



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PROSTAT KANSERİNDE NER TAMİR MEKANİZMASI ENZİM İFADE
DEĞİŞİMLERİNİN İNCELENMESİ**

Adila ABDULLA

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mehmet GÜVEN

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Tıbbi Biyoloji, Tezli Yüksek Lisans Programı

OCAK, 2025

TEZ KABUL VE ONAYI

Adila ABDULLA tarafından, Prof. Dr. Mehmet GÜVEN danışmanlığında hazırlanan " PROSTAT KANSERİNDE NER TAMİR MEKANİZMASI ENZİM İFADE DEĞİŞİMLERİNİN İNCELENMESİ" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 13/01/2025 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

	İmza	Sonuç
	Prof. Dr. Mehmet GÜVEN	<input checked="" type="checkbox"/>
DANIŞMAN	İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	Kabul <input type="checkbox"/> Ret
	Doç. Dr. Ahmet ÖZAYDIN	<input checked="" type="checkbox"/>
ÜYE	İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	Kabul <input type="checkbox"/> Ret
	Doç. Dr. Hikmet KÖSEOĞLU	<input checked="" type="checkbox"/>
ÜYE	Sağlık Bilimleri Üniversitesi Cerrahi Anabilim Dalı	Kabul <input type="checkbox"/> Ret



Her zaman yanımda olan ve bana sonsuz destekde bulunan aileme ithaf ediyorum....

BÜTÇE DESTEKLERİ

PROSTAT KANSERİNDE NER TAMİR MEKANİZMASI ENZİM İFADE DEĞİŞİMLERİNİN İNCELENMESİ

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 37487

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince her zaman ve her koşulda değerli bilgi birikimlerini ve deneyimlerini benimle paylaşan tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Mehmet GÜVEN'e

Eğitimimde ve tezimde bana her türlü konuda yardım eden Bölüm başkanımız Sn. Prof. Dr. Matem TUNÇDEMİR, Anabilim Dalı Başkanımız Sn. Prof. Dr. Turgut ULUTİN'e ve Anabilim Dalı'mızın tüm değerli Öğretim Üyelerine,

Çalışma arkadaşlarım Vahid ROUHİ HAMLABADİ ve Sanaz HABİBİ'e

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, eğitimim için fedakarlıklar yapan ve beni her konuda destekleyen canım annemle babam, Kamala ABDULLAYEVA ve Ahmet ABDULLAYEV'e teşekkür ediyorum.

Ocak 2025

Adila ABDULLA

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI.....	ii
BEYAN	iii
BÜTÇE DESTEKLERİ	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ.....	xi
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	xii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE	4
2.1 PROSTAT ANATOMİSİ.....	4
2.2 PROSTAT HİPERPLAZİSİ.....	5
2.3 PROSTAT KANSERİ.....	6
2.3.1 Prostat Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etyolojisi.....	6
2.3.2 Klinik bulgular.....	8
2.3.3 Prostat Kanserinin Histopatolojisi ve Heterojenitesi.....	8
2.3.4 Prostat kanserinin prognozu.....	10
2.3.5 Tanı ve tedavi.....	10
2.3.6 Prostat kanserinin genetiği.....	12
2.3.7 Kalıtsal prostat kanseri.....	13
2.3.8 Prostat Kanserinin Moleküler mekanizmaları.....	14
2.4 DNA TAMİR MEKANİZMALARI.....	15
2.4.1 İnsanlarda NER Mekanizması.....	16

2.5 ERCC2 GENİ VE PROTEİNİ.....	18
2.6 ERCC5 GENİ VE PROTEİNİ.....	19
3. YÖNTEM	21
3.1 ÇALIŞMA GRUBU.....	21
3.2 KULLANILAN CİHAZLAR.....	22
3.3 KULLANILAN MALZEMELER VE KİMYASAL MADDELER.....	22
3.3.2 RNA Eldesinde Kullanılan Tampon ve Çözeltiler	23
3.3.3 cDNA Sentezinde Kullanılan Tampon ve Çözeltiler.....	23
3.3.4 Gerçek zamanlı PZR’da Kullanılan Tampon ve Çözeltiler.....	23
3.3.5 Gerçek Zamanlı PZR’da Kullanılan Primer Hedef Bilgileri.....	24
3.4 DOKU HOMOJENİZASYONU.....	24
3.5 GEN İFADE ANALİZLERİ.....	25
3.5.1. mRNA İzolasyonu.....	25
3.5.2 mRNA Saflığının Ölçülümü ve Konsantrasyonu (Spektrofotometrik Analiz).....	25
3.5.3 cDNA Eldesi	26
3.5.4 Gerçek Zamanlı Polimeaz Zincir Reaksiyonu (Real-time PCR).....	27
3.5.5 Normalizasyon	28
3.5.6 Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	28
3.6 İSTATİKSEL ANALİZLER.....	29
4. BULGULAR	30
4.1. PROSTAT KANSER HASTALARIN GEN İFADELERİ.....	30
4.2 PROSTAT KANSER HASTALARININ KLİNİK VERİLERİNE GÖRE GEN İFADE DÜZEYLERİ.....	32
5. TARTIŞMA.....	37
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	43

KAYNAKLAR.....	45
EKLER	49
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	51
ETİK KURUL İZİN YAZISI	52
KURUM İZİN YAZILARI.....	54
ÖZGEÇMİŞ	55



ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1.1: Prostat yapısı.....	4
Şekil 2.1.2: Normal ve neoplastik prostat.....	5
Şekil 2.3.3.1: Prostat adenokarsinoması.....	9
Şekil 2.3.8.1: Prostat kanseri ile ilgili sistemler ve bu sistemler ile ilişkili moleküller; DNA onarım sistem molekülleri ve tümör süpresör proteinler; prostat spesifik antijenler ve transkripsiyon faktörleri; onkogenler ve büyüme faktörü reseptörleri, androjen sinyalizasyon molekülleri.....	14
Şekil 2.4.1.1: İnsanlarda bulunan NER sistemi.....	17
Şekil 2.5.1: XPD proteinindeki bazı mutasyonların yerleri gösterilmiştir. Üst tarafta, XP (siyah kutular) ve XP/CS'ye (kırmızı kutular) fenotipine yol açan değişiklikler, alt tarafta TTD fenotipine yol açan mutasyonlar gösterilmiştir. İki yaygın polimorfizmin konumları ise yeşil kutularla gösterilmiştir.....	18
Şekil 2.6.1: XPG şematik yapısı.....	20

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 3.3.5.1: Hedef ve kontrol genlerin primer hedef bölgeleri ve fragment uzunluğu.....	24
Tablo 3.5.3.1: cDNA sentezinde kullanılan karışım bileşenleri.....	26
Tablo 3.5.3.2: cDNA reaksiyon döngüleri.....	27
Tablo 3.5.4.1: qPCR reaksiyon karışımı içerikleri.....	28
Tablo 3.5.4.2: qPCR'ın sıcaklık döngüsü.....	28
Tablo 4.1.1: Tümörlü ve normal doku örneklerinde ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade değerleri ($2^{-\Delta CT}$).....	31
Tablo 4.1.2: Tümörlü ve normal doku örneklerinde ERCC2 ifade değeri.....	31
Tablo 4.1.3: Tümörlü ve normal doku örneklerinde ERCC5 ifade değeri.....	31
Tablo 4.2.1: Prostat kanser hastalarının demografik ve klinik verileri.....	32
Tablo 4.2.2 : Tümör ve normal doku örneklerinde ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade değerlerinin sigara kullanımı ile ilişkisi.....	33
Tablo 4.2.3: Tümör ve normal doku örneklerinde ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade değerlerinin diyabet öyküsü ile ilişkisi.....	33
Tablo 4.2.4: Tümör ve normal doku örneklerinde ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade değerlerinin hipertansiyon öyküsü ile ilişkisi.....	34
Tablo 4.2.5: Tümör ve normal doku örneklerinde ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade değerlerinin nodül varlığı öyküsü ile ilişkisi.....	34
Tablo 4.2.6: Tümör ve normal doku örneklerinde ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade değerlerinin gleason skoru değeri ile ilişkisi.....	35
Tablo 4.2.7: Tümör ve normal doku örneklerinde ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade değerlerinin PIRADS skoru değeri ile ilişkisi.....	36

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Kısaltmalar

Açıklama

NER: Nükleotid eksizyon tamiri

BPH: İyi huylu prostat büyümesi

LUTS:Alt idrar yolu semptomları

PSA:Prostat spesifik antijen

MRI: Manyetik rezonans görüntüleme

PIN: Prostatik intraepitelyal neoplazi

DHT: Dihidrotestosteron

H&E: Hematoksilen ve eozin

AR:Androjen reseptörü

CRPC: Kastrasyona dirençli prostat kanseri

hK2: İnsan kallikrein 2

DRE: Dijital rektal muayeneden

TRUS: Transrektal ultrason

PIRADS: Prostate Imaging Reporting and Data System

RT: Radyoterapi

ERG: ETS ailesi transkripsiyon faktörü

SPOP: BTB alanı içeren POZ tipi adaptör proteini

ETS: E-26 transformasyon özgü

PI3K: Fosfoinositid 3-kinaz

HBOC: Kalıtsal meme ve yumurtalık kanseri

LS: Lynch sendromu

DDR: DNA hasar yanıtı

BER: Baz Eksizyon Onarımı

AP: Apürinik/Apirimidik

Indel: İnsertion/Deletion

NHEJ: Homolog olmayan uç birleşmesi
HR: Homolog rekombinasyon
XP: Xeroderma pigmentosum
TTD: Trikotiyodistrofi
CS: Cockayne sendromlu
XPD: Xeroderma Pigmentosum Protein D
SF2: Süperaile 2
XPB: Xeroderma pigmentosum grup G
RPA: Replikasyon Protein A
D1: Birinci bölge
D2: İkinci bölge
PCNA: Proliferating Cell Nuclear Antigen
NLS: Nükleer Lokalizasyon Sinyalleri
RT-PCR: Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu
ACTB: Aktin Beta
CT Cycle: Threshold
HCC: Hepatoselüler karsinom

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PROSTAT KANSERİNDE NER TAMİR MEKANİZMASI ENZİM İFADE DEĞİŞİMLERİNİN İNCELENMESİ

Adila ABDULLA

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Tıbbi Biyoloji, Tezli Yüksek Lisans Programı

Danışman : Prof. Dr. Mehmet GÜVEN

Prostat kanseri, erkeklerde en sık görülen malignitelerden biri olup kansere bağlı ölümler arasında ikinci sırada yer almaktadır. Prostat kanserinin patogeneğinde genetik ve epigenetik değişimlerin yanı sıra DNA hasar onarım mekanizmalarındaki bozukluklar önemli bir rol oynamaktadır. Bu mekanizmalardan biri olan nükleotid eksizyon tamiri (NER), UV ışınları, kimyasal ajanlar ve sigara dumanı gibi çevresel etkenlerin neden olduğu geniş çaplı DNA hasarlarını onarır. NER mekanizmasında görev alan ERCC2 ve ERCC5 proteinleri, DNA onarım sürecinde merkezi roller üstlenmektedir. ERCC2 geni, DNA'nın hasarlı bölgesini açan bir helikazı kodlarken, ERCC5 geni, hasarlı DNA'nın kesilmesini sağlayan bir endonükleazı kodlar.

Bu çalışmada, prostat kanseri hastaların tümörlü ve normal dokularında ERCC2 ve ERCC5 gen ifadeleri incelenmiştir. Çalışmada toplam 50 hastadan alınan ve patolojik olarak teyit edilen biyopsi örnekleri RT-PCR yöntemiyle analiz edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, ERCC2 gen ifadesi tümör dokusunda normal dokulara kıyasla 2,25 kat artış göstermiş, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.12$). ERCC5 gen ifadesi ise tümör dokusunda normal dokulara göre anlamlı bir şekilde artış göstermiş ($p=0.005$) ve bu artış 5,94 kat olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, ERCC2 ve ERCC5 gen ifadeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon tespit edilmemiştir. Sigara kullanımı, diyabet, hipertansiyon, nodül

varlığı, Gleason skoru ve PIRADS skoru gibi klinik değişkenlerin gen ifadeleri üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak, prostat kanserinde ERCC5 geninin yüksek ifadesi, NER yolağının bu hastalıkta önemli bir role sahip olduğunu ve ERCC5'in potansiyel bir biyobelirteç olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Çalışmamızın, DNA tamir mekanizmalarının prostat kanseri gelişimindeki rolünü anlamaya yönelik literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir. |

Ocak 2025 , 2 sayfa.

Anahtar kelimeler: | Prostat Kanseri, Nükleotid Eksizyon Tamiri, ERCC2, ERCC5, DNA Hasar Onarımı |



ABSTRACT

[M.Sc. THESIS]

[INVESTIGATION OF NER REPAIR MECHANISM ENZYME EXPRESSION CHANGES IN PROSTATE CANCER]

[Adila ABDULLA]

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Medical Biology

Medical Biology

[Supervisor : Prof. Dr. Mehmet GÜVEN]

Prostate cancer is one of the most common malignancies in men and is the second leading cause of cancer-related deaths. In the pathogenesis of prostate cancer, genetic and epigenetic changes as well as disorders in DNA damage repair mechanisms play an important role. One of these mechanisms, nucleotide excision repair (NER), repairs extensive DNA damage caused by environmental factors such as UV rays, chemical agents, and cigarette smoke. The ERCC2 and ERCC5 proteins involved in the NER mechanism play central roles in the DNA repair process. The ERCC2 gene encodes a helicase that opens the damaged region of DNA, while the ERCC5 gene encodes an endonuclease that enables the cutting of damaged DNA.

In this study, ERCC2 and ERCC5 gene expressions were examined in tumor and normal tissues of prostate cancer patients. In the study, biopsy samples taken from a total of 50 patients and confirmed pathologically were analyzed by RT-PCR. According to the findings, ERCC2 gene expression increased 2.25 times in tumor tissue compared to normal tissues, but this increase was not found to be statistically significant ($p=0.12$). ERCC5 gene expression increased significantly in tumor tissue compared to normal tissues ($p=0.005$) and this increase was calculated as 5.94 times. In addition, no statistically significant correlation was found between ERCC2 and ERCC5 gene expressions. It was observed that clinical variables such as smoking, diabetes, hypertension, nodule presence, Gleason score and PIRADS score did not have any effect on gene expressions.

In conclusion, high expression of ERCC5 gene in prostate cancer shows that NER pathway has an important role in this disease and ERCC5 can be considered as a potential biomarker. It is thought that our study will contribute to the literature on understanding the role of DNA repair mechanisms in the development of prostate cancer. |

January 2025, |2| pages.

