde Reverse Transcription Mix hazırlandı. miRNA paneli için 125-250 ng total RNA ile başlandı. Bunun için tüplere 10’ ar  $\mu$ l mix dağıtıldı ve 10  $\mu$ l RNA eklendi.

**Tablo 3.1** Reverz Transkripsiyon Mix Hazırlanışı

| BİLEŞEN                                | REAKSİYON HACMI                    |
|----------------------------------------|------------------------------------|
| 5x miScript RT Buffer (HiSpec tamponu) | 4 $\mu$ l                          |
| 10x miScript Nucleics mix              | 2 $\mu$ l                          |
| Rnase’ sız su                          | Değişken (2 $\mu$ l kullanıldı)    |
| miScript reverse transkriptaz karışımı | 2 $\mu$ l                          |
| Kalıp RNA (Template RNA)               | 125-250 ng (10 $\mu$ l kullanıldı) |

1. Hazırlanan mix 37°C’ de 60 dk bekletildi.
2. miScript Reverse Transcriptase’ ın inaktivasyonu için 95°C’ de 5 dakika daha bekletildi ve hemen real-time PCR aşamasına geçilecek ise 200 $\mu$ l su eklenip protokol uygulandı, geçilmeyecekse elde edilen cDNA -20°C’ de bekletildi. Dilüsyon bu numune çözüldükten sonra yapıldı.

### 3.5. cDNA’ nın Preamplifikasyonu ve Real Time PCR

Custom miScript miRNA PCR Array (Qiagen) kullanılarak seçtiğimiz 12 adet miRNA’ ya ilave olarak 4 adet kontrol kuyusundan oluşan hazır plate’ ler kullanıldı. Mevcut tüm örnekleri kapsayacak şekilde yeterince PCR plate’ i kullanıldı. Preamplifikasyon için miScript SYBR Green PCR kiti kullanıldı. Bu kit içerisinde Real Time PCR aşamasında mevcut plate’ ler üzerine uygulayacağımız örneklerimizle birlikte kullanılmak üzere yetecek kadar SYBR Green Master mix karışımı ve diğer tamponlar bulunmaktadır.

Real Time PCR aşaması kit üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. 2  $\mu$ l’ lik cDNA örneği temiz bir 96-well’ lik plaka üzerine transfer edilerek ve üzerine 8  $\mu$ l DNA süspansiyon buffer (tamponu) eklenerek ve 5-6 kez pipetaj işlemi yapılarak reaksiyon ortamının iyice karıştırılması sağlandı. 1/5 oranında dilüe edilmiş 2  $\mu$ l’ lik RT ürünü, bir PCR tüpü içerisinde quantiTec SYBR

Green Marker Mix (2x) ve miScript evrensel primerler (10x) kullanılarak preamplifiye edildi. Real Time PCR yapılacak plaka düzeneğinde belirlediğimiz 12 miRNA' nın her birine spesifik forward primerler ve 4 tane de evrensel revers kontrol primeri (Applied Biosystem) mevcut bulunmaktadır. Buradaki şartlar tüm örneklerin düzgün bir şekilde çalıştırılması adına, üretici firmanın da talimatları doğrultusunda gereği gibi optimize edildi.

1. Preamplifikasyonu yapılmış cDNA örnekleri 20/200 oranında sulandırıldı. Bunun için sentezlettiğimiz 20 µl cDNA üzerine 200 µl Nuclease' sız su eklenip vortexlenerek seyreltilti. Daha sonra her bir reaksiyonda 1-3 ng cDNA olması planlanarak real time PCR bileşenleri ayarlandı. Bu amaçla yaklaşık 10 µl Quanti Tect SYBR PCR master mix ile karıştırılarak, 20 µl' lik pipetle 96 well' lik plate kuyucukları içerisine konuldu. Daha sonra her birisine 2 µl' lik preamplifiye edilmiş dilüe DNA' lardan eklenerek, karıştırıldı. Aşağıda Real-Time PCR bileşenleri kısaca tablo halinde verilmiştir (Tablo 3.2).

**Tablo 3.2** PCR Reaksiyonu İçin Mix Hazırlanışı

|                                         |                                                                              |
|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| 2X QuantiTect SYBR Green PCR Master mix | 12,5 µl                                                                      |
| 10X miScript Universal Primer           | 2,5 µl                                                                       |
| 10X miScript Primer Assay               | 2,5 µl                                                                       |
| RNase' sız su                           | 7 µl                                                                         |
| Kalıp cDNA                              | 2,5 µl: Hazırlanan ve platelere dağıtılan mix üzerine 2,5 µl cDNA dağıtılır. |

2. Yukarıda hazırlanan reaksiyon karışımı hazır formatta bulunan Rotor-Gene Q 100-well gene- disc' lere her bir kuyuda 20µl olacak şekilde, her bir örnek için takip eden 24 kuyuya dağıtıldı. Real-time PCR cihazında aşağıdaki protokole göre amplifiye edildi.

PCR için başlangıç aktivasyon basamağı: 15 dk 95 °C' de

PCR için denaturasyon basamağı: 15 sn 94 °C' de

Annealing: 30 sn 55 °C' de

Extension basamağı: 30 sn 70 °C' de yapıldı.

3. Toplam 40 döngü olacak şekilde amplifikasyon yapıldı. Burada her bir örnek üç tekrarlı olarak çalışıldı. miRNA' ları karşılaştırmak için aynı firmanın kontrol miRNA paneli kullanıldı.
4. Cihazdan alınan sonuçlar internet üzerindeki on-line yazılım kullanılarak analiz edildi.

### **3.6. Çalışmada Kullanılan miRNA' lar Ve Dizi Bilgileri**

Çalışmamızda bir kısmı üroonkolojide en çok karşılaşılan ve mevcut literatürden tespit etmiş olduğumuz, bir kısmı ise üroonkolojide pek çalışılmamış olmakla beraber başka adeno kanser patofizyolojisinde rol alan toplam 12 farklı miRNA dizisi (Tablo 3.3) seçildi. Bunlar ticari bir firma tarafından panel (Tablo 3.4) haline getirilerek, Real Time PCR kiti halinde satın alınıp çalışmamıza dahil edildi.

**Tablo 3.3** Çalışmada Kullanılan miRNA' lar Ve Dizi Bilgileri (Qiagen)

| No | miRNA Adı    | miRNA Dizisi                                      |
|----|--------------|---------------------------------------------------|
| 1  | miRNA-17-5p  | hsa-miR-17-5p<br>5'- CAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG      |
| 2  | miRNA-21     | hsa-miR-21-3p<br>5'- CAACACCAGUCGAUGGGCUGU        |
| 3  | miRNA-30c    | hsa-miR-30c-1-3p<br>5'- CUGGGAGAGGGUUGUUUACUCC    |
| 4  | miRNA-107    | hsa-miR-107<br>5'- AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUCA        |
| 5  | miRNA-141    | hsa-miR-141-5p<br>5'- CAUCUCCAGUACAGUGUUGGA       |
| 6  | miRNA-145    | hsa-miR-145-3p<br>5'- GGAUUCUGGAAAUACUGUUCU       |
| 7  | miRNA-181a-2 | hsa-miR-181a-2-3p<br>5'- ACCACUGACCGUUGACUGUACC   |
| 8  | miRNA-221    | hsa-miR-221-5p<br>5'- ACCUGGCAUACAAUGUAGAUUU      |
| 9  | miRNA-331-3p | hsa-miR-331-3p<br>5'- GCCCCUGGGCCUAUCCUAGAA       |
| 10 | miRNA-375    | hsa-miR-375<br>5'- UUUGUUCGUUCGGCUCGCGUGA         |
| 11 | miRNA-432    | hsa-miR-432-3p<br>5'- CUGGAUGGCUCCUCCAUGUCU       |
| 12 | miRNA-574-3p | miRNA: hsa-miR-574-3p<br>5'- CACGCUCAUGCACACCCACA |

**Tablo 3.4** miScript PCR Kontrolleri (Qiagen)

| miScript PCR Kontrol adı                 | ncRNA sembolü | ncRNA alternatif adı | ncRNA tipi | İnsan, fare, sıçan ve köpekte ekspresyon |
|------------------------------------------|---------------|----------------------|------------|------------------------------------------|
| Hs_ SNORD61_11<br>miScript Primer Assay  | SNORD61       |                      | snoRNA     | Evet                                     |
| Hs_ SNORD68_11<br>miScript Primer Assay  | SNORD68       |                      | snoRNA     | Evet                                     |
| Hs_ SNORD72_11<br>miScript Primer Assay  | SNORD72       |                      | snoRNA     | Evet                                     |
| Hs_ SNORD95_11<br>miScript Primer Assay  | SNORD95       |                      | snoRNA     | Evet                                     |
| Hs_ SNORD96A_11<br>miScript Primer Assay | SNORD96A      |                      | snoRNA     | Evet                                     |
| Hs_ RNU6-2_1<br>miScript Primer Assay    | RNU6-2        | RNU6B                | snRNA      | Evet                                     |

### 3.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen veriler, SPSS ver 22.0 programına yüklenerek, verilerin değerlendirilmesinde parametrik test varsayımları yerine getirildiğinde Kolmogorof –Simirnov 2 ortalama arasındaki farkın önemlilik testi; parametrik test varsayımları yerine getirilemediğinde Mann Whitney U Testi ve korelasyon analizleri uygulanmıştır. İstatistiklerin değerlendirilmesinde yanılma düzeyi 0.05 (p değeri) olarak alınmıştır.

#### 4. BULGULAR

Bu araştırma kapsamında 27 prostat kanserli hasta ile 32 BPH' li toplam 59 birey, literatür verilerine göre belirlediğimiz 12 miRNA bölgesi kullanılarak hem klinik hem de genetik verileri bakımından karşılaştırılmıştır. Çalışmamıza katılan prostat kanserlilerin yaş ortalaması  $65.35 \pm 9.01$ , BPH' lilerinki ise  $64.29 \pm 4.61$  bulunmuş, yaş yönünden gruplar arası fark önemsizdi ( $p > 0.05$ ). Prostat kanserli hastaların Gleason skorları 6 ile 9 arasında değişmekte olup ortalama  $7.85 \pm 0.948$  idi. Prostat kanserlilerin 19 (%70.4)' unda metastaz yokken, 8 (%29.6 )' inde kemik metastazı mevcut olup bunların 6 (%22.2)' sında tek odakta 2 (%7.4)' sinde ise çok odakta kemik metastazı saptanmıştı.

miRNA-30c ekspresyonu her iki grupta da en düşük seviyede idi. En yüksek düzeyde eksprese olan miRNA' lar ise hasta grubunda miRNA-221, kontrol grubunda ise miRNA-181a-2' dir. Hasta ve kontrol grupları arasında miRNA-21 ve miRNA-375 dışındaki miRNA ekspresyonlarında anlamlı derecede farklılık bulunmuştur. Araştırmamızda miRNA-17-5p, miRNA-30c, miRNA-107, miRNA-141, miRNA-145, miRNA181a-2, miRNA-331-3p, miRNA-574-3p ekspresyon değerleri prostat kanserlilerde BPH' lilere göre daha azdı. Bununla birlikte miRNA-221 ve miRNA-432 ekspresyonu BPH' lilere göre prostat kanserlilerde daha yüksekti. Ancak bu diğer miRNA' lara göre daha düşük önemlilik derecesine sahipti (Tablo 4.1).