Keywords: |Prostate Cancer, Nucleotide Excision Repair, ERCC2, ERCC5, DNA Damage Repair |



1. GİRİŞ

Prostat bezi, pelvis bölgesinde yer alan, yaklaşık ceviz büyüklüğünde bir organdır. Bu organ, hem fibromusküler hem de glandüler dokudan oluşur ve glandüler doku, sıvı üretme işlevine sahiptir. Prostatın temel fonksiyonu, sperm hücrelerini beslemek ve ortamın pH seviyesini yüksekte alkaliye çevirerek sperm hücrelerinin korunmasını sağlamaktır. Prostatın patolojik durumları arasında konjenital malformasyonlar, inflamatuvar hastalıklar, benign prostat hiperplazisi ve prostat kanseri gibi rahatsızlıklar bulunmaktadır. Prostat kanseri, erkeklerde en sık görülen malignitelerden biri olup, dünya genelinde kanserle ilişkili ölümler arasında akciğer kanserinin ardından ikinci sırada yer almaktadır. Prostat kanseri, genellikle yavaş ilerleyen ancak metastaz yapabilen ve tedavi edilmediğinde ölümcül olabilen bir hastalık olarak öne çıkmaktadır. Her yıl milyonlarca yeni prostat kanser vakası tespit edilmekte olup, bu durum hastalığın genetik ve çevresel faktörlerin etkisinin aydınlatılmasının önemini göstermektedir (1).

Prostat kanser gelişimi, epigenetik değişikliklerin yanı sıra özellikle hücrelerdeki DNA hasarlarının onarım mekanizmasındaki genetik değişiklikler ile ilişkilidir. DNA'da, çevresel faktörlerden (UV ışınları, sigara dumanı, kimyasal ajanlar) ve hücresel süreçlerden (oksidatif stres, replikasyon hataları) kaynaklı hasar meydana gelebilir. DNA'daki hasarların birikmesi, hücrenin genomik stabilitesini bozar ve kanser gelişimine yol açar (2). Bu bağlamda, DNA hasarını onaran mekanizmalar, hücresel homeostazın korunmasında kritik rol oynar.

DNA onarım mekanizmaları arasında nükleotid eksizyon tamiri (NER) yolağı, özellikle büyük çaplı DNA hasarlarının onarılmasında önemli bir rol oynar. NER, UV ışınları ve çevresel toksinler gibi dış etkenlerle meydana gelen DNA hasarlarının tanınmasında ve onarılmasında görev alır. Bu yolak, DNA'nın hasarlı bölgesini tanıyan bir dizi protein ve enzim kompleksini içerir. NER süreci, iki ana aşamadan oluşur: DNA'daki hasarlı bölgenin çıkartılması ve bu bölgede eksik olan nükleotidlerin yeniden eklenmesi yani replikasyonu. NER, hem gen ekspresyonunun sağlıklı bir şekilde devam edebilmesinde hem de hücrede

sağlıksız sonuçlar doğurabilecek DNA hasarlarının onarılıp hücrel stabilitenin sağlanmasında önemli bir rol oynar (3).

NER yolağının ana bileşenleri arasında yer alan ERCC2 ve ERCC5 genleri, bu tamir sürecinin en önemli bileşenlerindedir. ERCC2, helikaz aktivitesi gösteren ve hasarlı DNA bölgelerinin açılmasında görev alan bir proteini kodlar. Bu, DNA'nın onarım için erişilebilir hale gelmesini sağlar. ERCC2, ayrıca, hasar tanıma kompleksinin bir parçası olarak, DNA hasarının yerini belirler ve bu bölgenin onarımına yönelik mekanizmayı başlatır. ERCC5, DNA'nın hasarlı bölgesini kesen endonükleazları kodlayan bir diğer önemli gendir. Bu gen, DNA hasarını tanıyıp keserek, DNA'nın doğru şekilde onarılmasına olanak sağlar (4).

NER mekanizmasındaki bozukluklar, kanser gelişimi ve tedaviye dirençle ilişkilendirilen bir durumdur. Özellikle ERCC2 ve ERCC5 genlerindeki mutasyonlar, hücrel DNA onarım kapasitesini bozarak, kanser hücrelerinde daha fazla hasar birikmesine ve genomik instabiliteye yol açar. ERCC2 genindeki mutasyonlar, genellikle UV ışınlarına ve kemoterapi ilaçlarına karşı hücrel yanıtı zayıflatarak, kanser hücrelerinin hayatta kalmasına yardımcı olabilir (5). Benzer şekilde, ERCC5 genindeki mutasyonlar da NER yolağının etkinliğini bozar ve bu durum, hücrelerin DNA hasarlarına karşı daha duyarlı hale gelmesine neden olabilir.

Prostat kanserinde, DNA hasar onarım mekanizmalarındaki bozukluklar genellikle kanserin başlangıcında belirgin hale gelir. ERCC2 ve ERCC5 genlerinde yaşanan ekspresyon artışı veya düşüşü, prostat kanseri gibi malign hastalıkların seyrinde önemli etkiler yaratabilir. ERCC2 ve ERCC5 genlerinde meydana gelen değişikliklerin, kanserin erken tanısında ve tedavi süreçlerinde biyomarker olarak kullanılma potansiyeli, bu konuda yapılan araştırmaların önemini artırmaktadır (6).

DNA hasarlarına karşı yanıt mekanizmalarını anlamak, prostat kanseri gibi hastalık süreçlerinin izlenmesi ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada prostat kanser hastalarında, ERCC2 ve ERCC5 genlerindeki ifade düzeylerini ve dolayısıyla NER mekanizmasının hastalık açısından önemini araştıracağız. Tümör ve normal dokularda bu genlerin ifade düzeylerini belirleyip, gen ekspresyonundaki değişiklikleri karşılaştıracak ve elde edilen verileri hastaların klinik verileri ile ilişkilendireceğiz. Bulgularımızın, NER mekanizmasındaki genetik değişikliklerin prostat

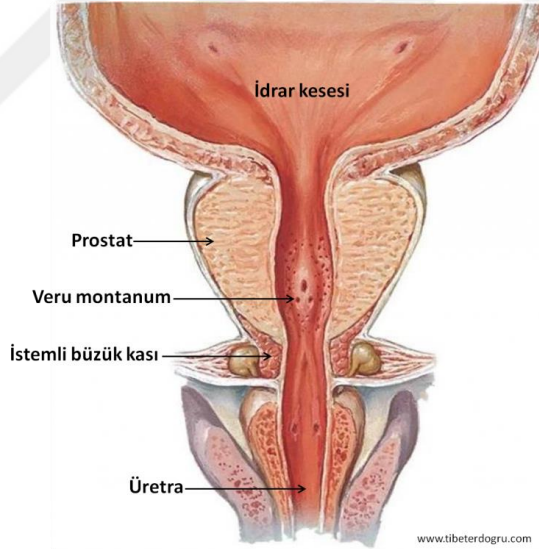
kanseri gelişimine olan etkisini ve bu değişikliklerin hastaların klinik durumlarına yansımalarını aydınlatarak, bu alandaki klinik çalışmalara katkı sağlamasını umuyoruz.



2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1 PROSTAT ANATOMİSİ

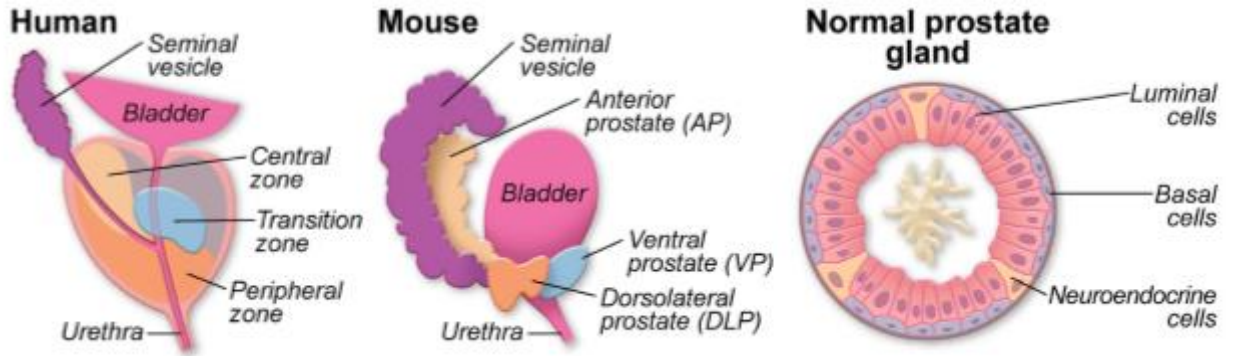
Erkeklerde yardımcı bir üreme organı olan prostat, mesanenin altında yer alır. Başlıca görevi, semen için gerekli salgıları tamamlamak ve spermi canlı tutmaktır. Yetişkin insan prostatı santral, transizyonel ve periferik bölgelere ayrılır. Prostat, embriyolojik olarak ürogenital sinüsten türemiş, erkek cinsiyetine ait glandüler bir yapıdır. Glandüler doku, verumontanumun her iki yanında birleşen ve açılan epitel hücreleriyle kaplı kanallardan oluşan çoklu salgı ünitelerinden oluşur. Başlıca işlevleri semeni boşaltmak için güç sağlamak ve ejakülasyon sonrası spermi canlı tutmak ve doğurganlığı artırmak için semene besin açısından zengin alkalın sıvı eklemektir. Prostat, kanserojenlere oldukça hassastır ve sonuç olarak ürogenital sistemdeki diğer yapılara göre daha yüksek oranda kanser gelişebilir (1).



Şekil 2.1.1: Prostat yapısı

Prostat bezinin gelişimi, embriyogenez sırasında endodermal kökenli bir hindgut türevi (kalınbağırsak) olan ürogenital sinüsten epitelyal tomurcuklanma yoluyla gerçekleşir. Orta gebelik döneminde, ilkel ürogenital sinüs, kloakanın ürorektal septum aracılığıyla arka bağırsağın terminal kısmından ayrılır. Ürogenital sinüsün en rostral (baş) kısmı idrar kesesini oluştururken, en kaudal (kuyruk) kısmı ise penil üretrayı oluşturur. Prostat bezi, pelvik bölge olarak bilinen ara bölgeden gelişir. Farelerde prostatik tomurcuklar ilk olarak ürogenital sinüsün rostral ucunda, gebeliğin sonlarına doğru, yaklaşık 17,5 günlük gestasyon döneminde

ortaya çıkar. Bu prostatik epitel tomurcukları, doğum sonrası gelişimin ilk üç haftası boyunca geniş çaplı duktal büyüme ve çevreleyen mezenkime dalma sürecine girer. Özellikle, duktal morfogenez androjene bağlı olmakla birlikte, erken postnatal dönemde dolaşımdaki androjen seviyelerinin düşük olduğu gözlemlenir. İnsanlarda süreç benzer şekilde işler, ancak duktal morfogenez çoğunlukla ergenlik döneminde androjen seviyelerinin yüksek olduğu bir dönemde meydana gelir, bu nedenle prostatın olgunlaşma süreci önemli ölçüde farklılık gösterir (7).



Şekil 2.1.2: Normal ve neoplastik prostat

2.2 PROSTAT HİPERPLAZİSİ

İyi huylu prostat büyümesi (BPH), yaşamın ilerleyen dönemlerinde erkeklerin neredeyse yarısını etkileyen önemli ve yaygın bir sağlık sorunudur. Yaşamın dördüncü on yılındaki erkeklerin yaklaşık %8'inde, dokuzuncu on yılındaki erkeklerin ise %90'ına görülen bir durumdur. Bu durum ağırlıklı olarak yaşlı erkekleri etkiler. 50 yaş üstü erkeklerin yaklaşık %75'i, BPH ile ilgili semptomlardan şikayetçidir. Ayrıca, 80 yaşına ulaşan erkeklerin %20-30'u BPH tedavisi için cerrahi müdahaleye ihtiyaç duymaktadır.

BPH, öncelikle periüretral bölgede ve prostatın genişlediği ve üretraya baskı yapmaya başladığı geçiş bölgesinde bulunan hiperplastik nodüllerin ortaya çıkması ile karakterize edilir. Bu durum, alt idrar yolu semptomları (LUTS) adı verilen bir dizi semptomlara yol açar (8). LUTS irritatif, obstrüktif veya karışık nitelikli olabilir. Bu semptomlar genellikle sık ve aciliyet gerektiren zayıf idrar akımı, mesanenin tam olarak boşaltılamaması gibi obstrüktif semptomlardır (9). Genetik ve kalıtsal faktörler çok çeşitli hastalık süreçlerini etkiler ve bunların BPH'deki rolleri incelenmiştir. BPH gelişimi için kalıtsal etki sorgulandığında,

dizigotik ikizlerle karşılaştırıldığında monozigotik ikizlerde hastalığın ortaya çıkma durumu 3.3'lük bir artış göstermektedir. BPH hastalığının erken başlangıcı olan kardeşlerde artan insidans riskide gösterilmiştir (10).

2.3 PROSTAT KANSERİ

Prostat kanseri, erkeklerde artan ölüm oranlarına önemli ölçüde katkıda bulunan ve dünya genelinde yaygın olarak görülen bir hastalıktır. Prostat kanseri tanısı, prostat biyopsisi ve analizi, prostat spesifik antijen (PSA) testi, dijital rektal muayene, manyetik rezonans görüntüleme (MRI) veya sağlık taramaları gibi çeşitli yöntemlerle konulmaktadır. Prostat kanseri ile ilişkili risk faktörleri arasında aile öyküsü, etnik köken, yaş, obezite ve diğer çevresel etkenler yer almaktadır. Prostat kanseri, hem epidemiyolojik hem de genetik açıdan heterojen bir hastalıktır. Genetik, çevresel ve sosyal faktörler arasındaki etkileşim, ırka özgü prostat kanseri sağkalım oranlarındaki farklılıkları açıklamaktadır. Bu durum, farklı ülkelerde prostat kanseri epidemiyolojisinde gözlemlenen çeşitliliğe yol açmaktadır (11).

Genel olarak, gen mutasyonları kanserin yaygın sebeplerinden biridir. Prostat kanseri yatkınlığı ile ilişkili aday genler, androjen yolunda ve testosteron metabolizmasında rol oynayan genlerdir. Prostat kanseri hücrelerinin gelişimi, büyük ölçüde androjen reseptör sinyal yolundaki ve testosteron metabolizmasındaki değişikliklerle ilişkilidir.

2.3.1 Prostat Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etyolojisi

Prostat kanseri, tüm kanserler arasında en geniş ırksal farklılık görülen kanser türüdür. Bu eşitsizlikler kanser sürecinin her aşamasında ortaya çıkmaktadır. Hastalığın görülme sıklığı ve hayatta kalma evre, yaş, tanı yılı ve ırk/etnik kökene göre sınıflandırılmıştır.

GLOBOCAN, 2022 yılında dünya çapında yaklaşık 396,792 (%4.1) ölümlerle sonuçlanan yaklaşık 1,466,680 yeni prostat kanseri vakası bildirmiş olup, bu oranlar gelişmiş ülkelerde daha yüksektir. Dünya genelinde prostat kanseri görülme sıklığı çeşitli coğrafi bölgeler ve etnik gruplar arasında farklılık göstermektedir. Dünyada prostat kanseri en fazla siyah erkeklerde görülür. Prostat kanserinin siyah Amerikalılarda görülme oranları beyaz erkeklere göre yaklaşık %60 daha yüksektir. Prostat kanseri farkındalığının yüksek olduğu ve prostat spesifik antijen (PSA) testinin yaygın bir tarama uygulaması olduğu gelişmiş ülkelerde, prostat kanseri görülme oranları en yüksek olarak kaydedilmiştir.

Prostat kanserinin nedeni halen tam olarak bilinmemekle birlikte, klinik ve deneysel gözlemler hormonal, genetik ve çevresel faktörlerin tümünün kanser gelişiminde rol oynadığını göstermektedir. Prostat kanseri etyolojisinde rol oynayan başlıca faktörler şunlardır:

Yaş: Prostat kanseri, yaşın en önemli risk faktörlerinden biri olduğu ve kanser gelişimi için belirleyici bir etmen olarak kabul edildiği bir hastalıktır. Ailede prostat kanseri öyküsü bulunan bireylerde, kanserin erken yaşta başlaması ve akrabalık derecesinin yakınlığı, hastalığa yakalanma riskini artırmaktadır. Prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) olarak bilinen pre-neoplastik lezyonlar, genç yaşlarda görülebilse de, 50 yaşındaki erkeklerde daha yaygın olarak görülmekte ve 60-70 yaş arasındaki bireylerde bu oran çok daha yüksek olmaktadır (12). Ülkemizde prostat kanserinin görülme sıklığı, 50'li yaşlardaki bireylerde %8,3 iken, 80 yaş ve üzerindeki bireylerde bu oran %33,3'e kadar çıkmaktadır. Yaşlı erkeklerde, prekanseröz lezyonların ortaya çıkışı, prostat kanseri insidansından önemli ölçüde daha yaygındır. Bu durum, kanserle ilişkili morfolojik değişikliklerin yaşamın erken dönemlerinde başlayıp, yaşlanmanın etkisiyle invaziv karsinom gelişiminin daha sık gözlemlendiğini göstermektedir (13).

Çevresel Faktörler: Diğer epitelyal kanserlerde olduğu gibi, prostat kanserinin gelişiminde diyet ve çevresel faktörlerin önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Kültürel farklılıklar, beslenme alışkanlıklarındaki değişiklikler ve çevresel etkenler, prostat kanserinin görülme sıklığını ülkeler arasında farklılaştırmaktadır (14).

Ailesel Kalıtım: Prostat kanserinin küçük bir kısmı (%10) ailesel faktörlerle ilişkilidir ve bu genellikle erken evre hastalıklarla bağlantılıdır (15). Kanser oluşumunda rol oynayan spesifik genler henüz tam olarak tanımlanmamış olsa da, ailesel yatkınlık gösteren bireylerde yapılan çalışmalar, X kromozomu ve 1q kromozom bölgesindeki iki lokusun varlığını ortaya koymuştur (16). Ayrıca birçok çalışmada, meme ve prostat kanseri arasında istatistiksel bir ilişki olduğu bildirilmiş, ancak bu bağlantının moleküler temeli henüz netlik kazanamamıştır (17,18).

Steroid Hormonlarının Rolü: Prostat kanseri gelişiminde steroid hormon reseptörlerinin önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir. Özellikle androjen seviyelerinin östrojenlere göre erkeklerde yaşla birlikte belirgin şekilde azaldığı ve androjenlerin prostat kanserinin başlangıcında önemli bir etken olduğu bildirilmiştir (19). Prostat bezindeki steroid

bağlayıcı protein, androjenlerin etkisiyle artmaktadır. Dihidrotestosteron (DHT), prostatın farklılaşması, gelişimi ve salgı fonksiyonları için gereklidir. Testosteron türeği olan DHT, 5 alfa-redüktaz (5 α R) enzimi ile üretilir ve prostatın mezenkimal hücrelerinde keratinosit ve fibroblast büyüme faktörlerinin salgılanmasına yol açar. Bu büyüme faktörleri, prostat bezinde hipertrofi ve hiperplaziye neden olur (20).

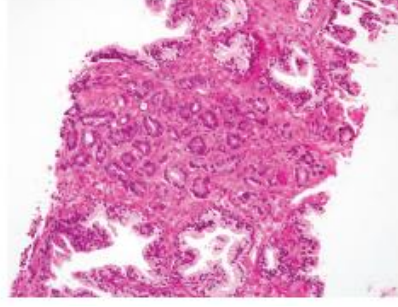
2.3.2 Klinik Bulgular

Prostat kanseri genellikle hastalığın ileri aşamalarına kadar belirgin semptomlara yol açmaz. Başlangıçta, idrar yapma sıklığındaki artış ve idrar yaparken güçlük gibi yerel semptomlar, BPH ile benzerlik gösterebilir. Prostat kanserinin ilk belirtileri genellikle metastazla ilişkilidir. Pelvik bölgedeki yerel lenf düğümleri ve kemikler, prostat kanserinin en sık metastaz yaptığı bölgelerdir; ancak sadece kemik tutulumları, sürekli olarak önemli semptomlara yol açmaktadır. Bu nedenle hastalar, sırasıyla omurga, kaburgalar, pelvis, femur ve omuzlardaki karsinom nedeniyle bel, göğüs, sırt üstü, kalça, bacak ve omuz ağrılarıyla başvurabilirler. Nadiren, kemiklerdeki metastatik yayılmalar patolojik kırıklara yol açabilir. Nörolojik semptomlar, metastatik hastalığı olan bireylerde sık görülse de, bu semptomlar genellikle nadirdir. Metastatik prostat kanseri ile ilişkili hematolojik anormallikler ise nadiren ortaya çıkar ve bunlar anemi ile yaygın intravasküler koagülopatiyi içerir (21).

Prostat spesifik antijen (PSA), prostat bezi tarafından üretilen bir protein olup, kanda ölçülebilir. Prostat kanserinin teşhisinde önemli bir biyobelirteç olarak kullanılır (22). PSA seviyesinin 4 ng/mL'nin üzerinde olması hastanın daha ileri testlere ihtiyacı olduğunu gösterir. 4 ng/mL ile 10 ng/mL arasında PSA seviyesine sahip hastaların prostat kanseri olma ihtimali yaklaşık dörtte birdir. PSA 10 ng/mL'nin üzerindeyse prostat kanseri olma olasılığı %50'nin üzerindedir (23,24).

2.3.3 Prostat Kanserinin Histopatolojisi ve Heterojenitesi

Prostat kanser tanısı koymak için adenokarsinomun doku tanısı gereklidir. Hematoksilin ve eozin (H&E) boyalı doku kesitlerinin ışık mikroskobunda inceleyerek doku tanısı koyulur. Doku kesitlerinde immünohistokimya ile tespit edilen belirteçler, prostat bezinde primer veya metastatik olan adenokarsinom tanısını destekleyebilir. Prostat karsinomunun histolojik varyantları, kanserin tanısal olarak tanınması veya prognostik ve/veya terapötik öneme sahip klinikopatolojik oluşumlar açısından önemlidir.



Şekil 2.3.3.1: Prostat adenokarsinoması

Prostat kanseri, klinik, morfolojik ve moleküler açıdan oldukça heterojen bir hastalıktır. Genellikle multifokal özellik gösteren prostat kanserlerinde, tümörler topografik ve morfolojik olarak farklı odaklara sahip olabilir. Bu durum, tek bir hastada genomik ve fenotipik olarak farklı birden fazla primer prostat kanserinin bulunabileceğini göstermektedir. Ölümcül metastatik prostat kanseri, primer tümördeki tek bir klondan kaynaklanıyor gibi görünse de, genomik, epigenetik ve fenotipik düzeylerde subklonal heterojenite sergileyebilir. Kanser hücreleri, proliferasyon hızları, metastatik potansiyelleri ve tedaviye karşı direnç gibi birçok özellik açısından farklılık gösterebilir.

Prostat kanserinin heterojenliğini anlamak, gizli ve klinik hastalık arasındaki farkı ve hastalığın ilerlemesi ile yaşlanma arasındaki güçlü ilişkiyi açıklığa kavuşturmak için önemlidir. Lokalize prostat kanseri, genellikle aynı hasta içinde morfolojik heterojenite gösterir. Prostat organı içinde birden fazla tümör odağı gelişebilir (intertümöral heterojenite) ve bu odaklar, çeşitli derecelerde metastatik yayılım ve tedaviye direnç gösteren genetik farklılıklara sahip olabilir. Bu bağlamda, bir hastanın klinik seyrinde büyük ölçüde etkili olan "dominant kanser lezyonu" kavramı, lokalize prostat kanserinde gözlemlenen genomik heterojenite ile çelişmektedir. Bu çelişkinin nedeni, farklı atasal hücrelerden gelişen kanser odakları ya da tek bir klondan türeyen ve farklılaşarak birden fazla klon oluşturan kanser odaklarının birleşmesi olabilir. Prostat epitel hücrelerinin farklılaşma ve proliferasyonu, androjen reseptörünün (AR) aktivitesine bağlıdır. Androjen yoksunluğu tedavisinde, prostat kanseri, AR aktivitesine olan bağımlılığından faydalanarak tedaviye yanıt verebilir (25).

2.3.4 Kanserin Prognozu

Prostat kanseri, ölüm oranları ve hastalığın seyrinde büyük değişkenlik gösteren son derece heterojen ve kompleks bir kanser türüdür. Prostat kanseri tanısı konulan erkeklerin

yaklaşık %80'inde hastalık, prostatla sınırlı lokalize prostat kanseri olarak teşhis edilmektedir. Erken evrede tespit edilen lokalize prostat kanseri olan erkeklerde yaşam beklentisi 10 yıldan fazla olabilmektedir. İyi seyirli olmayan prostat kanseri için tedavi planlaması, yaşam süresinin uzatılabilmesi açısından kritik önem taşır. Ancak bazı hastalarda, ayrıntılı tedavi planlarına rağmen nükseden prostat kanserleri agresif seyredebilir ve standart tedavi yöntemlerine yanıt vermeyebilir. Prostat kanseri tanısı almış erkeklerin yaklaşık %5'inde uzak metastaz (çoğunlukla birden fazla bölgede) ve %15'inde lokorejyonel metastaz görülebilir. Geç evre prostat kanseri (uzak metastaz) tanısı konulan hastaların beş yıllık sağkalım oranı sadece %30 civarındadır. Metastatik prostat kanseri, yılda 400.000'den fazla ölüme yol açmakta ve bu ölüm oranının 2040 yılına kadar iki katına çıkması beklenmektedir. Metastaz yapmış prostat kanseri hücreleri, ikincil bir bölgedeki tümör mikroçevresinde uzun süre hareketsiz kalabilir. Prostat kanseri metastazı, öncelikle lokorejyonel lenf nodlarına ve aksiyel iskeletteki kemik iliği stromasına hematojen yol ile yayılmaktadır. Uzak metastatik lezyonların %80'inden fazlası kemik dokusunda yer almaktadır. Daha nadir vakalarda, prostat kanseri metastazı uzak viseral bölgelere de yayılabilir. Metastatik prostat kanseri hastalarının neredeyse tamamında, androjen deprivasyon tedavisine (ADT) dirençli olan kastrasyona dirençli prostat kanseri (CRPC) gelişmektedir. Bu özellikler, prostat kanseri morbiditesinin ve mortalitesinin başlıca sebepleridir. Metastatik CRPC (mCRPC) evresine ulaşan hastalar, genellikle tedaviye ve kastrasyona dirençli olarak kabul edilen son evre hastalık olan tedaviye dirençli prostat kanseri (tCRPC) aşamasına gelir (26).

2.3.5 Tanı ve Tedavi

Tanı: Prostat kanserinin erken teşhisi, tedavilerin etkili olması için önemlidir ancak erken teşhis için güvenilir ideal testler henüz tam olarak mevcut değildir. Özellikle PSA düzeyi en geçerli erken tanı kan testi olmasına rağmen, bu test bazı kanser vakalarının gözden kaçmasına da yol açabilmektedir. PSA testinin yanı sıra, toplam PSA, serbest PSA ve proPSA sonuçlarını birleştiren “phi” testi ve bazı tümör belirteçlerini kullanan testler de kullanılmaktadır.

4Kscore testi, prostat tümör tespiti ile ilgili yaş, rektal muayene gibi diğer faktörlere ek olarak total PSA, serbest PSA, intakt PSA ve insan kallikrein 2 (hK2) sonuçlarını birleştirir. İdrardaki prostat kanser antijeni 3 (PCA3) seviyesi dijital rektal muayeneden (DRE) sonra değerlendirilir, çünkü DRE idrarda değerlendirilebilecek bazı prostat hücrelerini

serbest bırakır. Daha fazla serbest prostat hücresi, prostat kanserinin mevcut olma olasılığını gösterebilir. Diğer testler, DRE'den sonra idrardan toplanan hücrelerde anormal gen değişikliklerini (TMPRSS2:ERG) inceler. Bu gen ifadesi prostat kanseri olmayan erkeklerde yoktur. ConfirmMDx, prostat kanseri biyopsilerinden elde edilen hücrelerdeki belirli genler için yapılan bir testtir. Bu testler prostat kanserini daha iyi göstermek için kullanılabilir ancak daha güvenilir non-invaziv testler için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (27).

Biyopsi için seçilecek alanlardan görüntü elde etmek için transrektal ultrason (TRUS) kullanılmaktadır. Ancak TRUS, prostat kanserinden etkilenen tüm alanları güvenilir bir şekilde tespit edemeyebilir (28). Renkli Doppler ultrason, prostat bezi içindeki kan akışını ölçerek prostat kanserini tespit etmek için geliştirilmiş bir teknolojidir ve biyopsiler için seçilecek alanları daha doğru bir şekilde gösterebilir. Bu teknoloji, ultrason görüntülerini iyileştirmek için kullanılacak bir kontrast madde kullanılarak daha da geliştirilmiştir. Bu teknolojilerin kombinasyonları, TRUS kılavuzluğunda biyopsiler ile MRG'nin bir kombinasyonunu içeren gelişmiş tespit için kullanılabilir.

Gleason skoru, prostat kanserini belirlemek için kullanılan bir derecelendirme sistemidir. Kanser hücrelerinin mikroskopik görüntülerinde normal yapısal değişikliklerden farklı olan kanser hücrelerine 1 ile 5 (1: normale en yakın, en iyi; 5: alışılmadık derecede farklı, en kötü) arasında bir puan verilerek değerlendirilir. Gleason skoru toplam bir ölçüm olduğu için 2 ile 10 arasında bir puan alır. Sonuç olarak toplam bir "Gleason skoru" oluşturur. Gleason skoru arttıkça kanserin çoğalması, ilerlemesi ve yayılması (agresiflik) artar.