**Tablo 4.1** Prostat Kanserliler Ve BPH' lilerde miRNA' ların Ekspresyon Değerleri Ve Her İki Grubun Karşılaştırılması Sonucunda Ortaya Çıkan İstatistiksel Farklılık Ölçütleri

|           | Prostat Kanserliler |        |               | BPH'liler |        |               | İstatistiksel Sonuç |
|-----------|---------------------|--------|---------------|-----------|--------|---------------|---------------------|
| miRNA'lar | Min                 | Max    | Mean±St Sapma | Min       | Max    | Mean±St Sapma | P                   |
| miR17-5p  | 0.404               | 15.616 | 2.281±2.866   | 0.125     | 17.267 | 3.418±3.601   | <b>0.034*</b>       |
| miR21     | 0.062               | 4.723  | 1.608±1.167   | 0.059     | 7.412  | 1.632±1.397   | 0.922               |
| miR30c    | 0.003               | 0.027  | 0.007±0.005   | 0.004     | 0.56   | 0.023±0.014   | <b>0.001*</b>       |
| miR107    | 0.188               | 24.16  | 3.599±5.553   | 0.079     | 34.775 | 6.495±7.178   | <b>0.008*</b>       |
| miR141    | 0.061               | 4.084  | 0.139±0.941   | 0.014     | 3.797  | 1.315±1.007   | <b>0.027*</b>       |
| miR145    | 0.034               | 4.69   | 0.835±0.956   | 0.015     | 3.810  | 1.279±0.889   | <b>0.007*</b>       |
| miR181a-2 | 0.142               | 11.004 | 2.896±2.762   | 0.126     | 68.119 | 9.711±14.604  | <b>0.009*</b>       |
| miR221    | 0.208               | 16.564 | 7.459±3.887   | 0.003     | 22.471 | 3.109±4.405   | <b>0.050*</b>       |
| miR331-3p | 0.639               | 15.030 | 2.298±4.193   | 0.096     | 12.728 | 5.423±3.491   | <b>0.047*</b>       |
| miR375    | 0.360               | 7.972  | 2.441±1.914   | 0.062     | 10.966 | 2.864±2.848   | 0.814               |
| miR432    | 0.088               | 8.027  | 4.765±1.885   | 0.008     | 2.445  | 0.799±0.648   | <b>0.046*</b>       |
| miR574-3p | 0.213               | 4.469  | 1.035±1.098   | 0.049     | 11.004 | 3.508±2.575   | <b>0.034*</b>       |

\*p<0.05

Prostat kanserlilerde PSA değerleri ortalama 111.52±335.05 iken, BPH' lilerde bu değer 8.06±3.70 idi. Prostat volümü (PV) ise prostat kanserlilerde 52.77±34.80, BPH' lilerde 65.61±30.42 idi. Kanserlilerin PSA değerleri ve prostat volümü BPH' lilere göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P < 0.05) (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2** Prostat Kanserliler Ve BPH' lilerde PSA İle Prostat Volümü Ve Her İki Grubun Karşılaştırılması Sonucunda Ortaya Çıkan İstatistiksel Farklılık Ölçütleri

|             | Prostat Kanserliler |        |               | BPH'liler |        |               | İstatistiksel Sonuç |
|-------------|---------------------|--------|---------------|-----------|--------|---------------|---------------------|
|             | Min                 | Max    | Mean±St Sapma | Min       | Max    | Mean±St Sapma | P                   |
| PSA (ng/ml) | 5.43                | 1778.2 | 111.52±335.05 | 3.89      | 19.48  | 8.06±3.70     | <b>P=0.001*</b>     |
| PV (ml)     | 17.00               | 136.0  | 52.77±34.80   | 20.00     | 138.00 | 65.61±30.42   | <b>P=0.032*</b>     |

\*p<0.05

Prostat kanserlilerde Gleason skoru, miRNA ekspresyonları, PSA ve prostat volümünün ikişerli olarak karşılaştırıldığı korelasyon analizinde; Gleason skoru ile miRNA-30c arasında negatif yönlü, miRNA-574-3p arasında ise pozitif yönlü bir korelasyon vardı. Bu korelasyonlar istatistiksel olarak önemli olmasına rağmen bir ilişki ölçütü olarak zayıftır. Bunlar dışında Gleason skoruyla diğer miRNA' lar arasında genel olarak bir korelasyon görülmemiştir. Bu sonuçlara göre Gleason skoru ile miRNA' lar arasında önemli bir ilişki belirlenememiştir. PSA ile prostat volümü arasında pozitif yönlü ve zayıf bir korelasyon, miRNA-432 ekspresyonu arasında yine pozitif yönlü ve zayıf bir korelasyon tespit edilmiştir. PSA ile diğer miRNA' lar arasında genel olarak bir korelasyon görülmemiştir. Bu sonuçlar PSA' nın, bu çalışmada araştırılan miRNA ekspresyonları ile doğrudan ilişkili olmadığını göstermiştir. Prostat volümü ile miRNA-30c ekspresyonu arasında pozitif yönlü ve orta seviyede korelasyon olduğu, diğerleriyle anlamlı ilişki göstermediği ortaya çıkmıştır. miRNA-17-5p ile miRNA-21 arasında pozitif yönlü ve zayıf, miRNA-181a-2, miRNA-107 ve miRNA-331-3p arasında pozitif yönlü ve kuvvetli; miRNA-21 ile miRNA141 arasında pozitif yönlü ve zayıf, miRNA-107, miRNA-331-3p ve miRNA-432 arasında pozitif yönlü ve kuvvetli; miRNA-181a-2 ile miRNA-107 ve miRNA331-3p arasında pozitif yönlü ve kuvvetli; miRNA-145 ile miRNA-375 arasında pozitif yönlü ve kuvvetli; miRNA-107 ile miRNA-331-3p arasında pozitif yönlü ve kuvvetli; miRNA-141 ile miRNA-432 ve miRNA375 arasında pozitif yönlü ve zayıf; miRNA-574-3p ile miRNA-375 arasında pozitif yönlü ve zayıf bir korelasyon tespit edilmiştir. Bunlar için ayrıntılı olarak aşağıdaki Tablo 4.3 incelenebilir.

**Tablo 4.3.** Prostat Kanserlilerde Gleason Skorları, miRNA Ekspresyon Değerleri, PSA Ve Prostat Volümüne Bağlı Olarak Yapılan Korelasyon Analizinin Sonuçları

| Korelasyon Değerleri | Gleason         | miR 17-5p      | miR 21         | miR 181a-2     | miR 30c        | miR 145        | miR 107        | miR 141       | miR 331-3p     | miR 574-3p    | miR 432        | miR 221 | miR 375        | PSA            | PV             |
|----------------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|----------------|---------------|----------------|---------|----------------|----------------|----------------|
| Gleason              | 1               | 0.122          | -0.25          | -0             | <b>-0.387*</b> | 0.309          | 0.101          | -0.062        | 0.078          | <b>0.464*</b> | -0.08          | 0.023   | 0.052          | 0.25           | 0.351          |
| miR 17-5p            | 0.122           | 1              | <b>0.401*</b>  | <b>0.648**</b> | -0.031         | -0.034         | <b>0.840**</b> | 0.258         | <b>0.618**</b> | 0.163         | 0.098          | -0.09   | -0.11          | -0.05          | -0.26          |
| miR 21               | -0.254          | <b>0.401*</b>  | 1              | 0.289          | 0.359          | 0.025          | <b>0.624**</b> | <b>0.488*</b> | <b>0.722**</b> | 0.082         | <b>0.602**</b> | -0.09   | 0.136          | 0.091          | 0.119          |
| miR 181a-2           | -0.001          | <b>0.648**</b> | 0.29           | 1              | -0.043         | 0.008          | <b>0.668**</b> | 0.243         | <b>0.675**</b> | 0.069         | -0.04          | 0.16    | 0.073          | -0.04          | -0.2           |
| miR 30c              | <b>-0.387**</b> | -0.03          | 0.36           | -0.04          | 1              | 0.075          | 0.297          | 0.204         | 0.095          | -0.14         | 0.029          | -0.13   | 0.217          | -0.06          | <b>0.502**</b> |
| miR 145              | 0.309           | -0.03          | 0.03           | 0.008          | 0.075          | 1              | -0.1           | 0.328         | 0.014          | 0.349         | -0.17          | 0.018   | <b>0.703**</b> | 0.049          | 0.143          |
| miR 107              | 0.101           | <b>0.840**</b> | <b>0.624**</b> | <b>0.668**</b> | 0.297          | -0.103         | 1              | 0.292         | <b>0.760**</b> | 0.024         | 0.093          | -0.12   | -0.21          | -0.1           | -0.1           |
| miR 141              | -0.062          | 0.258          | <b>0.488*</b>  | 0.243          | 0.204          | 0.328          | 0.292          | 1             | 0.203          | 0.224         | <b>0.408*</b>  | -0.04   | <b>0.482*</b>  | -0.08          | 0.126          |
| miR 331-3p           | 0.078           | <b>0.618**</b> | <b>0.722**</b> | <b>0.675**</b> | 0.095          | 0.014          | <b>0.760**</b> | 0.203         | 1              | 0.219         | 0.031          | -0.19   | -0.24          | -0.08          | -0.3           |
| miR 574-3p           | <b>0.464**</b>  | 0.163          | 0.08           | 0.069          | -0.136         | 0.349          | 0.024          | 0.224         | 0.219          | 1             | 0.087          | 0.008   | <b>0.393*</b>  | 0.046          | -0.15          |
| miR 432              | -0.08           | 0.98           | <b>0.602**</b> | -0.04          | 0.029          | -0.165         | 0.093          | <b>0.408*</b> | 0.031          | 0.087         | 1              | -0.08   | 0.125          | <b>0.435**</b> | -0.06          |
| miR 221              | 0.023           | -0.09          | -0.09          | 0.16           | -0.127         | 0.018          | -0.12          | -0.04         | -0.194         | 0.008         | -0.08          | 1       | 0.276          | -0.11          | 0.252          |
| miR 375              | 0.052           | -0.11          | 0.14           | 0.073          | 0.217          | <b>0.703**</b> | -0.214         | <b>0.482*</b> | -0.244         | <b>0.393*</b> | 0.125          | 0.276   | 1              | -0.01          | 0.323          |
| PSA                  | 0.25            | -0.05          | 0.09           | -0.04          | -0.061         | 0.049          | -0.1           | -0.081        | -0.08          | 0.046         | <b>0.435*</b>  | -0.11   | -0.01          | 1              | <b>0.393*</b>  |
| PV                   | 0.351           | -0.26          | 0.12           | -0.2           | <b>0.502**</b> | 0.143          | -0.1           | 0.126         | -0.302         | -0.15         | -0.06          | 0.252   | 0.323          | <b>0.393*</b>  | 1              |

\*. Zayıf bir korelasyon olarak kabul edilir.

\*\*. Kuvvetli bir korelasyon olarak kabul edilir.

-. İki parametre arasında negatif yönlü bir korelasyon olduğunu gösterir. İşaret belirtilmeyen değerlerin hepsi pozitif yönlü korelasyonları göstermektedir.

BPH' lilerde miRNA ekspresyonları, PSA ve prostat volümünün ikişerli olarak karşılaştırıldığı korelasyon analizinde; PSA ile prostat volümü arasında korelasyon izlenmedi. PSA ile miRNA-145 arasında pozitif yönlü ve zayıf korelasyon izlendi. PSA ile diğer miRNA' lar arasında bir korelasyon görülmemiştir. Prostat volümü ile miRNA-30c arasında pozitif yönlü ve zayıf bir korelasyon olduğu, diğerleriyle anlamlı ilişki göstermediği ortaya çıkmıştır. miRNA-17-5p ile miRNA-375 arasında pozitif yönlü ve zayıf, miRNA-21, miRNA-145, miRNA-107, miRNA-331-3p, miRNA-574-3p ve miRNA-221 arasında pozitif yönlü ve kuvvetli; miRNA-21 ile miRNA-107 ve miRNA-221 arasında pozitif yönlü ve zayıf, miRNA-145, miRNA-141, miRNA-574-3p ve miRNA-375 arasında pozitif yönlü ve kuvvetli; miRNA-181a-2 ile miRNA-145, miRNA-574-3p, miRNA-432 ve miRNA-375 arasında pozitif yönlü ve kuvvetli, miRNA-141 arasında pozitif yönlü ve zayıf; miRNA-145 ile miRNA-141, miRNA-574-3p ve miRNA-375 arasında pozitif yönlü ve kuvvetli, miRNA-432 ve miRNA-221 arasında pozitif yönlü ve zayıf; miRNA-107 ile miRNA-331-3p arasında pozitif yönlü ve kuvvetli; miRNA-141 ile miRNA-574-3p ve miRNA-375 arasında pozitif yönlü ve kuvvetli, miRNA-432 arasında pozitif yönlü ve zayıf; miRNA-331-3p ile miRNA-221 arasında pozitif yönlü ve zayıf; miRNA-574-3p ile miRNA-375 arasında pozitif yönlü ve kuvvetli; miRNA-432 ile miRNA-375 arasında pozitif yönlü ve zayıf bir korelasyon tespit edilmiştir. Bunlar için ayrıntılı olarak aşağıdaki Tablo 4.4 incelenebilir.

**Tablo 4.4** BPH' lilerde miRNA Ekspresyon Değerleri, PSA ve Prostat Volümüne Bağlı Olarak Yapılan Korelasyon Analizinin Sonuçları

| Korelasyon Değerleri | miR 17-5p          | miR 21             | miR 181 a-2        | miR 30c           | miR 145            | miR 107            | miR 141            | miR 331-3p         | miR 574-3p         | miR 432            | miR 221            | miR 375            | PSA    | PV                |
|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------|-------------------|
| miR17-5p             | 1                  | <b>0.770</b><br>** | 0.133              | 0.031             | <b>0.664</b><br>** | <b>0.491</b><br>** | 0.336              | <b>0.508</b><br>** | <b>0.557</b><br>** | 0.285              | <b>0.759</b><br>** | <b>0.419</b><br>*  | 0.242  | 0.284             |
| miR21                | <b>0.770</b><br>** | 1                  | 0.207              | 0.154             | <b>0.562</b><br>** | <b>0.379</b><br>*  | <b>0.608</b><br>** | 0.348              | <b>0.656</b><br>** | 0.304              | <b>0.448</b><br>*  | <b>0.711</b><br>** | 0.295  | 0.256             |
| miR181a-2            | 0.133              | 0.207              | 1                  | -0.306            | <b>0.630</b><br>** | -0.046             | <b>0.412</b><br>*  | -0.046             | <b>0.569</b><br>** | <b>0.550</b><br>** | 0.024              | <b>0.544</b><br>** | 0.272  | -0.1              |
| miR30c               | 0.031              | 0.154              | -0.306             | 1                 | -0.05              | -0.088             | 0.319              | 0.028              | -0.104             | 0.085              | 0.07               | 0.191              | -0.075 | <b>0.481</b><br>* |
| miR145               | <b>0.664</b><br>** | <b>0.562</b><br>** | <b>0.630</b><br>** | -0.05             | 1                  | 0.143              | <b>0.599</b><br>** | 0.213              | <b>0.793</b><br>** | <b>0.472</b><br>*  | <b>0.455</b><br>*  | <b>0.641</b><br>** | 0.391  | 0.075             |
| miR107               | <b>0.491</b><br>*  | <b>0.379</b><br>*  | -0.046             | -0.088            | 0.143              | 1                  | 0.032              | <b>0.521</b><br>** | 0.199              | 0.123              | 0.221              | 0.096              | 0.046  | 0.049             |
| miR141               | 0.336              | <b>0.608</b><br>** | <b>0.412</b><br>*  | 0.319             | <b>0.599</b><br>** | 0.032              | 1                  | 0.122              | <b>0.622</b><br>** | <b>0.380</b><br>*  | 0.132              | <b>0.749</b><br>** | 0.277  | -0.03             |
| miR331-3p            | <b>0.508</b><br>** | 0.348              | -0.046             | 0.028             | 0.213              | <b>0.521</b><br>** | 0.122              | 1                  | 0.303              | 0.066              | <b>0.366</b><br>*  | 0.092              | -0.039 | -0.01             |
| miR574-3p            | <b>0.557</b><br>** | <b>0.656</b><br>** | <b>0.569</b><br>** | -0.104            | <b>0.793</b><br>** | 0.199              | <b>0.622</b><br>** | 0.303              | 1                  | 0.326              | 0.242              | <b>0.648</b><br>** | 0.384  | -0.13             |
| miR432               | 0.285              | 0.304              | <b>0.550</b><br>** | 0.085             | <b>0.472</b><br>** | 0.123              | <b>0.380</b><br>*  | 0.066              | 0.326              | 1                  | 0.132              | <b>0.488</b><br>*  | -0.053 | 0.011             |
| miR 221              | <b>0.759</b><br>** | <b>0.448</b><br>*  | 0.024              | 0.07              | <b>0.455</b><br>*  | 0.221              | 0.132              | <b>0.366</b><br>*  | 0.242              | 0.132              | 1                  | 0.238              | 0.055  | 0.206             |
| miR375               | <b>0.419</b><br>*  | <b>0.711</b><br>** | <b>0.544</b><br>** | 0.191             | <b>0.641</b><br>** | 0.096              | <b>0.749</b><br>** | 0.092              | <b>0.648</b><br>** | <b>0.488</b><br>*  | 0.238              | 1                  | 0.162  | 0.07              |
| PSA                  | 0.242              | 0.295              | 0.272              | -0.075            | <b>0.391</b><br>*  | 0.046              | 0.277              | -0.039             | 0.384              | -0.053             | 0.055              | 0.162              | 1      | 0.059             |
| PV                   | 0.284              | 0.256              | -0.096             | <b>0.481</b><br>* | 0.075              | 0.049              | -0.032             | -0.014             | -0.134             | 0.011              | 0.206              | 0.07               | 0.059  | 1                 |

miR : miRNA: mikro RNA

PSA : prostata spesifik antijen

PV : prostat volümü

\* Zayıf bir korelasyon olarak kabul edilir.

\*\*Kuvvetli bir korelasyon olarak kabul edilir.

- İki parametre arasında negatif yönlü bir korelasyon olduğunu gösterir. İşaret belirtilmeyen değerlerin hepsi pozitif yönlü korelasyonları göstermektedir.

## 5.TARTIŞMA

Gelişmiş ülkelerde kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci en sık ölüm nedeni malign tümörlerdir (92). Kansere bağlı ölümlerde ikinci sırada gelen prostat kanseri erkeklerde en sık saptanan malign tümördür. Otopsi serilerinde 85 yaşın üzerindeki kişilerin %75' inden fazlasında prostat kanseri belirlenmektedir (69).

Halen prostat kanserinin tarama ve tanısında PSA ile parmakla rektal muayene kullanılmaktadır. Fakat bu belirleyicilerin duyarlılığı ve özgüllüğü düşüktür.

Prostat kanserinin prognozunu değerlendirmede kullanılan mevcut metodlar; klinik evreleme, histopatolojik grade, hücre kinetik çalışmaları ve nomogramlardır (93). Prostat kanserinde prognozu preoperatif olarak belirlemek günümüzde zordur. Ancak histopatolojik tanı ile ilişki kurulabilir. Özellikle ekstraprostatik yayılım, ileri görüntüleme yöntemlerine rağmen ancak radikal prostatektomi materyalinde patolojik olarak belirlenebilmektedir (94-96).

Genetik alanındaki araştırmalar, baskılayıcı genlerdeki fonksiyonel kaybın tümör patogenezinde önemli rol oynadığını göstermektedir. Prognozu belirlemede genetik değişikliklerin önceden bilinmesi halen önemli ve üzerinde çalışılan konulardan biridir.

Prostat kanserinde çok sayıda onkogen ve tümör baskılayıcı genin etkili olduğu bilinmekte olup bunların ekspresyon düzeylerindeki artış ya da azalışlar aynı zamanda epigenetik düzenlemelerle de kontrol edilmektedir (8). miRNA' ların dokularda kanserle ilişkili genlerin regülasyonuna etkili olabileceği düşüncesinden hareketle bu konuda yaklaşık son on yılda bir çok çalışma yapılmıştır ve yapılmaya da devam etmektedir. 2008' de Lawrie ve arkadaşları serumdaki miRNA' ların invaziv olmayan diyagnostik belirteçler olabileceği gerçeğini ilk kez tanımladılar ve miRNA-155, miRNA-210, ve miRNA-21' in ekspresyon seviyelerinin diffüz büyük B hücreli lenfoma hastalarının serumunda normal kontrollerden önemli derecede daha yüksek olduğunu buldular (13). Bu tarihten sonra dolaşımdaki miRNA' lara ilgi artarak devam etmektedir.

Chen ve arkadaşları miRNA' ların serum ve plazmada stabil, ölçümlerinin tekrarlanabilir olduğunu gösterdiler (97). Ek olarak akciğer kanseri, kolorektal kanser ve diyabet gibi farklı hastaların serum miRNA' larının spesifik bir ekspresyon

özelliği gösterdiğini belirttiler. Bu yüzden, vücut sıvılarındaki miRNA' lar çeşitli kanserlerin potansiyel diyagnostik biyo belirteçleri olabilir.

Prostat kanseri profilini genetik açıdan ortaya çıkarma çalışmaları 2006' dan beri bağımsız laboratuvarlar tarafından gerçekleştirilmektedir ve bir çok miRNA' nın prostat kanserinde yaygın deregülasyonu gösterilmiştir (85, 86). Genomun kodlanan genlerinin majör düzenleyicilerinden biri olarak tanımlanan miRNA' ların, moleküler tıpta diyagnostik, prognostik ve hedefe yönelik terapötik biyo belirteçlerin ortaya konmasında umut verici unsurlar olabileceği ifade edilmektedir (8). Volinia ve arkadaşları prostat kanserinde bazı miRNA' ların (miRNA-21, miRNA-17-5p, miRNA-191, miRNA-29b-2, miRNA-199a-1, miRNA-146, miRNA-181b-1, miRNA-20a, miRNA-32, miRNA-92-2, miRNA-214, miRNA-30c, miRNA-25, ve miRNA-106a) artmış regüle olduğunu bazılarının da azalmış regüle olduğunu gösterdiler (81). Mahn ve arkadaşları lokalize prostat kanserli, BPH' li hastalar ile sağlıklı kontrollerin serumundaki miRNA' ları analiz ettiler. miRNA-195' in cerrahi sınır pozitifliği ve Gleason skoru ile korele olduğunu belirttiler (98). Shen ve arkadaşları prostat kanserlilerde evre 2 ve daha düşük olanlara göre evre 3 olanlarda miRNA-20a ekspresyonunun önemli derecede artmış olduğunu belirttiler. CAPRA skorlarına göre yüksek riskli hastalarda miRNA-20a ve miRNA-21' in ekspresyonunun önemli derecede artmış olduğunu gösterdiler. Orta ve yüksek risklilerde D' Amico skorlarına göre düşük risklilerle kıyaslandığında miRNA-21 ve miRNA-145' in ekspresyonunun önemli derecede artmış olduğunu gözlediler. miRNA-21 ve miRNA-221 ekspresyonunun CAPRA skorlarına göre düşük risklileri yüksek risklilerden ayırtedebileceğini ifade ettiler (99). miRNA-20a, miRNA-21, miRNA-145 ve miRNA-221 ekspresyonunun D'Amico skorlarına göre düşük risklileri yüksek risklilerden ayırtedebileceğini belirttiler. Çalışma sonucunda plazmadaki miRNA' ların düşük, orta ve yüksek risk hastalarını ayırtedebileceğini ve prostat kanserinin agresifliğini tahmin edebileceğini belirttiler.