PIRADS (Prostate Imaging Reporting and Data System), prostat kanserinin erken teşhisinde kullanılan bir görüntüleme sistemidir. Bu sistem, manyetik rezonans görüntüleme (MRG) tekniğini kullanarak prostatta kanser olasılığını değerlendirmek için yapılan incelemelerdeki bulguları sınıflandırmak amacıyla geliştirilmiştir. PIRADS, prostat kanserinin risk seviyelerini 1 ile 5 arasında bir skala kullanarak değerlendirir. PIRADS, prostat kanserini daha doğru ve erken bir şekilde tespit etmek amacıyla genellikle biyopsi gibi ek testlerin gerekip gerekmediğini belirlemede kullanılır. Bu sistem, prostat MRG'lerinde lezyonların yerini, boyutunu ve özelliklerini değerlendirerek klinik kararların alınmasına katkıda bulunur. PIRADS 4 ve 5 olan lezyonlar, genellikle prostat kanseri riski taşıdığı için biyopsi yapılması önerilir. PIRADS 1, 2 ve 3 lezyonlar ise genellikle biyopsiye gerek kalmadan izlenebilir.

Prostat kanseri tanısında rektal tuşe, genellikle kullanılan ilk ve temel fiziksel muayene yöntemlerinden biridir. Bu muayene sırasında, doktor parmağını hastanın rektumuna yerleştirerek prostat bezini elle kontrol eder. Rektal tuşe nodül, prostat bezinde tespit edilen bir sertleşme, kitle veya anormal doku büyümesi anlamına gelir ve bu durum prostat kanserinin belirtisi olabilir.

Tedavi: Prostat kanseri tedavisi, cerrahi müdahale (radikal prostatektomi, RP), radyoterapi (RT) ve hormonal tedavi (HT) gibi yaklaşımların tek başına ya da risk gruplarına göre bir arada kullanılmasını içermektedir. Ancak, prostat kanseri tedavisinin belirlenmesi hala tartışmalı bir konudur (29). Bunun başlıca sebepleri arasında; tedavi seçeneklerinin hastanın yaşam beklentisi ve genel sağlık durumuna göre değişkenlik göstermesi, uzmanlık alanlarındaki farklı görüşler, kılavuzların klinik uygulamalara entegrasyonundaki zorluklar ve literatürdeki klinik çalışmaların çoğunun retrospektif verilere dayanarak sınırlı kanıt sağlıyor olması yer almaktadır. Bu nedenlerle, prostat kanseri tedavisi için çeşitli tedavi seçenekleri mevcut olup, hekim ve hasta tercihinin göre benzer klinik durumlar için birbirinin yerine uygulanabilecek yöntemlerdir.

2.3.6 Prostat Kanserinin Genetiği

Prostat kanserinin gelişimi, hastalığın ilerlemesini sağlayan genomik değişikliklerin ortaya çıkmasına bağlıdır. Prostat kanserinin başlangıcını tetikleyen bir dizi genomik değişiklik tespit edilmiştir; bunlar arasında ERG (ETS ailesi transkripsiyon faktörü ERG), SPOP (BTB alanı içeren POZ tipi adaptör proteini), hücre büyümesini kontrol eden MYC proto-onkogeninin mutasyonları, Heliks-Loop-Heliks (bHLH) transkripsiyon faktörleri ve androjen reseptörü (AR) ile ilgili değişiklikler bulunmaktadır. Lokalize prostat kanseri ve metastatik prostat kanseri vakalarında en yaygın görülen genomik değişiklikler, E-26 transformasyon özgü (ETS) transkripsiyon faktörleri ailesinin üyeleri ile ilgilidir. Bu faktörlerden ERG ve TMPRSS2-ERG füzyonu, prostat kanserinde %40 ila %50 sıklıkla görülen en yaygın moleküler değişikliklerden biridir. Bunun dışında, primer prostat kanserinde en sık rastlanan gen delesyonları şunlardır: PTEN (%17), SPOP (%11), TP53 (%8) ve FOXA1 (%4).

SPOP, E3 ligaz adaptör proteini olup, lokalize ve metastatik prostat kanserlerinde sıkça mutasyona uğrar (yaklaşık %11). Bu gen, prostat kanserinin farklı bir moleküler alt sınıfı ile ilişkilendirilmiştir. PTEN kaybı ile birlikte mutant SPOP'un bulunduğu fare

modellerinde, SPOP eksikliğinin prostat tmrjenizisini tetikleyerek neoplastik lezyonların oluşmasına yol açtığı gösterilmiştir. Ayrıca, bu çalışmalar mutant SPOP'un fosfoinositid 3-kinaz (PI3K)/memeli rapamisin hedefi (mTOR) sinyal yolunu aktive ettiğini ve androjen reseptörü (AR) ile ilişkili transkripsiyon faktörleri ve ko-aktivatörleri içeren bir ağın yukarı düzenlenmesine neden olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgular, mutant SPOP'un prostat kanserinin patogenezinde kritik öneme sahip iki önemli biyolojik yolu etkili bir şekilde aktive ettiğini göstermektedir.

2.3.7 Kalıtsal Prostat Kanseri

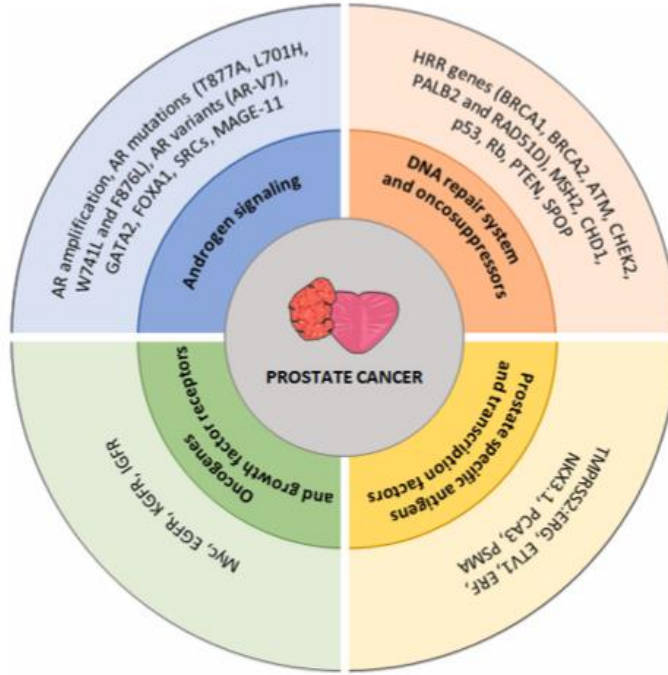
Prostat kanserinin oluşumunda, yaş, ırk, etnik köken ve çevresel faktörlerin yanı sıra, ailede prostat kanseri öyküsü, kalıtsal meme ve yumurtalık kanseri (HBOC) sendromu ile Lynch sendromu (LS) gibi genetik faktörler, en önemli risk etmenleri arasında yer almaktadır ve bu faktörlerin riski %40-%50 arasında bir oranda etkilemektedir. Kalıtsal prostat kanseri, sporadik vakalara kıyasla daha erken yaşlarda başlamakta, daha agresif bir hastalık seyri izlemekte ve genellikle bölgesel ileri evre bulgularla tanımlanmaktadır. Bununla birlikte, kalıtsal prostat kanseri bulunan erkeklerde, cerrahi müdahale sonrasında kanserin nüks etme riski daha yüksek olmasına rağmen, genel hayatta kalma oranları açısından kalıtsal prostat kanseri ile sporadik prostat kanseri arasında belirgin bir fark bulunmamaktadır (31).

Epidemiyolojik alışmalar prostat kanserine yatkınlık genlerinin kalıtımsal olduğunu göstermiştir. Vaka-kontrol, ikiz ve aile çalışmalarının analizleri, prostat kanseri riskinin kalıtsal faktörlerin bir sonucu olabileceği sonucunu göstermiştir. Araştırmalarda, kalıtsal prostat kanserinde spesifik gen mutasyonları gösterilmiş ve bu mutasyonlara sahip hastalarda hastalık riskinin arttığını bildirmiştir. Kalıtımın genetik değerlendirmesinde, prostat kanseri teşhisi konmuş erkeklerin yanı sıra kansere yakalanma riski yüksek olan erkeklerin çoklu gen dizilimini kullanmaktadır.

Ailesel prostat kanseri ile ilişkilendirilen yaklaşık 170 duyarlılık lokusu tanımlanmıştır. DNA hasar yanıtı (DDR) genleri (BRCA1, BRCA2, CHEK2, ATM ve PALB2) ve DNA onarım genleri (MMR) (MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2) zerindeki mutasyonlar, kalıtsal prostat kanserleri için potansiyel biyobelirteer olarak önerilmiştir. Birçok genin kalıtsal prostat kanseri riskiyle olan ilişkisi net bir şekilde ortaya konmuşken, daha zayıf ilişkiler gösteren genlerin klinik önemi henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (31).

2.3.8 Prostat Kanserinin Moleküler mekanizmaları

Prostat kanserinin histolojik değerlendirmesi, tümör evrelemesini belirlemek ve hastalığın prognozunu öngörmek açısından büyük önem taşımaktadır. Birçok gen mutasyonunun prostat kanserinin başlangıcı ve ilerlemesi ile ilişkili olduğu, ayrıca tümörün agresifliği ve tedaviye yanıtı hakkında önemli bilgiler sağladığı bilinmektedir. Bu gen mutasyonları, histopatolojik değerlendirmelere destek olabilir ve eksik kalan yönleri aydınlatabilir. Özellikle, bu mutasyonların androjen sinyalizasyonunu, DNA onarım mekanizmalarını, proto-onkogenleri, tümör baskılayıcı genleri, prostata özgü antijenleri ve transkripsiyon faktörlerini etkileyerek prostat kanserinin patogenezi yönlendirdiği anlaşılmaktadır (32).



Şekil 2.3.8.1: Prostat kanseri ile ilgili sistemler ve bu sistemler ile ilişkili moleküller; DNA onarım sistem molekülleri ve tümör süpresör proteinler; prostat spesifik antijenler ve transkripsiyon faktörleri; onkogenler ve büyüme faktörü reseptörleri, androjen sinyalizasyon molekülleri.

Oksidatif hasar sonucu oluşan genetik modifikasyonlar, karsinogenezise neden olan en önemli faktörlerden biridir. Oksidatif stresin prostat karsinogenezinin başlama, gelişme ve ilerleme olarak tanımlanan 3 basamağın hepsinde etkili olduğu gösterilmiştir. Bu etki, başlangıç aşamasında reaktif oksijen türlerinin DNA hasarı oluşturması ile başlar, gelişme

aşamasında genomik dengesizliğe bağlı olarak anormal gen ifadelerine ve dolayısıyla sinyal iletiminin bozulmasına, ilerleme aşamasında ise DNA hasarının sürekli tetiklenmesi ile genomik kararsızlık kalıcı ve ilerleyici noktaya gelmesi ile kendini gösterir (33).

2.4 DNA TAMIR MEKANİZMALARI

DNA'nın nükleotid dizisindeki değişiklikler, mutasyon olarak adlandırılır. Mutasyonlar, DNA replikasyonu sırasında veya çevresel faktörlerden kaynaklanabilir. Replikasyon esnasında meydana gelen hatalar, mismatch DNA tamir sistemi tarafından tespit edilip düzeltilir. Mutasyonların hücre üzerindeki etkisi, bu değişikliklerin hangi DNA bölgesinde meydana geldiğine bağlıdır. Eğer mutasyon, bir genin kodlama bölgesinde oluşursa, bu durum hücreye olumsuz etki edebilir. Ancak, mutasyon kodlama yapmayan bölgelerde ise hücre üzerinde genellikle herhangi bir etkisi bulunmaz. DNA polimerazın kontrol mekanizması ve DNA tamir sistemi mutasyonların kalıcı hale gelmesini önleyen sistemlerdir. DNA hasarına karşı farklı onarım sistemleri mevcuttur.

Baz Eksizyon Onarımı (BER) sisteminde görevli olan DNA glikozilaz enzimi, hasarlı nükleotidin baz ile şeker arasındaki beta-N-glikozidik bağı kırarak hatalı bazı uzaklaştırır. Bu işlem sonrasında, çıkarılan baz bölgesinde AP (apürinik/apirimidik) bölgesi oluşur. Bu bölgedeki fosfodiester bağı, AP endonükleaz enzimi tarafından kesilir ve böylece DNA zincirinde bir boşluk (gap) meydana gelir. Ardından, boşluk DNA polimeraz tarafından karşısındaki sağlam zincir kalıp alınarak yeniden sentezlenir. Son olarak, eksik bağlar DNA ligaz enzimi tarafından tamamlanır. Daha büyük Hasarlı bölgeler ise nükleotid eksizyon onarımı (NER) tamir mekanizması ile onarılır.

Mismatch (uyumsuz) onarım sistemi ise DNA replikasyonu sırasında meydana gelen yanlış baz eşleşmelerini düzeltir. Bu tür hatalar, DNA polimerazın proofreading (kontrol) aktivitesi sayesinde fark edilir ve onarılır. Ancak bazı hatalar ve Indel (insertion/deletion) loop'ları, mismatch tamir mekanizmasıyla düzeltilir. Bu süreç, MutS proteinlerinin hatalı eşleşmeleri tespit etmesiyle başlar. MutS, DNA'ya bağlandıktan sonra MutL ile birlikte, DNA üzerinde bir loop oluşturur. MutH proteini, metil grubu taşımayan GATC dizilerine bağlanarak DNA zincirini keser. Helikaz ve endonükleaz enzimleri, hatalı eşleşen kısmı ve

loop'un sonundaki hasarlı bölgeyi kesip çıkarır. DNA polimeraz ve DNA ligaz ise tamir sürecini tamamlar.

Homolog olmayan uç birleşmesi (NHEJ) tamir mekanizmasında, çift zincir kırılmalarının tamirinde rol oynayan hataya meyilli bir tamir mekanizmasıdır. Kırık uçları, Ku protein heterodimerleri tarafından tespit edilip birleştirilir. Bu süreç, Ku proteinlerinin kırık uçlara bağlanmasıyla başlar. Ardından, XRCC4 ve DNA ligaz gibi yardımcı proteinler, uçların düzeltilmesini, yeni bazların eklenmesini ve ligasyonu (uç birleşmesi) sağlar. Bu onarımda, bazen bazı nükleotid dizileri kaybolur. NHEJ, hızlı bir tamir mekanizması olmasına rağmen, kırık uçlardan eksik kalan DNA dizileri onarılamaz ve bu da eksik bir nükleotid dizilimiyle sonuçlanır.

Homolog rekombinasyon (HR) tamir mekanizması, çift zincir kırıkları için daha hassas bir onarım sürecidir. Bu süreçte, kırık olan kromozomal bölge, sağlam homolog kromozomun DNA zincirini kalıp olarak kullanarak onarılır. HR, dış etmenler veya hücre bölünmesi sırasında oluşan çift zincir kırıklarının tamirinde de işlev görür. Kardeş kromatitler birbirine bağlı kalır ve kırık bölge, endonükleaz tarafından tespit edilip 5' uçlardan birkaç nükleotid kesilir. Daha sonra, kardeş kromatitteki uygun bölge ile DNA bağlanır ve eksik nükleotidler yeniden eklenir. Böylece, eksik nükleotid kaybı yaşanmadan onarım tamamlanır.

2.4.1 İnsanlarda NER Mekanizması

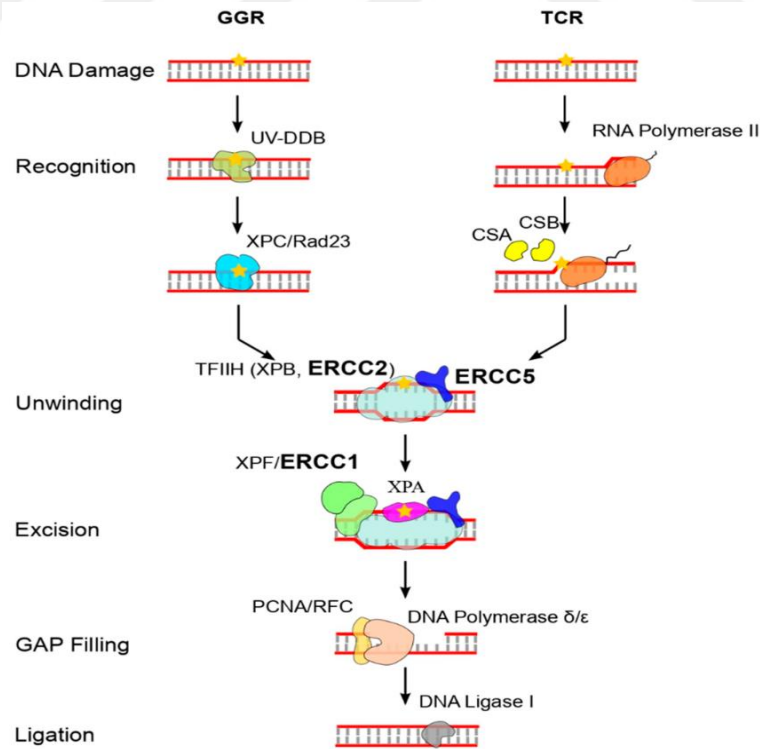
Nükleotid eksizyon onarımı (NER), evrimsel olarak korunmuş bir onarım mekanizmasıdır ve hemen hemen tüm ökaryotik ve prokaryotik hücrelerde bulunur. Bu sistem, ultraviyole ışığının etkisiyle DNA zincirlerine eklenen büyük kimyasal grupları ve DNA zincirleri arasındaki çapraz bağları onarmada görev alır. Özellikle, güneş ışığının yol açtığı siklobütül dimerleri gibi hasarları onarmada önemli rol oynar. Ökaryotik NER mekanizmasında, hasar gören bölgeyi içine alan 10-30 nükleotid uzunluğundaki DNA segmentinin endonükleazlar tarafından kesilmesi ve çıkarılmasıyla başlar. Ardından, bu çıkarılan bölge yeniden sentezlenir.

NER'in klinik önemi, bu onarım yolunda görevli NER proteinlerini kodlayan genlerdeki mutasyonların kalıtsal hastalıklara yol açmasından dolayıdır. Xeroderma pigmentosum ve Cockayne sendromu gibi hastalıklar, NER ile ilişkili genetik bozukluklardan kaynaklanmaktadır. NER sistemindeki bozukluklar, ayrıca hızlanmış yaşlanma, kısalmış

yaşam süresi, böbrek fonksiyon bozuklukları ve nörolojik problemler gibi sağlık sorunlarına yol açar.

1968 yılında, James Cleaver, Xeroderma pigmentosum (XP) hastalığı taşıyan bireylerde NER sisteminin düzgün çalışmadığını gözlemlemiştir. Bu hastalar, ultraviyole ışığından aşırı derecede hassastır ve normal bireylere göre 5.000 kat daha fazla cilt kanseri riski taşırlar. Genetik incelemeler sonucu, bu hastalarda XPA'dan XPG'ye kadar olan 7 genin mutasyonlarının bu hastalığın gelişimine yol açtığı belirlenmiştir. Bu genlerin, UV ışınının neden olduğu DNA hasarlarını onarmada rol oynadığı keşfedilmiştir.

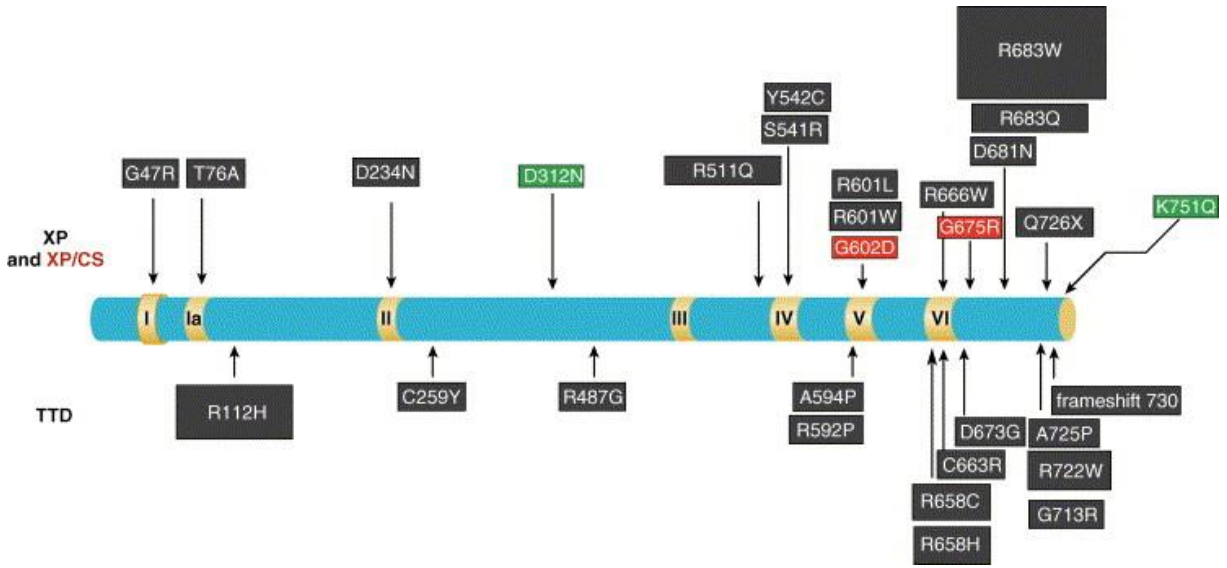
NER sisteminde, hasarlı DNA bölgesi, 5' uçtan 20-22 nükleotid uzaklıkta ve 3' uçtan 5 nükleotid mesafedeki bölgeden endonükleazlar tarafından kesilir. Bu işlem sonunda, yaklaşık 27-30 nükleotid uzunluğundaki hasarlı bölge uzaklaştırılır. Sonrasında, sağlam kardeş zincir kalıp olarak kullanılarak yeniden sentezleme yapılır. DNA hasarını tanıyan RPA, XPA, ve XPC gibi genler, bu onarım sürecini başlatır. Ardından, XPB ve XPD helikazları, DNA çift sarmalını açar. XPG ve XPF nükleazları, belirli uzunluktaki bölgelerden kesim yaparak hasarlı DNA'yı çıkarır. Çıkan 30 nükleotid uzunluğundaki bölüm, DNA polimeraz tarafından yeniden sentezlenir ve DNA ligaz ile orijinal DNA zincirine eklenir (Şekil 2.4.1.1).



Şekil 2.4.1.1: İnsanlarda bulunan NER sistemi

2.5 ERCC2 GENİ VE PROTEİNİ

ERCC2 geni 19q13.3 lokalizasyonundadır ve yaklaşık ~54.3 kb uzunluğunda olup 23 ekzondan oluşur; bu genin cDNA'sı yaklaşık 2,400 nükleotiddir. ERCC2 geninde meydana gelen mutasyonlar üç farklı hastalık fenotipini oluşturur; Xeroderma Pigmentosum (XP), trikotiyodistrofi (TTD) ve Cockayne sendromlu (CS) XP. Ayrıca çeşitli çalışmalarda XPD proteininin aktivitesini olumsuz yönde etkileyen ERCC2 genindeki birkaç polimorfizmde tanımlanmış ve bu polimorfizmlerin farklı hastalıklarla ilişkileri de gösterilmiştir. ERCC2 geninde görülen en yaygın polimorfizmler, kodon 751 ve kodon 312'dedir.



Şekil 2.5.1: XPD proteinindeki bazı mutasyonların yerleri gösterilmiştir. Üst tarafta, XP (siyah kutular) ve XP/CS'ye (kırmızı kutular) fenotipine yol açan değişiklikler, alt tarafta TTD fenotipine yol açan mutasyonlar gösterilmiştir. İki yaygın polimorfizmin konumları ise yeşil kutularla gösterilmiştir.

ERCC2 geni NER mekanizmasında rol oynayan ve TFIIH kompleksinin bir alt birimi olan helikaz aktivitesine sahip Xeroderma Pigmentosum Protein D (XPD) helikaz kodlar. XPD proteini, 86.9kDa moleküler ağırlığa sahip 761 amino asitlik bir helikaz proteindir. XPD, yüksek oranda korunmuş amino-asit dizilerinden oluşan yedi “helikaz motifleri” (walker motif I, Ia, II, III, IV, V ve VI) ile karakterize edilir. SF2 (süperaille 2) helikaz ailesinin bir üyesidir.

XPD, helikaz aktivitesi için önemli bir saha olan 4Fe4S kümesi (FeS) içeren ve DNA boyunca 5'-3' yönünde hareket eden bir helikazdır. Süper Aile 2 (SF2) helikaz ailesinin bir üyesidir. Ökaryotik XPD, NER için kritik öneme sahip olan genel transkripsiyon faktörü TFIH'nin subünitlerinden biridir. Diğer yandan XPD, transkripsiyon ve NER süreçlerinde farklı roller üstlenir. NER sırasında XPD'nin tam bir helikaz olarak işlev görürken, transkripsiyon sırasında yalnızca CAK kompleksi gibi ek faktörlerin konumlandırılmasına yardımcı olan bir yapı iskelesi olarak görev yapar (34).

2.6 ERCC5 GENİ VE PROTEİNİ

ERCC5 geni 13q32-33 lokalizasyonundadır ve yaklaşık ~92kb uzunluğunda olup 15 ekzondan oluşur; bu genin cDNA'sı yaklaşık 3827 nükleotiddir.

ERCC5, NER yolunun temel DNA onarım genlerinden biridir. Xeroderma pigmentosum grup G (XPG) proteinini kodlar. XPG proteini hasarlı DNA'yı 3' ucundan keser. XPG, FEN1 nükleaz ailesinin bir üyesidir. Aynı zamanda, DNA onarım süreçlerinde etkili olan ve p53 tarafından aktive edilen başlıca genlerden biridir. ERCC5'teki mutasyonlar, UV ışığına karşı aşırı hassasiyet ve UV'ye maruz kalma sonrasında cilt kanseri gelişimine yatkınlık gibi semptomlarla kendini gösteren XP veya ağır nörogelişimsel bozukluklardan biri olan CS'a yol açabilir.

XPG proteini, 133 kDa moleküler ağırlığa sahip 1186 amino asitlik bir proteindir. XPG proteini, 600 amino asitlik bir boşluk (spacer) bölge ile ayrılmış, fonksiyonel olarak aktif 2 bölgeye (N ve I) sahiptir. Bu aktif bölgeler içinde, Asp-77, Cys-794 ve Ala-792 gibi evonüsyonel olarak korunmuş bölgeler vardır. Spacer olarak adlandırılan 600 amino asitlik bölge, çok sayıda asidik amino asit içerdiğinden oldukça asidiktir ve molekülün helikal yapısının önemli bir parçasını oluşturur. Bu yapı, XPG'nin RPA (Replikasyon Protein A) ve TFIH ile bağlanmasına katkıda bulunur (35).

Spacer bölgesinin her iki yanında yer alan D1 ve D2 bölgeleri, genellikle ileri düzey ökaryotlarda korunmuştur. Birinci bölge (D1), N-domain ucunda bulunur ve yaklaşık 27 amino asit uzunluğundadır (184-210 kalıntıları). Bu bölge, TFIH ile etkileşim ve ubiquitin bağlanmasıyla ilişkilidir. İkinci bölge (D2) ise I-domain ucunda yer alır ve yaklaşık 100 amino asitten oluşur.

PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) bağlanma motifi, DNA metabolizmasında kritik bir işlev görür ve aynı zamanda potansiyel bir ilaç hedefi olarak dikkat çeker. PCNA, özellikle DNA polimerazların (Pol δ) boşluk doldurma için bölgeye gelmesinden sorumludur. XPG ile PCNA arasındaki bu etkileşim, PCNA ile Pol δ 'yı p21 gibi inhibitörlerden korur.

N-sahasının, spacer bölgesinin D1 ile TFIIH bağlantısına kadar uzanan NER yolunda oldukça kararlı bir reaksiyon alanı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, bu bölge RPA ile de etkileşim kurar. XPG'nin yapısı, C-terminus ucunda bulunan ve Nükleer Lokalizasyon Sinyalleri (NLS) içeren alanları da barındırır (36).



Şekil 2.6.1: XPG şematik yapısı

XPG'nin aynı zamanda BER mekanizmasında rolü oynayan hNth1 aktivitesini artıran bir kofaktör olarak görev yaptığı da bilinmektedir. Ayrıca araştırmalar, XPG'nin HRR yolunda, BRCA1, BRCA2, Rad51 ve PALB2 gibi moleküllerle kompleksler oluşturarak katalitik olmayan bir rol üstlendiğini ve bu moleküllerin işlevlerini etkilediğini göstermektedir. Bunun yanı sıra, XPG'nin Werner Sendromu fenotiplerinin ortaya çıkmasında etkili olan R-loop yapılarının oluşumundan sorumlu olduğu da rapor edilmiştir. Her ne kadar XPG, çeşitli DNA onarım yollarında yer alsada, esas görevi NER mekanizmasındaki nükleaz aktivitesidir.

3. YÖNTEM

3.1 ÇALIŞMA GRUBU

Bu çalışma kapsamında, 2023-2024 yılları arasında İstanbul Eğitim Araştırma Hastanesi Üroloji Ana Bilim Dalı'nda yeni prostat kanseri tanısı konmuş ve herhangi bir tedavi almamış 50 erkek hasta incelenmiştir. Tru-cut prostat biyopsileri yapılan ardışık erkek hastalardan, tümörlü ve normal dokular alınarak araştırmaya dahil edilmiştir.