Zhang ve arkadaşları yüksek dereceli prostat tümörlerinde miRNA-17-5p' nin azalmış ekspresyonu olduğunu ve bunun miRNA' ların prostat kanserinde tümör baskılayıcı işlev görmesinden kaynaklanabileceğini belirtmektedirler (100). miRNA-17-5p ekspresyon düzeyindeki değişimlerin aynı zamanda testis kanseri hücrelerinin proliferasyon ve apoptozisinden sorumlu E2F1 transkripsiyon faktörünün eksikliği ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir (101). Çalışmamızda prostat kanserlilerde

miRNA-17-5p' nin BPH' lilere göre ekspresyon düzeyinde yaklaşık % 35' lik bir azalma görülmüş olup sonuçlarımız Zhang' in sonuçlarına benzerdir. miRNA-17-5p ile PSA değerleri arasında negatif bir korelasyon tespit edilmiş olup Gleason skoru arasında ise anlamlı bir korelasyon görülmemiştir.

Schaefer ve arkadaşları 76 prostat kanser doku örneği ile kansere komşu normal dokuların örneklerini eşleştirdiklerinde; prostat kanser dokularında bazı miRNA' ların (miRNA-16, miRNA-31, miRNA-125b, miRNA-145, miRNA-149, miRNA-181b, miRNA-184, miRNA-205, miRNA-221, ve miRNA-222 gibi 10 miRNA) azalmış regüle olduğunu bazılarının (miRNA-96, miRNA-182, miRNA-182\*, miRNA-183, ve miRNA-375) artmış regüle olduğunu tanımladılar. Bazı miRNA ekspresyonlarının Gleason skoru ve tümör evresi ile korele olduğunu ve klinik rekürrensle ilişkili olabileceğini vurguladılar (102). Ambs ve arkadaşları prostat kanserli hastaların serumunda bazı miRNA' ların (miRNA-32, miRNA-26a, miRNA-196a, miRNA-181a, miRNA-25, miRNA-93, miRNA-92, ve let-7i) artmış regüle olduğunu gösterdiler ve bazı miRNA' ların ekstraprostatik hastalık yayılımı, androjen regülasyonu, protein kodlayan hedef genlerin transkripsiyonu ile ilişkili olabileceğini ifade ettiler (103). Volinia ile Ambs' in çalışmalarında miRNA-181a-2 ekspresyonunun hem tümör dokusunda hem de serumda artmış olduğu gösterilmiştir (81, 103). Prostat kanseri ile ilgili bir çalışmada en üst düzeyde ekspresyon gösteren 34 farklı miRNA' dan birisi de miRNA-181a-2' dir (104). Gleason skoru 8 (4+4) ve 9 (4+5) gibi yüksek skorlu tümörlerde genel olarak bir çok miRNA' nın (miRNA-32, miRNA-98, miRNA-125a-5p, miRNA-138, miRNA-142p, miRNA-144, miRNA-146-5p, miRNA-181a, miRNA-181c, miRNA-183, miRNA-184, miRNA-205, miRNA-206, miRNA-215, miRNA-272, ve miRNA-301 vb. gibi) çok yüksek oranlarda eksprese olduğu bulunmuştur (104). Bazı çalışmalarda miRNA-181' in hematopoietik hücrelerin farklılaşmasında yer aldığı ve miRNA-181' in ekspresyonunun lösemi ve bazı solid tümörlerin oluşmasında etkili olabileceği öne sürülmüştür (81, 105 , 106). Aynı zamanda miRNA-181' in over kanserlerinde epitelyal-mezenkimal değişimin düzenlenmesinde kritik role sahip olduğu, kolon kanserinde PTEN/ AKT yolağında etkili olduğu da gösterilmiştir (107, 108). Çalışmamızda prostat kanserlilerde BPH' lilere göre miRNA-181 ekspresyonunda yaklaşık % 60 artış görülmüş olup önce belirtilen çalışmalarla uygunluk göstermektedir. PSA değeri ile aralarında negatif yönde ama zayıf değerde bir ilişki tespit edilmiştir. Beatriz ve arkadaşlarının çalışmasında yüksek Gleason skorlu hastalarda miRNA-181a-2 ekspresyonunun artmış olduğu belirtilmesine

(104) rağmen çalışmamızda Gleason skoru ile önemli derecede bir korelasyon gösterilememiştir.

miRNA-375 ekspresyon düzeyinin genel olarak prostat kanserli hastalarda artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bryant ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada miRNA-375' in yüksek riskli, agresif veya metastatik prostat kanserli hastalarda yüksek değerlerde olduğunu göstermişlerdir (109). Ayrıca pek çok çalışmada metastatik prostat kanserli, yüksek gleason skoruna sahip ve lenf nodu metastazı gösteren hastalar arasında, miRNA-375 ile miRNA-141 arasında önemli bir ilişki olduğu da tespit edilmiştir (17, 109-114). miRNA-375' in meme kanserli hastalarda da yüksek oranda eksprese olduğu, bu yüzden de bu miRNA' nın meme ve prostat kanseri için bir onkogen olabileceği ve her iki kanserin de hormon bağımlı ve fizyopatolojik açılardan birbirine benzer olduğu belirtilmektedir (115, 116). Ayrıca ve arkadaşları genetik sapmaların miRNA' ları hedef alabileceğini ve lenf nodlarındaki miRNA ekspresyonlarının androjen bağımlılığına göre sınıflandırılabilirliğini önerdiler (86). Androjen reseptörünün prostat kanserinin başlaması, büyümesi ve gelişmesi için önemli bir rolü olduğu ve androjen reseptörü ile DNA metilasyonu ve miRNA-375' in ekspresyonu arasında negatif bir korelasyon olduğu da belirtilmiştir (116, 117). Çalışmamızda ise her iki grupta ekspresyon düzeyleri birbirine yakın bulunmuştur. Aynı zamanda PSA değeri ve Gleason skoru ile bu miRNA ekspresyon düzeyi arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir. Bazı çalışmalarda miRNA-375 ekspresyonunun glukoz homeostazisinde, insülin sekresyonunun düzenlenmesinde ve hücre büyümesinin uyarılması basamaklarında da etkili olduğu gösterilmiştir (119-121).

Epis ve arkadaşları miRNA-331-3p'nin prostat kanserli dokularda, normal dokulara göre daha az eksprese olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada miRNA-331-3p'nin hedefi olan tirozin kinaz reseptörlerinden ERBB2 geninin prostat kanserinde aşırı ekspresyonuna sebep olduğu belirlenmiş ve prostat kanseri gelişimi ile progresyonundan sorumlu olabileceği vurgulanmıştır. miRNA331-3p'nin prostat kanser hücrelerinin androjen reseptör sinyal yolağını durdurduğu, androjen duyarlı PSA geninin promotör aktivitesini azaltarak, PSA ekspresyon düzeyini azalttığını göstermişlerdir. Bu durumda miRNA331-3p ekspresyon düzeyindeki azalmayla beraber serumdaki PSA seviyesinde artış olacağı beklenmektedir (121).

Çalışmamızda miRNA331-3p ekspresyon düzeyi prostat kanserlilerde BPH' lilere göre yaklaşık %60 oranında azalmış olup bu çalışmayla uyumludur.. PSA değeri ile miRNA-331-3p ekspresyonu arasında ise negatif korelasyon olduğu belirlenmiş olup korelasyon değeri zayıftır.

Özen ve arkadaşları prostat kanser dokularında miRNA' ların yaygın azalmış regülasyonunu belirttiler (85). İki farklı çalışmada let- 7 ailesi, miRNA-16, miRNA-23, miRNA-99, miRNA-125, miRNA-29 ve miRNA-30' un azalmış regüle olduğu gösterilmiştir (85, 86). Sun ve arkadaşları ise prostat kanserinde miRNA' ların genel olarak ekspresyon düzeyinde artışa meyilli olduklarını belirtmiştir (122). miRNA' ların tümör dokusunda ve kanda ekspresyon değerleri birbirinden çok farklı olabileceği için bu değerlendirmelerin hem prostat dokusunda hem de serumda ayrı ayrı yapılması bulguları daha değerli kılabilir.

miRNA-21' in prostat kanseri başta olmak üzere bir çok tümör dokusundaki ekspresyon düzeyinde anlamlı bir artış saptanmıştır (81, 123). Prostat kanseriyle yapılan son çalışmalarda miRNA-21' in hedef geninin, aktin hücre iskelet proteinlerini düzenleyerek hücre adezyonu, zar trafiği ve hücre hareketinden sorumlu, alanin içeriği zengin protein kinaz C substratı (Marcks) olduğu belirlenmiştir (124). Çalışmamızda miRNA-21' in hasta ve kontrol gruplarında hemen hemen benzer oranlarda eksprese olduğu gösterilmiştir. miRNA-21 ile PSA değeri arasında pozitif yönlü zayıf bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 4.3). Önceki çalışmalara göre bu farklılık dokuda değil, sadece serumda seviyesine bakmış olmamızdan kaynaklanabilir. Galardi ve arkadaşları miRNA-21 ile birlikte miRNA-221' in de prostat kanserinde arttığını tespit etmişlerdir (125). Sun ve arkadaşları ise miRNA-221' in ekspresyonundaki artışın, hormon-bağımsız büyüme ve kastrasyon dirençli fenotipin prognozunda rol alabileceğini belirtmişlerdir (122). Spahn ve arkadaşları yaptıkları çalışmada bazı miRNA' ların onkomirler olduğunu ve agresif seyir gösteren prostat kanserinde miRNA-221' in ekspresyon düzeyindeki progresiv azalmanın Gleason skoru, progresyon, metastaz ve klinik rekürrensle ilişkili olabileceğini belirttiler (126). Tong ve arkadaşları prostatektomi sonrası 20 kanserli örnek ile 20 benign olmak üzere toplam 40 prostatektomi örneğinin eşleşmiş analizinde 5 miRNA (miRNA-23b, miRNA-100, miRNA-145, miRNA-221, ve miRNA-222)' nın kanser dokularında azalmış regüle olduğunu gösterdiler (127). Çalışmamızda

prostat kanserlilerde serum miRNA-221 ekspresyon düzeyi BPH' lilere göre yaklaşık % 70 oranında azalma göstermiştir. Her iki grup arasında ekspresyon oranları ciddi farklılık göstermekte olup istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ) (Tablo 4.1 ). Diğer taraftan miRNA-221 ile PSA arasındaki ilişkiye baktığımızda aralarında negatif ve zayıf bir korelasyon tespit edilmiştir. Ağaoğlu ve arkadaşları miRNA-21 ve miRNA-221 ekspresyonlarının, prostat kanserini sağlıklılardan ayırdetmek için önemli belirteç olabileceğini ifade etmişlerdir (128).

Mitchell ve arkadaşları 25 metastatik prostat kanserli hastada yaptıkları çalışmada tümörden salınan miRNA' ların dolaşım sistemine geçebileceği ve kanserlerin önemli kan kaynaklı biyo belirteçleri olarak serum ve plazmada ölçülebileceğini rapor ettiler. Ayrıca dolaşımdaki miRNA-141' in sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında prostat kanserinde önemli derecede artmış olduğunu gösterdiler. Bu bulgu metastatik prostat kanserli hastalarda dolaşımdaki miRNA' ların ilk tanımıydı (17). Ağaoğlu ve arkadaşlarının çalışmasında da metastatik prostat kanser hastalarının plazmasındaki miRNA-141' in artmış regülasyonu gösterilmiştir (128). miRNA-141 ve miRNA-375' in metastatik prostat kanserinde serum ve plazmada kullanışlı belirteçler olabileceği belirtilmiştir (129). Brase ve arkadaşları dolaşımdaki miRNA-375 ve miRNA-141' in ilerlemiş hastalıkta yüksek seviyede tespit edildiğini ve bunun yüksek Gleason skoru veya lenf nodu pozitifliği ile korele olduğunu buldular (110). Waltering ve arkadaşları miRNA-141' in kastrasyondan sonra artmış regüle olduğunu ve aktivasyonunun LNCaP hücrelerinin büyümesini hızlandırdığını ve kastrasyon dirençli prostat kanserinde miRNA-141' in önemli olabileceğini ifade ettiler (130).

Bu çalışmalara bakıldığında prostat kanserli hastalarda miRNA-141' in sağlıklı bireylere göre yaklaşık 46 kat daha fazla eksprese olduğu anlaşılmaktadır. Ancak çalışmamızda bu durum gözlenmediği gibi prostat kanserlilerde miRNA-141 ekspresyonu BPH' lilere göre yaklaşık % 85 bir düşüş göstermektedir ( $p < 0.05$ ; Tablo 4.1).

Bazı çalışmalarda, prostat kanserinde miRNA ekspresyon düzeyinin hastalığın prognozu ile uyumlu olabileceği ve ekspresyon düzeyi azalmış olan miRNA-145' in hedefinin RAS, E2F3, BCL2 ve MCL1 mRNA' lar olduğu gösterilmiştir (8, 85, 127). Szczyrba ve arkadaşları prostat kanserinde 33 miRNA'

nın normal dokularla karşılaştırıldığında artmış ya da azalmış regüle olduğunu, miRNA-143 ve miRNA-145' in ise prostat kanseri gelişimiyle ilişkili olabileceğini belirttiler (131). Çalışmamızda prostat kanserlilerde miRNA-145 ekspresyon düzeyinin BPH' lilere göre yaklaşık % 30' luk bir düşüş gösterdiği ( $p<0.05$ , Tablo 4.1) ve PSA değeri ile karşılaştırıldığında ise aralarında pozitif ve zayıf korelasyon bulunduğu tespit edilmiştir.

Prostat kanserli hastalarda serum/plazma örneklerinde miRNA seviyeleri değerlendirilen bir çalışmaya göre miRNA-30c' nin azalmış regüle olduğu gösterilmiştir (132). Chen ve arkadaşları Çin popülasyonunda normal sağlıklılar ile BPH' li bireylerden prostat kanserlileri ayırmak için içlerinden bir tanesi miRNA-30c olan 5 miRNA' lık bir panel oluşturmuşlardır. Bu panelin çalışma duyarlılığı %61-90 arasında , özgülüğü %57-75 arasında bulunmuştur (133). Başka bir çalışmada da prostat kanser dokusunda artan ekspresyon düzeyi gösteren 34 önemli miRNA bulunmuş olup bunlardan birisi de miRNA-30c' dir (134). Çalışmamızda ise miRNA-30c ekspresyonu prostat kanserlilerde yaklaşık %70 oranında azalma göstermiştir. PSA değeri ile arasında negatif yönlü olmakla birlikte zayıf bir korelasyon ilişkisi görülmüştür. İlginç olarak çalışmamızda bu miRNA ile Gleason skoru arasında negatif yönlü, önemli sayılabilecek kuvvetli bir ilişki ve prostat volümü ile de pozitif yönlü, kuvvetli bir korelasyon tespit edilmiştir.

Lodes ve arkadaşları evre 3 ve 4 prostat kanserlilerin sağlıklılarla serum miRNA' larını karşılaştırdıklarında 15 miRNA (miR-16, -92a, -103, -107, -197, -34b, -328, -485-3p, -486-5p, -92b, -574-3p, -636, -640, -766, -885-5p)' nın prostat kanserlilerde artmış regüle olduğunu ifade ettiler (91). Prostat kanserlilerde plazmadaki miRNA ölçümlerine dayalı Bryant ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bir belirteç olarak kullanılabilecek 12 adet miRNA bulunmuştur. Bunlardan prostat kanseri hastalarında ekspresyon düzeyinde artış gösteren miRNA' lardan en önemlileri miRNA-107 ve miRNA-574-3p' dir (109). Çalışmamızda ise miRNA-107 ekspresyonunda prostat kanserlilerde BPH' lilere göre yaklaşık olarak % 45' lik bir azalma görülmüştür. PSA değeri ile arasında ise negatif korelasyon görülmekle birlikte bir ilişki ölçütü olarak zayıftır. Bryant ve arkadaşlarının yukarıdaki çalışmasında; prostat kanserlilerin idrar örneklerinde sağlıklılara göre çok yüksek konsantrasyonlarda miRNA-107 ve miRNA-574-3p ekspresyonu olduğu ve miRNA-107 ve miRNA-574-3p' nin prostat

kanserini sağlıklılardan ayırabilmek için önemli belirteç olabileceği ifade edilmektedir (109). Chiyomaru ve arkadaşlarının çalışmasında miRNA-574-3p ekspresyon seviyesinin prostat tümör dokusunda azaldığı tespit edilmiştir. Buradaki azalmanın, ileri tümör evresiyle, yüksek Gleason skoruyla da korele olduğu, prostat kanser hücrelerindeki miRNA-574-3p ekspresyonunun, hücre proliferasyonunu, migrasyonunu ve in vitro ya da in vivo invazyonunu ciddi ölçüde inhibe ettiği ve kaspaz-9 ve kaspaz-3' ü aktive ederek apoptozisi etkilediği, dolayısıyla miRNA-574-3p' nin bir tümör baskılayıcı gen olabileceği vurgulanmıştır (135). Çalışmamızda miRNA-574-3p ekspresyonu prostat kanserlilerde BPH' lilere göre %70' lik bir azalma göstermiştir. PSA değeri ile arasında pozitif ancak zayıf, Gleason skoru ile ise pozitif yönlü ve kuvvetli bir ilişki tespit edilmiştir (Tablo 4.3).

miRNA-432 ekspresyon düzeyi çalışmamızda prostat kanserlilerde BPH' lilerle karşılaştırıldığında yaklaşık %85 oranında yüksek bulunmuştur. PSA değeri ile bu miRNA arasındaki ilişki karşılaştırıldığında aralarında pozitif yönlü ve kuvvetli sayılabilecek bir korelasyonun olduğu görülmektedir (Tablo 4.3). İlginç olarak bu miRNA ile prostat kanseri arasındaki ilişkinin araştırıldığı çok fazla yayın bulunmamaktadır.

Porkka ve arkadaşları, 319 adet miRNA' dan 51 tanesinin prostat kanserli dokularda sağlıklı dokulara göre artmış veya azalmış eksprese olduğunu belirtmişler, bunlardan 22 tanesinin tüm prostat kanserlerinde, 15' inin ise sadece hormona dirençli kanserlerde azalmış olduğunu göstermişlerdir (86). Başka bir çalışmada da 8 adet miRNA' nın tüm prostat kanserlerinde, 6' sının ise sadece hormona dirençli prostat kanserlerinde artmış ekspresyon gösterdiği vurgulanmıştır (8).

Genel olarak prostat kanserlerinde miRNA' ların fazla ekspresyonları çeşitli karşılaştırmalı çalışmalarla da desteklenmiştir (122, 136). Çalışmamızda ise prostat kanserlilerde BPH' lilere göre miRNA-221 ve miRNA-432 ekspresyon seviyeleri artmış, miRNA-17-5p, miRNA-30c, miRNA-107, miRNA-141, miRNA-145, miRNA181-a2, miRNA-331-3p, miRNA-574-3p ekspresyon seviyeleri ise azalmış olarak bulundu. Her iki grupta da miRNA-21 ve miRNA-375' in ekspresyon seviyeleri benzerdi. Yani çalışmamızda prostat kanserlilerle BPH' liler karşılaştırıldığında miRNA ekspresyon seviyeleri miRNA' ların 2 (%17)' si için

benzer, prostat kanserlilerde 2 ( %17)' si için artmış ve 8 (%66)' i için azalmış olarak bulundu (Tablo 4.1).

İnvaziv olmayan yöntemlerle kolayca saptanabilen biyo belirteçlerin belirlenmesinde serum miRNA' larının güçlü ve duyarlı olabileceği görüşü umut verici bir çalışma sahası oluşturmaktadır. Ancak, miRNA biyo belirteçlerinin duyarlılığını ve özgüllüğünü arttırmak için, tümör dokusu ve serumun birlikte çalışılmasının önemine dikkat çekilmektedir. Bu nedenle prostat kanseri, BPH ve sağlıklı bireylerde yapılacak karşılaştırmalı çalışmalar yakın gelecekte daha belirleyici sonuçlar verecektir.



## 6. SONUÇLAR

Çalışmamızda prostat kanserlilerle BPH' liler karşılaştırıldığında miRNA ekspresyon seviyeleri miRNA' ların 2 (%17)' si için benzer, prostat kanserlilerde 2 (%17)' si için artmış ve 8 (%66)' i için azalmış olarak bulundu (Tablo 4.1).

1. Prostat kanserlilerde miRNA-17-5p' nin BPH' lilere göre ekspresyon düzeyinde yaklaşık %35' lik bir azalma görülmüştür. PSA değeri ile arasında negatif yönlü zayıf bir korelasyon tespit edilmiş olup Gleason skoru ile arasında ise anlamlı bir korelasyon görülmemiştir.
2. miRNA-21 ekspresyon düzeyi her iki grupta birbirine yakın bulunmuştur. PSA değeri ile arasında pozitif yönlü zayıf bir korelasyon tespit edilmiş olup Gleason skoru ile arasında ise anlamlı bir korelasyon görülmemiştir.
3. Prostat kanserlilerde miRNA-30c' nin BPH' lilere göre ekspresyon düzeyinde yaklaşık %70 oranında azalma görülmüştür. PSA değeri ile arasında negatif yönlü zayıf bir korelasyon tespit edilmiştir. İlginç olarak çalışmamızda bu miRNA ile Gleason skoru arasında negatif yönlü kuvvetli bir korelasyon ve prostat volümü ile de pozitif yönlü kuvvetli bir korelasyon tespit edilmiştir.
4. Prostat kanserlilerde miRNA-107' nin BPH' lilere göre ekspresyon düzeyinde yaklaşık %45' lik bir azalma görülmüştür. PSA değeri ve Gleason skoru ile arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmemiştir.
5. Prostat kanserlilerde miRNA-141' in BPH' lilere göre ekspresyon düzeyinde yaklaşık %85' lik bir azalma görülmüştür. PSA değeri ve Gleason skoru ile arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmemiştir.
6. Prostat kanserlilerde miRNA-145' in BPH' lilere göre ekspresyon düzeyinde yaklaşık %30' luk bir azalma görülmüştür. PSA değeri ile arasında pozitif yönlü zayıf bir korelasyon tespit edilmiş olup Gleason skoru ile arasında ise anlamlı bir korelasyon görülmemiştir.
7. Prostat kanserlilerde miRNA-181a-2' nin BPH' lilere göre ekspresyon düzeyinde yaklaşık %60' lık bir artış görülmüştür. PSA değeri ile arasında negatif yönlü zayıf bir korelasyon tespit edilmiş olup Gleason skoru ile arasında ise anlamlı bir korelasyon görülmemiştir.
8. Prostat kanserlilerde miRNA-221' in BPH' lilere göre ekspresyon düzeyinde yaklaşık %70' lik bir azalma görülmüştür. PSA değeri ile arasında negatif

yönlü zayıf bir korelasyon tespit edilmiş olup Gleason skoru ile arasında ise anlamlı bir korelasyon görülmemiştir.