Alınan dokuların patolojik incelemeleri İstanbul Eğitim Araştırma Hastanesi Patoloji Ana Bilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Hastalara ait patolojik veriler, bu birimden temin edilen patoloji raporlarının incelenmesiyle elde edilmiştir. Cerrahi operasyon sırasında normal ve tümörlü doku olarak değerlendirilerek alınan örneklerden, patolojik değerlendirme sonucunda farklı değerlendirme çıkan örnekler ve bu örneklere ait bireyler çalışmadan çıkarılmış, yedek örnekler dahil edilerek toplamda 50 örnekle çalışma tamamlanmıştır. Doku alımının ardından uygulanan tüm prosedürler, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Hücre Araştırma Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Rektörlüğü Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onay almıştır (No: 02; Tarih: 05/10/2023).

Bu araştırmada, prostat kanseri hastalarında, NER mekanizmasında rol oynayan ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade düzeyleri, tümörlü ve normal dokularda belirlenmiştir. Bu iki doku arasındaki gen ifade değişiklikleri incelenmiş, ayrıca elde edilen verilerin hastaların klinik bilgileri ile ilişkilendirilmiştir.

3.2 KULLANILAN CİHAZLAR

- Buzdolabı ve Derin Dondurucu (+4 °C ve -20 °C) (BOCH)
- Ultra Derin Dondurucu (-80 °C) (New Brunswick Scientific, Sanyo)
- Distile Su Cihazı (Millipore)
- Otoklav (Hirayama)
- Nanodrop Spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific)
- Santrifüj (Beckman Coulter)
- Soğutmalı Santrifüj (Hettich)
- Vorteks (Velp)
- Mikropipetler (Socorex ve Eppendorf)
- Hassas Terazı (CHYO)
- Termal Döngü Cihazı (ABI)
- Real-time PCR Cihazı, (ABI)
- Doku homojenizatörü (Bullet Blender, Next Advance)
- Çeker Ocak (Termal)
- Mikropipet seti (Socorex, Eppendorf, Discovery)

3.3 KULLANILAN MALZEMELER VE KİMYASAL MADDELER

3.3.1 Kullanılan Sarf Malzemeler:

- 13ml'lik falcon tüpler
- 1,5 ml'lik eppendorf tüpleri
- 10 µl, 200 µl ve 1000 µl mikropipet uçları
- 96'lık 0.2 µl PCR plateleri ve şeffaf kaplamaları
- 96-well Semi-Skirted qPCR Plates, 0.1mL,
- Pressure-sensitive qPCR Plate kapatıcı film

3.3.2 RNA Eldesinde Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

EXTRACT ME mRNA Kiti (Blirt, POLONYA)

- miRLys Tamponu
- miRW Tamponu
- miREB
- RNaz içermeyen su
- DNA izolasyon kolonları
- RNA izolasyon kolonları

3.3.3 cDNA Sentezinde Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

cDNA sentez Kiti (ABclonal, ABD)

- 5 x ABScript III RT Mix
 - ABCScript III Ters Transkriptaz Enzimi
 - RNase Engelleyici (20 U/ μ l)
 - Random Primer
 - Oligo dT Primer
 - Deoksinükleotid Karışımı (dNTP) (10 mM)
 - Reaksiyon tamponu(Containing Mg^{2+})
- Nuclease-free Su (H_2O)

3.3.4 Gerçek zamanlı PZR'da Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

Genious 2X SYBR Green Fast qPCR Mix Kit (ABclonal, ABD)

- Genious 2X SYBR Green Fast qPCR Tepkime Karışımı
 - Taq DNA polimeraz
 - dNTPs
 - Mg^{2+}
 - SYBR Green
- 50x ROX Referans (Dye I ve II)
- ddH₂O
- cDNA
- Forward Primer (Suarge Biyoteknoloji, TÜRKİYE)

- Reverse Primer (Suarge Biyoteknoloji, TÜRKİYE)

3.3.5 Gerçek Zamanlı PZR'da Kullanılan Primer Hedef Bilgileri

Gerçek zamanlı PZR'da kullanılan hedef ve kontrol genlerinin primer hedef bölgeleri Tablo 3-1'de gösterilmiş olup tasarlandıktan sonra ticari olarak sentezlenmiştir.

Tablo 3.3.5.1: Hedef ve kontrol genlerin primer hedef bölgeleri ve fragment uzunluğu

Gen Adı	RefSeq no. (qPCR hedef bölgesi)	Ekzon Bağlantısı	Fragment uzunluğu (bp)
ERCC2	NM_000400.4 (413-486)	6-6	74
	NM_001130867.2 (716-789)	5-5	
ERCC5	NM_000123.4 (1323-1392)	7-7	70
ACTB	NM_001101.5 (425-521)	3-4	97

3.4 DOKU HOMOJENİZASYONU

Tru-cut Biyopsi sırasında toplanan dokular patoloji onayı ile tümörlü ve normal dokular olarak RNA koruyucu (RNA Later) içeren steril ependorf tüp içine toplanmıştır. RNA koruyucu içinde +4°C buzdolabında 24 saat süreyle inkübe edilmiştir ve süre sonunda dokuya nüfuz etmeyen fazlalık RNA koruyucu sıvı ependorf tüpten tamamen uzaklaştırılmıştır. Dokular laboratuvar işlemlerine başlanana kadar -80°C'de saklanmıştır. Kullanım öncesinde, -80°C'den çıkarılan örnekler çözündürülmüş ve üzerine ticari olarak temin edilen lizis solüsyonu ile β -merkaptotanol ilave edilmiştir. Elde edilen doku-tampon karışımı, parçalama işlemi için seramik boncuklar içeren steril tüplere aktarılmıştır. Parçalama işlemi, soğutmalı bir homojenizatör cihazında maksimum hız ve soğutma modunda, 5 dakika boyunca gerçekleştirilmiştir.

3.5 GEN İFADE ANALİZLERİ

3.5.1. mRNA İzolasyonu

ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade seviyelerini belirlemek amacıyla, homojenize edilen tümör ve normal dokulardan RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu işlemde, ticari olarak temin edilen EXTRACT ME (Blirt, Polonya) kiti kullanılmıştır. İzolasyon süreci şu adımları içermektedir:

1. Homojenize edilen tümör ve normal doku örnekleri 60 saniye süreyle vortekslenmiştir.
2. Örnekler, 18.000 x g hızında 2 dakika süreyle santrifüj edilmiştir.
3. 400 µl üst faz “DNA Purification Column”a aktarılmış ve 2 dakika boyunca 18.000 x g’de santrifüj edilmiştir.
4. Elde edilen filtratlar steril 1.5 ml ependorf tüplerine aktarılmış, üzerlerine % 96-100 etanol (200 µl hacminde) eklenmiş ve 5 saniye vortekslenmiştir.
5. Karışım, “Large RNA Purification Column”a aktarılmış ve 18.000 x g hızında 2 dakika süreyle santrifüj edilmiştir.
6. Kolonlar, yıkama solüsyonu kullanılarak üç kez yıkanmış, ardından 1 dakika boyunca 18.000 x g’de santrifüj edilmiştir. Süpernatant uzaklaştırılmıştır.
7. Kolonlar, 3 dakika boyunca 18.000 x g’de santrifüj edilmiştir.
8. Kolona 50 µl miREB eklenmiş ve 25°C’de 2 dakika inkübe edilmiştir.
9. Kolon, 11.000 x g hızında 2 dakika süreyle santrifüj edilerek RNA içeren filtratlar tüpün dibinde toplanmıştır. Kolonlar uzaklaştırılmıştır.
10. Elde edilen RNA örnekleri, sonraki işlemler için -80°C’de muhafaza edilmiştir.

3.5.2 mRNA Saflığının Ölçülümü ve konsantrasyonu (Spektrofotometrik Analiz)

RNA izolasyon kiti ile elde edilen RNA örneklerinin miktarı ve saflık derecesi ThermoFisher Scientific NanoDrop spektrofotometresi ile ölçüldü. RNA örneklerinin 260nm/280nm dalga boylarında absorbans değerleri oranlarından saflık değerleri ~ 2 olan örnekler ile çalışmaya devam edildi.

3.5.3 cDNA Eldesi

Elde edilen RNA'ların cDNA'lara dönüştürülmesi işlemi için hazır ticari kitleler kullanıldı. ABclonal firmasının ABScript III RT Mix kiti kullanılarak cDNA sentezi gerçekleştirildi. mRNA zincir kalıpları, RT-PCR (ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu) tekniği ile ters transkriptaz enzimi kullanılarak cDNA'ya dönüştürüldü. RNA konsantrasyonu en düşük olan doku baz alınarak her bir dokudan farklı miktarlarda RNA kullanılarak, son RNA konsantrasyonları eşit olacak şekilde RNA konsantrasyonu hazırlandı.

Tablo 3.2'deki prosedüre uygun olarak, 96 kuyulu plakadaki (MicroAmp Fast Optical 96-well Plate) ilgili kuyucuların her birine 5x ABScript III RT Mix karışımından 4 µl eklendi. Daha sonra her bir kuyucuğa toplam hacim 20 µl olacak şekilde hesaplanan başlangıç RNA'na uygun RNA miktarı ve nükleaz içermeyen su eklendi.

ABScript III RT Mix kit'inin protokolüne uygun cDNA sentezi aşağıdaki aşamalara göre gerçekleştirildi. Tüm işlemler buz üzerinde gerçekleştirildi;

1. -20°C'de saklanan ABScript III RT Mix kit bileşenleri 25°C'de çözündürülmüş, birkaç kez pipetleme işlemi yapılmış ve ardından 96 kuyulu plakadaki her bir kuyucuya 4 µl olacak şekilde dağıtılmıştır.
2. 96 kuyulu plakanın her bir kuyusua maksimum volüm 16 µl olacak şekilde ve son konsantrasyonları 42 ng olacak şekilde RNA örnekleri kondu. 16 µl'den az konan kuyuların üzerine 16 µl'yi tamamlayacak şekilde nükleaz içermeyen su ilave edildi.
3. Plakanın yüzeyi, optik yapışkanlı bir film ile kaplanmış ve plaka santrifüj edilmiştir.
4. cDNA sentezi, protokolde belirtilen sıcaklık döngülerine (Tablo 3-3) uygun olarak, termal döngü cihazı (ABI) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.
5. Sentezlenen cDNA örnekleri kısa süreli muhafaza için -20°C'e kaldırıldı.

Tablo 3.5.3.1: cDNA sentezinde kullanılan karışım bileşenleri

Bileşenler	Miktar (µl)
5X ABScript III RT Mix	4 µl
Toplan RNA	42 ng
RNase Free Su	16 µl'e kadar
Son konsantrasyon	20 µl

Tablo 3.5.3.2: cDNA reaksiyon döngüleri

	1.adım	2.adım	3.adım
Sıcaklık(Derece)	55	85	4
Zaman(dk)	15	5	∞

3.5.4 Gerçek zamanlı polimeaz zincir reaksiyonu (Real-time PCR)

cDNA eldesinden sonra, qPCR yöntemi ile hedef genlere ait mRNA miktarlarındaki değişimler Real-time PCR ile değerlendirildi. Çalışmada, ERCC2 ve ERCC5 hedef genlerinin ifade seviyeleri, housekeeping geni olarak kullanılan aktin beta (ACTB) ile karşılaştırılarak belirlenmiştir. Kullanılan qPCR hedef bilgileri Tablo 3-1'de verilmiştir. Real-Time PCR çalışmaları, Applied Biosystems firmasına ait Abclonal (ABD) qPCR kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm işlemler buz üzerinde yürütülmüş ve reaksiyonlar 20 µl'lik toplam hacimde gerçekleştirilmiştir. qPCR analizinde, 96 kuyulu PCR plakasının her bir kuyucuğuna cDNA ve tepkime karışımı eklenmiştir. Reaksiyon karışımının detaylı içeriği Tablo 3-4'te sunulmuştur.

1. Çalışma öncesinde tüm reaktifler tamamen çözdürülmüş, vorteks ile iyice karıştırılmış ve kısa süreli santrifüj işlemi uygulanmıştır.
2. Tüm reaktifler, steril 1.5 ml tüplerde qPCR karışımını oluşturacak şekilde hazırlanmıştır. Her örnek cDNA'sı çift tekrarlı olarak çalışılmıştır.
3. Mikropipet kullanılarak, her bir kuyucuğa 2 µl cDNA eklenmiştir.
4. Hazırlanan karışım, her kuyucuğa 18 µl olacak şekilde dağılmış ve toplam hacim 20 µl olacak şekilde qPCR reaksiyon karışımı tamamlanmıştır.
5. Hazırlanan plakanın üzeri optik kapatici film ile kapatıldıktan sonra santrifüj edilmiştir.
6. Hazırlanan plaka, Tablo 3-5'Te belirtilen sıcaklık-zaman döngüsüne göre Real-Time PCR cihazına yerleştirilmiş ve işlem başlatılmıştır.

Tablo 3.5.4.1: qPCR reaksiyon karışımı içerikleri

BİLEŞENLER	HACİM (µL)
2X AMPLİFYME SYBR Mix	10 µL
İleri Primer	0.6 µL
Geri Primer	0.6 µL
50X ROX boyası	0.4 µL
Cdna	2 µL
dH ₂ O	6.4 µL
	Total 20 µL

Tablo 3.5.4.2: qPCR'ın sıcaklık döngüsü

Adım	Sıcaklık	Süre (sn)	Döngü
Aktivasyon ve denaturasyon	95	180	40
Denaturasyon	95	5	
Bağlanma/uzama	60	60	

3.5.5 Normalizasyon

ERCC2 ve ERCC5 hedef genlerinin ekspresyon seviyeleriyle Actin Beta (ACTB) housekeeping geninin ekspresyon seviyelerinin karşılaştırılması ile normalizasyon yapıldı.

3.5.6 Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Prostat kanseri ile normal prostat dokularındaki ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade değişikliklerini belirlemek amacıyla, mRNA seviyeleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi ile hesaplanmıştır. Bu hesaplamada, hedef genlere ve referans gene ait Ct (threshold cycle) değerlerinden yararlanılmıştır. Ct değerlerinden elde edilen $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerleri, aşağıda belirtilen formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$2^{-\Delta\Delta Ct} = 2^{-[\text{Tümör dokusu (Hedef gen Ct'si)-Referans gen Ct'si)] - [\text{Normal doku (Hedef gen Ct'si)-Referans gen Ct'si}]}$$

3.6 İSTATİKSEL ANALİZLER

Gen ekspresyon değerleri, Ortalama \pm Standart Hata (SE) formatında sunulurken, yaşıa ilişkin veriler Ortalama \pm Standart Sapma (SD) biçiminde raporlanmıştır. İki grup arasındaki istatistiksel karşılaştırmalar, Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir. Gen ekspresyon düzeyleri ile diğer parametreler arasındaki ilişkiler, Pearson korelasyon testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Tüm istatistiksel analizler, IBM SPSS Statistics yazılımı (IBM Corp., 2012, IBM SPSS Statistics for Windows, Sürüm 21.0, Armonk, NY, ABD) aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel analiz sonuçları, $p < 0,05$ olduğunda anlamlı kabul edilmiştir

4. BULGULAR

Çalışmamıza, prostat kanseri teşhisi konulmuş ve herhangi bir tedavi uygulanmamış 50 hasta dahil edilmiştir. Bu hastaların patolojik olarak teyit edilmiş tümör ve tümöre komşu olan normal dokularında (kontrol doku) ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifadeleri tespit edildi. Çalışmaya dahil edilen prostat kanserli hastaların klinik verileri hasta dosyalarından elde edildi.

4.1. PROSTAT KANSER HASTALARIN GEN İFADELERİ

Elli hastanın tümörlü ve normal dokularına ait ERCC2, ERCC5 ve ACTB (referans gen) genlerinin CT (Cycle Threshold) değerleri elde edildi. Tümör ve normal doku örneği için ayrı ayrı olmak üzere hedef gen CT değeri ile referans gen CT arasındaki hesaplanarak, her hastanın gen ifade eşik değeri olan ΔCT değeri elde edildi. Her hastaya ait ΔCT değeri kullanılarak $2^{-\Delta CT}$ gen ifadesi elde edildi. Tümör ve normal doku hedef genlerine ait ΔCT değerleri arasındaki fark hesaplanarak $\Delta\Delta CT$ değerleri hesaplandı. Her hastaya ait $\Delta\Delta CT$ değeri kullanılarak Schmittgen ve Livak'ın [58] 2008'de önerdiği denkleme göre, $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri her hasta için ayrı olarak hesaplandı.

Çalışmaya katılan hastaların tümör ve normal doku örneklerine ait ERCC2 ve ERCC5 genleri ile ilgili $2^{-\Delta CT}$ değerleri aşağıda yer alan Tablo 4.1.1'de gösterilmiştir. $2^{-\Delta CT}$ hesaplamasına göre ERCC2 geninin tümörlü dokudaki ifade düzeyleri ile normal dokudaki ifade düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0.12$). Diğer yandan ERCC5 geninin tümörlü dokudaki ifade düzeyleri normal dokudaki ifade düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış olarak tespit edilmiştir ($p=0.005$).

Tablo 4.1.1: Tümörlü ve normal doku örneklerinde ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade değerleri ($2^{-\Delta CT}$)

	Tümörlü doku	Normal doku	P*
ERCC2	1.14±0.48	0.82 ±0.21	0.12
ERCC5	6.26±2.18	3.40±1.33	0.005

Veriler Ortalama ±SE olarak verilmiştir

*Mann-Whitney U testi

ERCC2 için, gen ifade düzeylerinin kat değişme durumlarını değerlendirmek için $2^{-\Delta CT}$ değerlerini $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerlerine dönüştürdüğümüzde, tümörlü dokuda ERCC2 ifade düzeyinin normal doku örneklerine göre 2.25 kat oranında değiştiği görülmektedir (Tablo 4.1.2).

Tablo 4.1.2: Tümörlü ve normal doku örneklerinde ERCC2 ifade değeri

	ΔC_T (Ort)	$\Delta\Delta C_T$ (Ort)	$2^{-\Delta\Delta CT}$
Tümör Dokusu	3.18	-1.17	2.25
Normal Doku	4.35	1	1

ERCC5 için, gen ifade düzeylerinin kat değişme durumlarını değerlendirmek için $2^{-\Delta CT}$ değerlerini $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerlerine dönüştürdüğümüzde, tümörlü dokuda ERCC5 ifade düzeyinin normal doku örneklerine göre 5.94 kat oranında değiştiği görülmektedir (Tablo 4.1.3).

Tablo 4.1.3: Tümörlü ve normal doku örneklerinde ERCC5 ifade değeri

	ΔC_T (Ort)	$\Delta\Delta C_T$ (Ort)	$2^{-\Delta\Delta CT}$
Tümör Dokusu	1.36	-2.57	5.94
Normal Doku	3.93	1	1

Çalışmamızda tümör ve normal doku gruplarında ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade düzeyleri arasındaki ilişkiyi inceledik. İlişki ncelemesi, Pearson-korelasyon testine göre

yapıldı. Tümör ($r=0.09$, $p=0.55$) ve normal ($r=0.28$, $p=0.05$) grubunun, ERCC2 ve ERCC5 gen ifade düzeyleri arasındaki ilişki incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

4.2 PROSTAT KANSER HASTALARININ KLİNİK VERİLERİNE GÖRE GEN İFADE DÜZEYLERİ

Çalışma grubumuzu oluşturan 50 hastanın demografik ve klinik özelliklerinin dağılımları Tablo 4.2.1’de verilmiştir.

Tablo 4.2.1: Prostat kanser hastalarının demografik ve klinik verileri

Yaş (Yıl)	66.3±7.1		
PSA	14.6±14.3		
Sigara	İçmiyor(-)	39 Hasta	78%
	İçiyor(+)	11 Hasta	22%
Diyabet	Yok(-)	38 Hasta	76%
	Var(+)	12 Hasta	24%
Hipertansiyon	Yok(-)	29 Hasta	58%
	Var(+)	21 Hasta	42%
Nodül	Yok(-)	36 Hasta	72%
	Var(+)	14 Hasta	28%
Gleason Skoru	<7	29 Hasta	58%
	>7	21 Hasta	42%
PIRADS	3	14 Hasta	28%
	4	17 Hasta	34%
	5	19 Hasta	38%

Çalışma grubumuzu oluşturan hastaların tümör ve normal örneklerindeki gen ifade düzeyleri, sigara kullanımına göre incelenmiş ve istatistiksel sonuçlar Tablo 4.2.2’de verilmiştir. Sigara kullanımının, normal ve tümör dokularındaki ERCC2 ve ERCC5 gen ifade düzeylerine etkisinin olmadığı tespit edildi.

Tablo 4.2.2 : Tümör ve normal doku örneklerinde ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade değerlerinin sigara kullanımı ile ilişkisi

	Normal Doku		P	Tümör Dokusu		P*
	Sigara İçmiyor (n=39)	Sigara İçiyor (n=11)		Sigara İçmiyor (n=39)	Sigara İçiyor (n=11)	
ERCC2	0.99±0.27	0.23±0.13	0.21	1.32±0.61	0.50±0.27	0.29
ERCC5	4.38±1.74	0.48±0.36	0.64	6.77±2.64	4.41±3.25	0.13

Veriler Ortalama ±SE olarak verilmiştir

*Mann-Whitney U testi

Çalışma grubumuzu oluşturan hastaların tümör ve normal örneklerindeki gen ifade düzeyleri, diyabetin mevcudiyetine göre incelenmiş ve istatistiksel sonuçlar Tablo 4.2.3’da verilmiştir. Diyabetin mevcut veya mevcut olmama durumunun, normal ve tümör dokularındaki ERCC2 ve ERCC5 gen ifade düzeylerine etkisinin olmadığı tespit edildi

Tablo 4.2.3: Tümör ve normal doku örneklerinde ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade değerlerinin diyabet öyküsü ile ilişkisi

	Normal Doku		P	Tümör Dokusu		P*
	DM(-) (n=38)	DM(+) (n=12)		DM(-) (n=29)	DM(+) (n=21)	
ERCC2	0.81±0.25	0.86±0.44	0.68	1.29±0.64	0.70±0.9	0.96
ERCC5	3.20±1.31	4.06±3.91	0.67	6.97±2.86	4.20±1.78	0.73

Veriler ortalama ±SE olarak verilmiştir

*Mann-Whitney U testi

Çalışma grubumuzu oluşturan hastaların tümör ve normal örneklerindeki gen ifade düzeyleri, hipertansiyon mevcudiyetine göre incelenmiş ve istatistiksel sonuçlar Tablo 4.2.4'da verilmiştir. Hipertansiyonun mevcut veya mevcut olmama durumunun, normal ve tümör dokularındaki ERCC2 ve ERCC5 gen ifade düzeylerine etkisinin olmadığı tespit edildi.

Tablo 4.2.4: Tümör ve normal doku örneklerinde ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade değerlerinin hipertansiyon öyküsü ile ilişkisi

	Normal Doku		P	Tümör Dokusu		P*
	HT(-) (n=29)	HT(+) (n=21)		HT(-) (n=29)	HT(+) (n=21)	
ERCC2	0.94±0.31	0.66±0.28	0.26	1.65±0.83	0.46±0.15	0.96
ERCC5	4.10±1.80	2.28±1.94	0.29	7.16±3.33	5.07±2.55	0.25

Veriler ortalama ±SE olarak verilmiştir

*Mann-Whitney U testi

Çalışma grubumuzu oluşturan hastaların tümör ve normal örneklerindeki gen ifade düzeyleri, nodül mevcudiyetine göre incelenmiş ve istatistiksel sonuçlar Tablo 4.2.5'de verilmiştir. Nodülün mevcut veya mevcut olmama durumunun, normal ve tümör dokularındaki ERCC2 ve ERCC5 gen ifade düzeylerine etkisinin olmadığı tespit edildi.

Tablo 4.2.5: Tümör ve normal doku örneklerinde ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade değerlerinin nodül varlığı öyküsü ile ilişkisi

	Normal Doku		P	Tümör Dokusu		P
	Nodül (-) (n=36)	Nodül (+) (n=14)		Nodül (-) (n=29)	Nodül (+) (n=21)	
ERCC2	0.91±0.26	0.56±0.37	0.21	1.39±0.66	0.46±0.18	0.88
ERCC5	4.52±1.73	0.34±0.22	0.54	6.58±2.91	5.40±2.11	0.93

Veriler ortalama ±SE olarak verilmiştir

*Mann-Whitney U testi

Çalışma grubumuzu oluşturan hastaların tümör ve normal örneklerindeki gen ifade düzeylerini, Gleason skorlanmasına göre iki gruba ayrılarak (skor değeri 7'den küçük olan

hastalar ve skor değeri 7'den büyük olan hastalar) inceledik. İstatiksel sonuçlar Tablo 4.2.6'da verilmiştir. Gleason skorlamasına göre iki grup arasında, normal ve tümör dokularındaki ERCC2 ve ERCC5 gen ifade düzeylerinde herhangi bir farkın olmadığı tespit edildi.

Tablo 4.2.6: Tümör ve normal doku örneklerinde ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade değerlerinin gleason skoru değeri ile ilişkisi

	Normal Doku		P	Tümör Dokusu		P
	Gleason Skoru (<7) (n=29)	Gleason Skoru (>7) (n=21)		Gleason Skoru (<7) (n=29)	Gleason Skoru (>7) (n=21)	
ERCC2	0.89±0.30	0.73±0.30	0.37	1.51±0.83	0.65±0.19	0.87
ERCC5	4.12±1.86	2.35±1.84	0.65	7.41±3.68	4.74±1.46	0.60

Veriler ortalama ±SE olarak verilmiştir

*Mann-Whitney U testi

Çalışma grubumuzu oluşturan hastaların tümör ve normal örneklerindeki gen ifade düzeyleri, PIRADS skorlanmasına göre üç gruba ayrılarak (skor değeri 3 olanlar, skor değeri 4 olanlar ve skor değeri 5 olanlar) incelenmiş ve istatiksel sonuçlar Tablo 4.2.7'da verilmiştir. PIRADS skorlamasına göre üç grup arasında, normal ve tümör dokularındaki ERCC2 ve ERCC5 gen ifade düzeylerinde herhangi bir farkın olmadığı tespit edildi.

Tablo 4.2.7: Tümör ve normal doku örneklerinde ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade değerlerinin PIRADS skoru değeri ile ilişkisi

	Normal Doku			P	Tümör Dokusu			P
	PIRADS Skoru 3 (n=14)	PIRADS Skoru 4 (n=17)	PIRADS Skoru 5 (n=19)		PIRADS Skoru 3 (n=26)	PIRADS Skoru 4 (n=10)	PIRADS Skoru 5 (n=14)	
ERCC2	0.61±0.27	0.85±0.39	0.96±0.40	0.45* 0.45∞ 0.83 ^α	1.94±1.62	1.16±0.62	0.56±0.14	0.32* 0.33∞ 0.79 ^α
ERCC5	5.34±3.53	3.01±2.08	2.33±1.55	0.19* 0.61∞ 0.33 ^α	5.62±4.03	7.71±5.27	5.38±1.61	0.22* 0.11∞ 0.93 ^α

Veriler ortalama ±SE olarak verilmiştir

Mann-Whitney U testi: * : PIRADS Skoru 3; ∞ : PIRADS Skoru 4; α : PIRADS Skoru 5

Çalışma grubumuzu oluşturan 50 hastanın yaş ile normal ve tümör dokusundaki gen ifade düzeyleri arasındaki korelasyon incelenmiştir. Yaş ile ERCC2 ve ERCC5 gen ifade düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır (p>0.05).

Çalışma grubumuzu oluşturan hastalarının PSA düzeyi ile normal ve tümör tümör dokusundaki gen ifade düzeyleri arasındaki korelasyon incelendi. PSA ile ERCC2 ve ERCC5 gen ifade düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı (p>0.05).

5. TARTIŞMA

Kanser, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucu hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyüme ve yayılması ile karakterize edilen bir hastalıktır. Dünya çapında en yaygın erkek kanser türü olan prostat kanseri, erkeklerde en sık görülen malignitelerden biri olup, erken teşhis ve tedavi yöntemlerine rağmen yüksek mortalite oranları ile önemli bir sağlık sorunu oluşturmaktadır. Kanser gelişimi, genetik materyaldeki hasarların tamirinde rol oynayan mekanizmaların bozulması ile de ilişkili olabilir. DNA hasarlarının onarılmasında kritik bir rol oynayan NER yolağında yer alan ERCC2 ve ERCC5 molekülleri, DNA onarımı, genetik stabilite ve kanser gelişimi ile doğrudan bağlantılıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, bu genlerin ekspresyon düzeylerindeki değişimlerin kanser patogeneze etkileri üzerine odaklanmıştır. Çalışmamız, prostat kanser dokusunda ERCC2 ve ERCC5 gen ekspresyonlarının araştırarak, onların hastalık gelişimi ile ilişkisini ve potansiyel biyomarkerler olarak kullanılabilirliğini aydınlatmaya yönelik bir çalışmadır.