9. Prostat kanserlilerde miRNA331-3p' nin BPH' lilere göre ekspresyon düzeyinde yaklaşık %60' lık bir azalma görülmüştür. PSA değeri ile arasında negatif yönlü zayıf bir korelasyon tespit edilmiş olup Gleason skoru ile arasında ise anlamlı bir korelasyon görülmemiştir.
10. miRNA-375 ekspresyon düzeyi her iki grupta birbirine yakın bulunmuş, PSA değeri ve Gleason skoru ile arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmemiştir.
11. Prostat kanserlilerde miRNA-432' nin BPH' lilere göre ekspresyon düzeyinde yaklaşık %85' lik bir artış görülmüştür. PSA değeri ile arasında pozitif yönlü kuvvetli bir korelasyon tespit edilmiş olup Gleason skoru ile arasında ise anlamlı bir korelasyon görülmemiştir.
12. Prostat kanserlilerde miRNA-574-3p' nin BPH' lilere göre ekspresyon düzeyinde %70' lik bir azalma görülmüştür. PSA değeri ile arasında pozitif yönlü zayıf, Gleason skoru ile arasında ise pozitif yönlü kuvvetli bir korelasyon tespit edilmiştir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer Statistics. CA: A Cancer Journal For Clinicians, Volume 62, Issue 1, Pages: 10-29, 2012.
2. Zorlu F, Akduman B, Baykal K, Uygur C, Divrik T, Eskiçorapçı S, Mungan U, Soylu A, Kaplan M, Bozlu M. Türkiye’de Prostat Kanseri İnsidansı Çalışması (Prostat Türk). Üroonkoloji Derneği, 01.07.2008-30.06.2009
3. Abouassaly R, Thompson IM, Platz EA, Klein EA. Epidemiology, Etiology, and Prevention of Prostate Cancer. In: Walsh P, Retik A, Vaughan E, Wein A. Campbell’s Urology, Chapter 95, Page:2705-2714, 2012.
4. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. Cell, 116:281–97, 2004.
5. Zamore PD, Haley B, Ribo-gnome: the big world of small RNAs. Science, 309(5740):1519-24, 2005.
6. Ambros V, Chen X. The regulation of genes and genomes by small RNAs. Development, 134(9); p1635-1641, 2007.
7. Chen CZ, Li L, Lodish HF, Bartel DP. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. Science, 303(5654), 2004 Jan 2. Epub, 83-6, 2003 Dec 4.
8. Konaç E, Önen Hİ, Sözen S. Üroonkolojide mikro RNA (miRNA) Yeri ve önemi. Üroonkoloji Bülteni, Sayı: 1, Mart, 2010.
9. Nicoloso MS, Kipps TJ, Croce CM, Calin GA. MicroRNAs in the pathogeny of chronic lymphocytic leukaemia. Br J Haematol, 2007.
10. He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. Nat Rev Genet, 5(7):522-31, 2004 Jul.
11. Sevignani C, Calin GA, Siracusa LD, Croce CM. Mammalian microRNAs: a small world for fine-tuning gene expression. Mamm Genome, 17(3), 2006 Mar. Epub, 189-202, 2006 Mar 3.
12. Aqeilan RI, Calin GA, Croce CM. miR-15a and miR-16-1 in cancer: discovery, function and future perspectives. Cell Death Differ, 17(2), 2010 Feb. Epub, 215-20. doi: 10.1038/cdd.2009.69, 2009 Jun 5.

13. Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, Pushkaran B, Liggins AP, Pulford K. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol*, 141:672–5, 2008.
14. Brase JC, Wuttig D, Kuner R, Sultmann H. Serum microRNAs as non-invasive biomarkers for cancer. *Mol Cancer*, 9:306. doi: 10.1186/1476-4598-9-306, 2010 Nov 26.
15. Huang Y, Shen XJ, Zou Q, Zhao QL. Biological functions of microRNAs. *Bioorg Khim*, 36(6):747-52, 2010.
16. Zen K, Zhang CY. Circulating microRNAs: a novel class of biomarkers to diagnose and monitor human cancers. *Med Res Rev*, 32(2):326-48, 2012 Mar. Epub, doi: 10.1002/med.20215, 2010 Nov 9.
17. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105:10513–8, 2008.
18. Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A, Burwinkel B. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic Acids Res*, 39(16):7223-33, 2011 Sep 1. Epub, doi: 10.1093/nar/gkr254, 2011 May 24.
19. Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Sci*, 101(10):2087-92, 2010 Oct. Epub, doi:10.1111/j.1349-7006.2010.01650.x, 2010 Jul 7.
20. Rosenfeld N, Aharonov R, Meiri E, Rosenwald S, Spector Y, Zepeniuk M, Benjamin H, Shabes N, Tabak S, Levy A, Lebanony D, Goren Y, Silberschein E, Targan N, Ben-Ari A, Gilad S, Sion-Vardy N, Tobar A, Feinmesser M, Kharenko O, Nativ O, Nass D, Perelman M, Yosepovich A, Shalmon B, Polak-Charcon S, Fridman E, Avniel A, Bentwich I, Bentwich Z, Cohen D, Chajut A, Barshack I. MicroRNAs accurately identify cancer tissue origin. *Nat Biotechnol*, 26(4):462-9, 2008 Apr. Epub, doi: 10.1038/nbt1392, 2008 Mar 23.
21. Epstein J. The prostate and seminal vesicles. In: Carter D, Reuter V, Greenson J, Stoler M, Oberman H. *Stenberg's diagnostic surgical pathology*, Fourth ed.

- Philadelphia, Baltimore. Lippincott Williams & Wilkins, Volume 2: 2083-2132, 2004.
22. Chung BI, Sommer G, Brooks JD. Anatomy of the Lower Urinary Tract and Male Genitalia. In: Walsh P, Retik A, Vaughan E, Wein A. Campbell's Urology, Chapter 2, Page: 58-59, 2012.
  23. Oyen R, Van de Vorde W, Van Poppel H, Brys P, Emeye F. Benign hyperplastic nodules that originate in the peripheral zone of the prostate gland. Radiology, 189: 707-711, 1993.
  24. McNeal J. Prostate. In: Stenberg S. Histology for Pathologists. Second ed. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 997-1018, 1997.
  25. McNeal J. The zonal anatomy of the prostate (abstract). Prostate, 2(1): 35-49, 1981.
  26. Yörükoğlu K. Prostat kanseri patolojisi. Prostat Kanseri Tanı ve Tedavi, Üroonkoloji Derneği Yayınları, 7-34.36, 2. 2004.
  27. Baydınç YC, Beytur A. Ürogenital Organların Anatomik Ve Histolojik Yapısı Anafarta K, Arıkan N, Bedük Y. Temel Üroloji, Dördüncü Baskı, Bölüm:1, Sayfa 15, Güneş Tıp Kitabevleri, 2011.
  28. Epstein J. The Normal and Hyperplastic Prostate. In: Prostate Biopsy Interpretation. Second ed. Philadelphia, New York. Lippincott-Raven Publishers, 1-13, 1995.
  29. Burak T, Bülent S. Alt üriner sistem ve erkek genital sistem anatomisi. Çeviri Editörleri: Kadri A, M. Önder Y: Campbell Üroloji, Sekizinci Baskı Cilt 1:41-70, 2005.
  30. Polat S. Ürogenital sistem. Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H. İnsan Embriyolojisi, 303-348, 2002.
  31. Epstein J. Neuroendocrine Differentiation in the Benign and Malignant Prostate. In: Prostate Biopsy Interpretation, Second ed. Philadelphia, New York, Lippincott- Raven Publishers, 179-185, 1995.
  32. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics. CA Cancer Clin, 49: 8-31, 1999.

33. Kanski A. Evaluating the Addition of Total Androgen Suppression to Radiation versus Radiation Alone for Locally Advanced Prostate Cancer. *Radiation Oncology, Review*, 71-72, 2004.
34. Epstein J. The Lower Urinary Tract and Male Genital System. In: Kumar V, Abbas A, Fausto N. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, Philadelphia, Pennsylvania, Elsevier Saunders Company, 1023-1058, 2005.
35. Neri D, Bicknell R. Tumor vascular targeting. *Nature Rev Cancer*, 436- 446, 2005.5.
36. Stamey TA, Yang N, Hay AR. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med*, 317, 909, 1987.
37. Kırkalı Z, Kırkalı G, Esen A. Effect of ejaculation on prostate-specific antigen levels in normal men. *Eur Urol*, 27, 292, 1995.
38. Westphal J, Heidenreich A, Zumberg J, Engelmann UH. The impact of ejaculation on serum PSA. *J Urol*, 153, 464A, 1995
39. Herschman JD, Smith DS, Catalona WJ. Effect of ejaculation on serum total and free prostate-specific antigen concentrations. *Urology*, 50, 239, 1997
40. Catalona WJ, Smith DS, Ornstein DK. Prostate cancer detection in men with serum PSA concentrations of 2.6 to 4.0 ng/mL and benign prostate examination. Enhancement of specificity with free PSA measurements. *JAMA*, 277(18):1452-5, 1997 May 14.
41. Baltacı S, Gökçe İ. Ürogenital Tümörler, Prostat Kanseri Anafarta K, Arıkan N, Bedük Y. Temel Üroloji, Dördüncü Baskı, Bölüm 16 Sayfa 802-803, Güneş Tıp Kitabevleri, 2011.
42. Oesterling JE, Rice DC, Glensid WJ, Bergstrahl EJ. Effect of cystoscopy, prostate biopsy, and transurethral resection of prostate on serum prostate-specific antigen concentration. *Urology* 42:276-82, 1993.
43. Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate specific antigen level < 4.0 ng per milliliter. *N Engl J Med*, 350: 2239- 2246, 2004.
44. Catalona WJ, Lueb S. Making prostate specific antigen testing more effective. *Urol Oncol*, 24:177-179, 2006.

45. Bussemakers MJ, van Bokhoven A, Verhaegh GW, Smit FP, Karthaus HF, Schalken JA, Debruyne FM, Ru N, Isaacs WB. DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res*, 59(23):5975-9, 1999 Dec 1.
46. Amaral PP, Dinger ME, Mercer TR, Mattick JS. The eukaryotic genome as an RNA machine. *Science*, 319(5871):1787-9. doi: 10.1126/science.1155472, 2008 Mar 28.
47. Hessels D, Klein Gunnewiek JM, van Oort I, Karthaus HF, van Leenders GJ, van Balken B, Kiemeny LA, Witjes JA, Schalken JA. DD3(PCA3)-based molecular urine analysis for the diagnosis of prostate cancer, 44(1):8-15; discussion 15-6, 2003 Jul.
48. Vlaeminck-Guillem V, Ruffion A, André J, Devonec M, Paparel P. Urinary prostate cancer 3 test: toward the age of reason? *Urology*, 75(2):447-53, 2010 Feb. *j.urology*, doi: 10.1016, 2009.03.046. Epub, 8. Review, 2009 Jul.
49. Marks LS, Fradet Y, Deras IL, Blase A, Mathis J, Aubin SM, Cancio AT, Desaulniers M, Ellis WJ, Rittenhouse H, Groskopf J. PCA3 molecular urine assay for prostate cancer in men undergoing repeat biopsy. *Urology*, 69(3):532-5, 2007 Mar.
50. Deras IL, Aubin SM, Blase A, Day JR, Koo S, Partin AW, Ellis WJ, Marks LS, Fradet Y, Rittenhouse H, Groskopf J. PCA3: a molecular urine assay for predicting prostate biopsy outcome. *J Urol*, 179(4):1587-92, 2008 Apr. *j.juro*, doi: 10.1016, 2007.11.038. Epub, 2008 Mar 4.
51. Haese A, de la Taille A, van Poppel H, Marberger M, Stenzl A, Mulders PF, Huland H, Abbou CC, Remzi M, Tinzi M, Feyerabend S, Stillebroer AB, van Gils MP, Schalken JA. Clinical utility of the PCA3 urine assay in European men scheduled for repeat biopsy. *Eur Urol*, 54(5):1081-8, 2008 Nov. *j.eururo*, doi: 10.1016/ 2008.06.071. Epub, 2008 Jun 26.).
52. De Luca S, Passera R, Milillo A, Coda R, Randone DF. Histological chronic prostatitis and high-grade prostate intra-epithelial neoplasia do not influence urinaryprostate cancer gene 3 score. *BJU*, 110(11 Pt

- B):E778-82, Int. 2012 Dec. Epub doi:10.1111/j.1464-410X.2012.11645.x, 2012 Nov 1.
53. Nakanishi H, Groskopf J, Fritsche HA, Bhadkamkar V, Blase A, Kumar SV, Davis JW, Troncoso P, Rittenhouse H, Babaian RJ. PCA3 molecular urine assay correlates with prostate cancer tumor volume: implication in selecting candidates for active surveillance. *J Urol*, 179(5):1804-9, 2008 May. *j.juro*, discussion 1809-10. Epub, doi: 10.1016/.2008.01.013, 2008 Mar 18.
  54. Auprich M, Haese A, Walz J, Pummer K, de la Taille A, Graefen M, de Reijke T, Fisch M, Kil P, Gontero P, Irani J, Chun FK. External validation of urinary PCA3-based nomograms to individually predict prostate biopsy outcome. *Eur Urol*, 58(5):727-32, 2010 Nov. *j.eururo*, doi: 10.1016, 2010.06.038. Epub 2010 Jul 3.
  55. Chun FK, de la Taille A, van Poppel H, Marberger M, Stenzl A, Mulders PF, Huland H, Abbou CC, Stillebroer AB, van Gils MP, Schalken JA, Fradet Y, Marks LS, Ellis W, Partin AW, Haese A. Prostate cancer gene 3 (PCA3): development and internal validation of a novel biopsy nomogram. *Eur Urol*, 56(4):659-67, 2009 Oct. *j.eururo*, doi: 10.1016,.2009.03.029. Epub 2009 Mar 13.
  56. Hessels D, van Gils MP, van Hooij O, Jannink SA, Witjes JA, Verhaegh GW, Schalken JA. Predictive value of PCA3 in urinary sediments in determining clinico-pathological characteristics of prostate cancer. *Prostate*, 70(1):10-6, 2010 Jan 1. *Pros*, doi: 10.1002, 21032.
  57. Auprich M, Chun FK, Ward JF, Pummer K, Babaian R, Augustin H, Luger F, Gutsch S, Budäus L, Fisch M, Huland H, Graefen M, Haese A. Critical assessment of preoperative urinary prostate cancer antigen 3 on the accuracy of prostate cancer staging. *Eur Urol*, 59(1):96-105, 2011 Jan. *j.eururo*, doi: 10.1016. Epub, 2010.10.024, 2010 Oct 20.
  58. Morris DS, Tomlins SA, Montie JE, Chinnaiyan AM. The discovery and application of gene fusions in prostate cancer. *BJU Int*, 102(3):276-82, 2008 Aug. Epub, doi: 10.1111/j.1464-410X.2008.07665.x, 16. Review, 2008 Apr.

59. Hessels D, Smit FP, Verhaegh GW, Witjes JA, Cornel EB, Schalken JA. Detection of TMPRSS2-ERG fusion transcripts and prostate cancer antigen 3 in urinary sediments may improve diagnosis of prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 13(17):5103-8, 2007 Sep 1.
60. Grégoire R, Sander J, Tilly A, Mulders P, Schalken J. Rational Basis For The Combination Of PCA3 And TMPRSS2:ERG Gene Fusion In Prostate Cancer Diagnosis. *J. Urol*, Volume 185, Issue 4, Page e648, 2011.
61. Presti JR. Neoplasm of the prostate gland. In: Tanagho EA, McAninch JW(Eds.), *Smith's general urology*, 15th ed. San Francisco, The McGraw-Hill Companies, 399-421, 2000.
62. Pins M, Betlej T, Dysico G, Spitz D. Male Genitourinary System. In: Haber M, Gattusu P, Spitz D, David O, *Differential Diagnosis in Surgery Pathology*, 519-90, 2002.
63. Rosai J. Male Reproductive system. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*, Volume 1: 1361-1411, 2004.
64. Loeb S, Carter H.B. Early Detection, Diagnosis, and Staging of Prostate Cancer. In: Walsh P, Retik A, Vaughan E, Wein A. *Campbell's Urology*, Chapter 99, Page 2767, 2012.
65. Gleason, DF. Classification of prostatic adenocarcinoma. *Cancer Chemother, Rep*, 50: 125–128, 1966.
66. Partin A, Kattan M, Subong E. Combination of prostate-specific antigen, clinical stage and Gleason score to predict pathological stage of localized prostate cancer. *JAMA*, 277: 1445-51, 1997.
67. Epstein J. Grading of prostatic adenocarcinomas. In: *Prostate Biopsy Interpretation*, Second ed, Philadelphia, New York, Lippincott-Raven Publishers, 65-85, 1995.
68. Matsuno F, Haruta Y, Kondo M, Tsai H, Barcos M. Induction of lasting complete regression of preformed distinct solid tumors by targeting the tumor vasculature using two new anti-endoglin monoclonal antibodies. *Clin Can Res*, 371-82, 1999.
69. Grönberg H. Prostate cancer epidemiology. *The Lancet*, 361: 859-64, 2003.

70. Bastacky SI, Walsh PC, Epstein JI. Relationship between perineural tumor invasion on needle biopsy and radical prostatectomy capsular penetration in clinical stage B adenocarcinoma of the prostate. *Am J Surg Pathol*, 17(4):336-41, 1993.
71. Byar DP, Mostofi FK. Carcinoma of the prostate: Prognostik evaluation of certain pathologic features in 208 radical prostatectomies. Examined by the step-section technique. *Cancer*, 30:5-13, 1972.
72. Algaba F, Arce Y, Oliver A, Barandica C. Prognostic parameters other than gleason score fort he daily evaluation of prostate cancer in neeedle biopsy. *Eur Urol*, 48:566-71, 2005.
73. Vargas SO, Jiroutek M, Welch WR. Perineural invasion in prostate needle biopsy specimens. Corelation with ekstraprostatic extension at resection. *Am J Clin Pathol*, 111:223-8, 1999.
74. Ross J, Sheehan C, Dolen E, Kallakury B. Morphologic and moleculer prognostic markers in prostate cancer. *Advances in Anatomic Pathology*, 9(2): 115-128, 2002.
75. Grignon DJ, Hammond EH. College of American Pathologists Conference XXVI on clinical relevance of prognostic markers in solid tumors. *Arch Pathol Lab Med*, 119: 1122-1126, 1995.
76. Getzenberg RH, Partin AW. Prostate Cancer Tumor Markers In: Walsh P, Retik A, Vaughan E, Wein A. *Campbell's Urology*, Chapter 98, Page 2760, 2012.
77. Sullivan CS. Expression and function of microRNAs in viruses great and small. *Cold Spring Harb.Symp.Quant.Biol.*, 71, 351-356, 2006.
78. Stefani G, Slack FJ. Small non-coding RNAs in animal development. *Nat.Rev.Mol.Cell Biol.*, 9(3), p219-230, 2008.
79. Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. *Nat Rev Cancer*, 6:857-66, 2006.
80. Caldas C, Brenton JD. Sizing up miRNAs as cancer genes. *Nat Med*, 11:712-4, 2005.

81. Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci, U S A*, 103:2257–61, 2006.
82. Calin GA, Liu CG, Sevignani C, Ferracin M, Felli N, Dumitru CD. MicroRNA profiling reveals distinct signatures in B cell chronic lymphocytic leukemias. *Proc Natl Acad Sci, U S A*, 101:11755–60, 2004.
83. Yun SJ, Jeong P, Kim WT, Kim TH, Lee YS, Song PH. Cell-free microRNAs in urine as diagnostic and prognostic biomarkers of bladder cancer. *Int J Oncol*, 41:1871–8, 2012.
84. He H, Jazdzewski K, Li W, Liyanarachchi S, Nagy R, Volinia S. The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci, U S A*, 102:19075–80, 2005.
85. Ozen M, Creighton CJ, Ozdemir M, Ittmann M. Widespread deregulation of microRNA expression in human prostate cancer. *Oncogene*, 27:1788–93, 2008.
86. Porkka KP, Pfeiffer MJ, Waltering KK, Vessella RL, Tammela TL, Visakorpi T. MicroRNA expression profiling in prostate cancer. *Cancer Res*, 67:6130–5, 2007.
87. Dong JT, Isaacs WB, Isaacs JT. Molecular advances in prostate cancer. *Curr Opin Oncol*, 9:101–7, 1997.
88. Meeker AK, Hicks JL, Platz EA, March GE, Bennett CJ, Delannoy MJ. Telomere shortening is an early somatic DNA alteration in human prostate tumorigenesis. *Cancer Res*, 62:6405–9, 2002.
89. Carver BS, Tran J, Gopalan A, Chen Z, Shaikh S, Carracedo A. Aberrant ERG expression cooperates with loss of PTEN to promote cancer progression in the prostate. *Nat Genet*, 41:619–24, 2009.
90. Wang JC, Begin LR, Berube NG, Chevalier S, Aprikian AG, Gourdeau H. Down-regulation of CD9 expression during prostate carcinoma progression is associated with CD9 mRNA modifications. *Clin Cancer Res*, 13:2354–61, 2007.
91. Lodes MJ, Caraballo M, Suci D, Munro S, Kumar A, Anderson B. Detection of cancer with serum miRNAs on an oligonucleotide microarray. *PLoS One*, 4:e6229, 2009.

92. Saraydaroglu Ö, Özuysal S, Bilgin T. İnvaziv serviks kanserlerinde anjiogenezin prognostik faktörler üzerine etkisi. *Türk Patoloji Dergisi*, 20(1-2): 14-17, 2004.
93. Raymond W, Leong A, Bolt J, Milios J, Jose J. Growth fractions in human prostatic carcinoma determined by Ki-67 immunostaining. *J Pathol*, 156: 161-167, 1988.
94. Brawer M, Deering R, Brown M, Preston S, Bigler S. Predictors of pathologic stage in prostatic carcinoma (the role of neovascularity). *Cancer*, 73: 678-87, 1994.
95. Bostwick D, Wheeler T, Blute M, Barret D, MacLennan G. Optimized microvessel density analysis improves prediction of cancer stage from prostate needle biopsies. *Urology*, 48: 47-57, 1996.
96. Yorukoglu K, Sagol O, Ozkara E, Mungan U, Kırkalı Z. Comparison of microvascularization in diagnostic needle biopsies and radical prostatectomies in prostate carcinoma. *Eur Urol*, 35: 109-112, 1999.
97. Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res*, 18:997–1006, 2008
98. Mahn R, Heukamp LC, Rogenhofer S, von Ruecker A, Muller SC, Ellinger J. Circulating microRNAs (miRNA) in serum of patients with prostate cancer. *Urology*, 77:1265. e9–16, 2011.
99. Shen J, Hruby GW, McKiernan JM, Gurvich I, Lipsky MJ, Benson MC. Dysregulation of circulating microRNAs and prediction of aggressive prostate cancer. *Prostate*, 72; 1469-1477, 2012.
100. Zhang ZW, An Y, Teng CB. The roles of miR-17-92 cluster in mammal development and tumorigenesis. *Yi Chuan*, 31(11):1094-100, 2009 Nov
101. Novotny GW, Sonne SB, Nielsen JE, Jonstrup SP, Hansen MA, Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Kjems J, Leffers H. Translational repression of E2F1 mRNA in carcinoma in situ and normal testis correlates with expression of the miR-17-92 cluster. *Cell Death Differ*, 14(4), 2007 Apr. Epub, 879-82. 2007 Jan 12.

102. Schaefer A, Jung M, Mollenkopf HJ, Wagner I, Stephan C, Jentzmik F. Diagnostic and prognostic implications of microRNA profiling in prostate carcinoma. *Int J Cancer*, 126:1166–76, 2010.
103. Ambis S, Prueitt RL, Yi M, Hudson RS, Howe TM, Petrocca F. Genomic profiling of microRNA and messenger RNA reveals deregulated microRNA expression in prostate cancer. *Cancer Res*, 68:6162–70, 2008.
104. Beatriz AW, Vladimir AV, Peter AP, Maria JM. Comprehensive microRNA Profiling of Prostate Cancer, *J Cancer*, 4(5): 350–357, 2013.
105. Debernardi S, Skoulakis S, Molloy G, Chaplin T, Dixon-McIver A, Young BD. MicroRNA miR-181a correlates with morphological sub-class of acute myeloid leukaemia and the expression of its target genes in global genome-wide analysis. *Leukemia*, 21:912–916, 2007.
106. Chen CZ, Li L, Lodish HF, Bartel DP. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science*, 303:83–86, 2004.
107. Parikh A, Lee C, Joseph P. microRNA-181a has a critical role in ovarian cancer progression through the regulation of the epithelial-mesenchymal transition. *Nature Communications*, 5, article 2977, 2014.
108. Wei Z, Cui L, Mei Z, Liu M, Zhang D. miR-181a mediates metabolic shift in colon cancer cells via the PTEN/AKT pathway. *FEBS Letters*, 588(9):1773-1779, 2014.
109. Bryant RJ, Pawlowski T, Catto JW, Marsden G, Vessella RL, Rhee B. Changes in circulating microRNA levels associated with prostate cancer. *Br J Cancer*, 106:768–74, 2012.
110. Brase JC, Johannes M, Schlomm T, Falth M, Haese A, Steuber T. Circulating miRNAs are correlated with tumor progression in prostate cancer, *Int J Cancer*, 128; 608-616, 2011.
111. Selth LA, Townley SL, Bert AG, Stricker PD, Sutherland PD, Horvath LG, Goodall GJ, Butler LM, Tilley WD. Circulating microRNAs predict biochemical recurrence in prostate cancer patients; on behalf of the Australian Prostate Cancer. *Br J Cancer*, 109(3): 641–650, Aug 6, 2013.

112. Sapre N, Selth LA. Circulating MicroRNAs as Biomarkers of Prostate Cancer: The State of Play. *Prostate Cancer*, 539680, 2013. doi: 10.1155/2013/539680. Epub 2013 Mar 12.
113. Gonzales JC, Fink LM, Goodman OB, Symanowski JT, Vogelzang NJ, Ward DC. Comparison of circulating MicroRNA 141 to circulating tumor cells, lactate dehydrogenase, and prostate-specific antigen for determining treatment response in patients with metastatic prostate cancer. *Clin Genitourin Cancer*, 9(1):39-45, 2011 Sep. Epub, doi:10.1016/j.clgc.2011.05.008, 2011 Jul 1.
114. Nguyen HC, Xie W, Yang M, Hsieh CL, Drouin S, Lee GS, Kantoff PW. Expression differences of circulating microRNAs in metastatic castration resistant prostate cancer and low-risk localized prostate cancer. *Prostate*, 73(4):346-54, 2013 Mar. Epub, doi: 10.1002/pros.22572, 2012 Aug 10.
115. Simonini SR, Breiling A, Gupta N. Epigenetically deregulated microRNA-375 is involved in a positive feedback loop with estrogen receptor  $\alpha$  in breast cancer cells. *Cancer Res*, 70:9175–9184, 2010.
116. Shibata A, Minn AY. Perinatal sex hormones and risk of breast and prostate cancers in adulthood. *Epidemiol Rev*, 22:239–248, 2000
117. Heinlein CA, Chang C. Androgen receptor in prostate cancer. *Endocr Rev*, 25:276–308, 2004.
118. Wartenberg M, Fischer K, Hescheler J, Sauer H. Modulation of intrinsic P-glycoprotein expression in multicellular prostate tumor spheroids by cell cycle inhibitors. *Biochim, Biophys, Acta*, 1589, 49–62, 2002.
119. Kulp KS, Vulliet PR. Mimosine blocks cell cycle progression by chelating iron in asynchronous human breast cancer cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 139, 356–364, 1996.
120. Chang HC, Weng CF, Yen MH, Chuang LY, Hung WC. Modulation of cell cycle regulatory protein expression and suppression of tumor growth by mimosine in nude mice. *Int. J. Oncol*, 17, 659–665, 2000.
121. Epis MR, Giles KM, Barker A, Kendrick TS, Leedman PJ. miRNA-331-3p regulates ERBB-2 expression and androgen receptor signaling in prostate

- cancer. *J Biol Chem*, 284(37):24696-704, 2009 Sep 11. Epub, doi: 10.1074/jbc.M109.030098, 2009 Jul 7
122. Sun R, Fu X, Li Y, Xie Y, Mao Y. Global gene expression analysis reveals reduced abundance of putative microRNA targets in human prostate tumours. *BMC Genomics*, 10:93, 2009.
  123. Ribas J, Ni X, Haffner M, Wentzel EA, Salmasi AH, Chowdhury WH, Kudrolli TA, Yegnasubramanian S, Luo J, Rodriguez R, Mendell JT, Lupold SE. miR-21: an androgen receptor-regulated microRNA that promotes hormone-dependent and hormone-independent prostate cancer growth. *Cancer Res*, 69(18):7165-9, 2009 Sep 15. Epub, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1448, 2009 Sep 8
  124. Li T, Li D, Sha J, Sun P, Huang Y. MicroRNA-21 directly targets MARCKS and promotes apoptosis resistance and invasion in prostate cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 383(3):280-5, 2009 Jun 5. ; Epub, doi: 10.1016/j.bbrc.2009.03.077, 2009 Mar 18.
  125. Galardi S, Mercatelli N, Giorda E, Massalini S, Frajese GV, Ciafrè SA, Farace MG. miR-221 and miR-222 expression affects the proliferation potential of human prostate carcinoma cell lines by targeting p27Kip1. *J Biol Chem*, 282(32), 2007 Aug 10. Epub, 23716-24, 2007 Jun 14.
  126. Spahn M, Kneitz S, Scholz CJ, Stenger N, Rudiger T, Strobel P. Expression of microRNA-221 is progressively reduced in aggressive prostate cancer and metastasis and predicts clinical recurrence. *Int J Cancer*, 127:394–403, 2010.
  127. Tong AW, Fulgham P, Jay C, Chen P, Khalil I, Liu S. MicroRNA profile analysis of human prostate cancers. *Cancer Gene Ther*, 16:206–16, 2009.
  128. Agaoglu YF, Kovancilar M, Dizdar Y, Darendeliler E, Holdenrieder S, Dalay N. Investigation of miRNA-21, miRNA-141, and miRNA-221 in blood circulation of patients with prostate cancer. *Tumour Biol*, 32:583–8, 2011.
  129. Hellwinkel OJ, Sellier C, Sylvester YM, Brase JC, Isbarn H, Erbersdobler A, Steuber T, Sultmann H, Schlomm T, Wagner C. A Cancer-Indicative microRNA Pattern in Normal Prostate Tissue. *Int J Mol Sci*, 14(3):5239-49. doi: 10.3390/ijms14035239, 2013 Mar 4.

130. Waltering KK, Porkka KP, Jalava SE, Urbanucci A, Kohonen PJ, Latonen LM. Androgen regulation of micro-RNAs in prostate cancer. *Prostate*, 71:604–14, 2011.
131. Szczyrba J, Loprich E, Wach S, Jung V, Unteregger G, Barth S. The microRNA profile of prostate carcinoma obtained by deep sequencing. *Mol Cancer Res*, 8:529–38, 2010.
132. Huang X, Liang M, Dittmar R, Wang L. Extracellular MicroRNAs in Urologic Malignancies: Chances and Challenges; *Int J Mol Sci*, 14(7): 14785–14799, Jul 2013.
133. Chen ZH, Zhang GL, Li HR, Luo JD, Li ZX, Chen GM, Yang J. A panel of five circulating microRNAs as potential biomarkers for prostate cancer. *Prostate*, 72(13):1443-52, 2012 Sep 15. Epub, doi: 10.1002/pros.22495, 2012 Feb 1.
134. Hessvik NP, Sandvig K, Llorente A. Exosomal miRNAs as biomarkers for prostate cancer. *Front. Genet*, 4 doi: 10.3389/fgene.2013.00036, 2013.
135. Chiyomaru T, Yamamura S, Fukuhara S, Hidaka H, Majid S, Saini S, Arora S, Deng G, Shahryari V, Chang I, Tanaka Y, Tabatabai ZL, Enokida H, Seki N, Nakagawa M. Genistein up-regulates tumor suppressor microRNA-574-3p in prostate cancer. *R.PLoS One*, 8(3):e58929, 2013. Epub, doi: 10.1371/journal.pone.0058929, 2013 Mar 12.
136. Coppola V, De Maria R, Bonci D. MicroRNAs and prostate cancer. *Endocr Relat Cancer*, 17(1):F1-17, 2010 Jan 29. doi: 10.1677/ERC-09-0172. Print 2010 Mar.