Çalışmamızda, ERCC2 gen ifadesi tümörlü ve normal dokularda benzer seviyelerde olsa da, tümörlü dokulardaki gen ifadesinin 2.25 kat arttığı tespit edilmiştir. Bu durum, ERCC2'nin prostat kanser patogenezinde potansiyel bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. ERCC2 proteininin DNA onarımındaki önemli rolü ve genetik stabiliteyi sağlama işlevi göz önüne alındığında, prostat kanser hücrelerinin daha fazla olması beklenen DNA hasarını onarmak için, bu genin aktivitesini artırmış olabileceğini muhtemeldir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmaması, ERCC2'nin prostat kanserindeki rolü konusunda daha fazla araştırma yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Prostat kanserinde ERCC2 geninin ekspresyonu üzerine yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. ERCC2 polimorfizminin prostat kanser riski ile ilişkisini araştıran literatürde birkaç çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların birinde ERCC2 Asp312Asn polimorfizminin prostat kanserine yatkınlık ile herhangi bir ilişkisi tespit edilmemesine rağmen, minör alleli homozigot olarak taşıyan hastaların yüksek Gleason skoru veya ileri evre tümörlerle daha güçlü ilişkiler gösterdiği fakat klinik olarak agresif ve agresif olmayan tümörler arasında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olmadığı ifade

edilmiştir (37). Benzer şekilde minör alleli homozigot ve heterozigot taşımanın, prostat kanser riskini arttırdığı tespit edilmiştir (38, 39). Diğer yandan bu polimorfizm ile prostat kanser riski arasında bir ilişki olmadığını gösteren iki çalışma da vardır (40,41). Bir meta-analiz çalışmasında da, ERCC2 polimorfizmlerinin prostat kanser riski ile ilişkisinin olmadığı ifade edilmiş ise de, bu çalışmada etnik farklılığın bu ilişkinin sonucuna etki eden bir faktör olduğu ve ERCC2 polimorfizmlerinin Asya popülasyonunda prostat kanser riskinde artışa yol açtığı vurgulanmıştır (48). ERCC2'nin prostat kanseri ile olan ilişkisini polimorfizmler üzerinden değerlendirilen bu çalışmalar ve bizim çalışmalarımız göz önüne alındığında, çalışmamızda tespit ettiğimiz gen ifadesindeki 2.25 katlık artış, ERCC2'nin prostat kanseri patogenezindeki potansiyel rolünü işaret etmektedir.

Literatürdeki ERCC2 ekspresyonunun çeşitli kanser hücrelerindeki etkisini araştıran çalışmalar mevcuttur. Liu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kolorektal kanserde ERCC2 ekspresyonunun tümörlü dokularda belirgin şekilde arttığı gözlemlenmiştir (42). Over kanseri üzerine yapılan diğer bir çalışmada ise hastaların tümör hücrelerinin in vitro uygulanan ilaç tedavisine verdikleri yanıt durumları kıyaslanmış ve yanıtlı ve yanıtız hücreler arasında ERCC2 ekspresyon seviyelerinin değişmediği tespit edilmiştir (43). Zhang ve arkadaşlarının yaptığı bir biyoinformatik çalışmada, ERCC gen ailesinin birçok kanser türlerinde hastalığın prognozu ile yakın ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada, in vitro ERCC2 gen ekspresyonunun baskılanmasının mesane kanseri hücrelerinin çoğalmasını, göçünü ve invazyonunu önemli ölçüde engellediğini belirtilmiştir (44). Van Allen ve arkadaşlarının çalışmasında, ERCC2 genindeki somatik mutasyonların, kas invaziv ürotelyal karsinom hastalarında sisplatin tedavisine duyarlılık ile ilişkili olduğu bulunmuştur (45). Bu mutasyonlar, DNA onarım mekanizmasını bozarak tümör hücrelerini DNA hasarına karşı daha savunmasız hale getirir ve tedavi etkinliğini artırır. Bu bulgular, ERCC2'nin biyomarker olarak kullanılabilceği ve terapötik hedef olma potansiyelinin bulunduğunu göstermektedir.

ERCC ailesindeki genetik değişikliklerin meme kanseri ile ilişkisini araştıran bir çalışmada, meme kanserinde ERCC2'nin en fazla epigenetik değişikliğe uğrayan gen olduğu vurgulanmış ve 7 DMA metilasyon sahası tespit edilmiştir (46). Meme kanser dokusundaki gen ifadesinin artmış olduğuda ve bu durumun metastatik durum ile de ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca yüksek ERCC2 seviyesinin endokrin tedaviye olumsuz olarak etki ettiğide tespit edilmiştir. Bütün bu bulgular, ERCC2'nin DNA onarımındaki önemli rolü göz

önüne alındığında ERCC2 gen ifadesinin kanser gelişimi, prognozu ve tedaviye yanıtın belirleyicisi olabileceğini göstermektedir.

Prostat kanserinde ERCC5 gen ifadesinin kanser patogenezindeki rolünü anlamak için yaptığımız çalışmada, ERCC5 gen ifadesinin tümörlü dokularda normal dokuya göre anlamlı şekilde yüksek olduğunu ve bu ifadenin yaklaşık 5.94 kat arttığını tespit ettik. Bu bulgu, ERCC5'in prostat kanser patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. ERCC5 geninin yüksek ekspresyonu, DNA onarımı ve hücresel stresin yönetilmesinde kritik bir rol üstlenebilir ve bu da kanser hücrelerinin hayatta kalmasını ve tümör progresyonunu destekleyebilir.

Prostat kanserinde ERCC5 geninin önemini ortaya koyan, literatürde sadece bir çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışmada prostat kanserinde sıklıkla heterozigozite kaybı (LOH) görülen 13 numaralı kromozomdaki üç bölgeden birinin, ERCC5 geninin bulunduğu bölge olduğu tespit edilmiştir. Bu bölgede yapılan mutasyon analizlerinde herhangi bir mutasyona rastlanmamış olması, prostat kanserinin gelişiminde ERCC5 geninin etkisinin olmadığı sonucuna varılmasına yol açmıştır (47). Bu bulgu değerlendirildiğinde, ERCC5 geninin kanseri başlatıcı bir faktör olmaktan ziyade genomik instabiliteye katkıda bulunan, hastalık prognozuna ve ilaç yanıtlarına etki edebilen bir faktör olduğu kanısı uyandırmaktadır. Bu yorumu aydınlatabilecek ERCC5 genindeki polimorfizmlerin prostat kanser riski ile olan ilişkisini değerlendiren literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, farklı sonuçlar karşımıza çıkmaktadır.

ERCC5 polimorfizminin prostat kanser riskiyle olan ilişkisini inceleyen iki meta-analiz çalışmasında, sonuç olarak ERCC5 polimorfizmlerinin prostat kanseri riskini etkileyebilecek genetik faktörlerden biri olmadığı bildirilmiştir (48, 49). Zayıf bir etki sonucu tespit edilmiştir. Diğer yandan, prostat kanser görülme sıklığının yüksek olduğu Afro-Amerikan erkeklerinde ERCC5 polimorfizmi ile ilişkili bir çalışmada, ERCC5 gen ifadesi üzerinde etkili bir promotör polimorfizminin (-72C/T) prostat kanser riski ile olan ilişkisi gösterilmiştir (50). Bu polimorfizmde T allelini homozigot olarak taşıyan kişilerin azalmış prostat kanser riskine sahip olduğu bildirilmiş olup, bu varyantın ERCC5 geninin transkripsiyonun aşağı düzenlenmesinden sorumlu bir GCF transkripsiyonel faktör bağlanma bölgesini sildiği ve bu durumun ERCC5 ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir. Bu variant görülme sıklığının Asya ve Avrupa popülasyonunda çok düşük olduğu vurgulanmıştır. Bu

sonuçu bizim sonuçlarımızla birlikte değerlendirildiğinde, çalışmamızda tespit ettiğimiz ERCC5 gen ifadesindeki artış, başlatıcı bir sebep olmatan ziyade, prostat kanserindeki artmış DNA hasarlarına karşı bir savunma aracı olduğu anlaşılmaktadır. ERCC5 protein miktarındaki artış, NER sürecinin verimliliğini potansiyel olarak etkileyebilir.

ERCC5 genetik varyantlarının prostat kanseri dışında diğer kanserlerdeki olası risk faktör olasılığını değerlendiren çalışmalar da vardır. Shakil Malik ve arkadaşlarının bir çalışmasında, ERCC5 genindeki genetik varyantların meme kanseri riskiyle ilişki tespit edilmiştir (51). Bir diğer çalışmada, ERCC5 gen polimorfizmlerinin mide kanseri metastazı ve nüks riskiyle ilişkili olduğu bulunmuştur (52). Ayrıca, ERCC5 polimorfizmlerinin karaciğer kanseri için potansiyel belirteçler olabileceğini gösteren başka bir çalışmam da vardır (53).

Literatürdeki ERCC5 gen ve protein ifade düzeyinin prostat kanseri dışında çeşitli kanser tiplerindeki etkisini araştıran çalışmalar mevcuttur. Zheng ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, hepatoselüler karsinom (HCC) hastalarında, ERCC5 protein ifadesi yüksek bulunmuş ve ERCC5 ifade düzeyinin prognostik bir belirteç olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir (54). Yüksek ERCC5 ekspresyonunun kötü prognoz ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca, ERCC5 protein seviyesi ile yaş, cinsiyet, hepatit B virüsü enfeksiyonu, karaciğer sirozu, tümör boyutu, tümör trombozu, diferansiyel evre veya tümör evresi arasında herhangi bir ilişki tespit edilmemiştir.

Italiano ve arkadaşlarının sarkoma hastalarında yaptıkları bir çalışmada, tümör dokusundaki ERCC5 gen ifadesinin normal dokulara kıyasla 1.36 oranında artmış olduğu, bu artışın ERCC5 genindeki polimorfizm genotiplerine göre değiştiği ve bu durumun hastaların ilaç tedavisine verdikleri yanıtı değiştirdiği vurgulanmıştır (55). Benzer bir çalışmada da ERCC5 genindeki varyantların ERCC5 gen ifadesini etkileyerek over ve akciğer kanserli hastalara uygulanan platin bazlı tedaviye verilen yanıtlarında önemli etkiler oluşturduğu vurgulanmıştır (56). Bir başka çalışmada, ERCC5 gen ifade düzeyinin yumurtalık kanser tedavisinde önemli bir rol oynadığı ifade edilmiştir. 13q bölgesindeki LOH ve bu bölgede yer alan ERCC5 geninin ifadesindeki düşüşün, hastaların platin bazlı kemoterapiye yanıtını pozitif yönde etkileyerek daha uzun hastaliksız hayat sürecine yol açtığı bildirilmiştir. Bu nedenle kanser tedavisinde potansiyel bir biyomarker ve terapötik hedef olarak önerilmiştir (57). Kolorektal kanserle ilgili yapılan bir çalışmada da, ERCC5 gen

ekspresyonunun tümörlü dokularda yüksek olduğu ve bu yüksek ekspresyonun kanser hücrelerinin DNA onarım kapasitesini artırarak kanserin ilerlemesini teşvik ettiği bulunmuştur (42). Ayrıca ERCC5 gen ifadesinin ileri tümör aşaması ve uzak metastas ile ilişkili olduğunda tespit edilmiştir.

NER sürecinde farklı işlevleri ile rol oynayan ERCC2 ve ERCC5 arasındaki korelasyon analizinde anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Bu bulgu, her iki genin bağımsız bir şekilde regüle edilebileceğini düşündürmektedir. Sonuçlarımız, over kanserinde ERCC1 ile ERCC2'nin ifade düzeyleri arasındaki ilişkisizlik durumunun uyludur (43). Liu ve arkadaşları kolorektal kanser üzerine yaptıkları çalışmada, ERCC2 ve ERCC5'in her ikisinde gen ifadesinin arttığı, ERCC4'ün ise düştüğü tespit edilmiştir (42).

Çalışmamızda prostat tümör dokusunda ERCC2 ve ERCC5 gen ifadelerinin incelemek için 50 hasta kullanılmıştır. Bu örneklem büyüklüğü, literatürdeki bazı çalışmalara göre daha büyük bir örneklem sunmaktadır. Literatürlerdeki farklı sonuçların nedeni, örneklem büyüklüğü, kullanılan materyalin kaynağı, kullanılan yöntemler gibi değişkenlerden kaynaklanabileceği gibi farklı evrelerdeki hasta popülasyonundan ve etnik kökenlerden de kaynaklanabilir.

Çalışmamızda, prostat kanser gelişiminde ERCC2 ve ERCC5 gen ifade düzeylerinin potansiyel rolleri aydınlatılmaya çalışılmıştır. ERCC2 ifade düzeyinin tümörlü ve normal dokular arasındaki farklı olmaması fakat tümör dokusundaki ifadesinin 2.25 kat yüksek olması genetik varyasyonların ve çevresel faktörlerin etkilerinin daha ayrıntılı inceleme gerekliliğini ortaya koymaktadır. Literatürdeki veriler de ERCC2'nin kanser biyolojisindeki rolünün karmaşık olduğunu ve farklı kanser türlerinde değişkenlik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu nedenle, ERCC2'nin biyomarker olarak kullanım potansiyeli ve terapötik hedef olma olasılığı üzerine daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmamızda ERCC5'in tümör dokusundaki yüksek ifade düzeyi, diğer literatür verileri ile birlikte değerlendirildiğinde, özellikle prognostik bir önem arz ettiği anlaşılmaktadır. Yüksek ERCC5 gen ifadesinin, tümör progresyonunu hızlandırabileceği ve terapötik etkinliği belirleyebileceği vurgulamaktadır. ERCC5'in biyomarker olarak kullanımını daha ayrıntılı araştırmak, kanser tedavisinde kişiselleştirilmiş yaklaşımlar geliştirilmesine katkı sağlayabilir. Her iki gen ifadeleri ile hastaların klinik ve demografik verileri arasında herhangi bir ilişki tespit edilmemesinin nedeni, örneklem büyüklüğü olabilir. Bu gibi ilişkilendirme

alışmalarında rnek sayısının yüksek olması daha sağlıklı verilerin elde edilmesini sağlayabilir.

Sonuç olarak, ERCC2 ve ERCC5 prostat kanseri ve diğer kanser türlerinde önemli biyolojik rol oynayan genler olarak öne çıkmaktadır. ERCC2 ve ERCC5'in biyomarker ve terapötik hedef olarak kullanımı, kanser tedavisinde önemli bir ilerleme sağlayabilir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, prostat kanserinde NER tamir mekanizması enzimlerinden ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade düzeylerini araştırarak, tümör ve normal dokular arasındaki farklılıkları ortaya koymayı amaçlamıştır. Yapılan analizler sonucunda şu bulgular elde edilmiştir:

1. ERCC2 gen ifadesi: Tümör ve normal dokular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte ($p=0.12$), ifade düzeylerinde 2.25 kat artış gözlenmiştir. Bu durum, ERCC2'nin prostat kanserinde tümör progresyonunda potansiyel olarak rol oynayabileceğini ancak daha fazla kanıtı ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.
2. ERCC5 gen ifadesi: Tümör dokularında normal dokulara kıyasla anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p=0.005$) ve bu artış 5.94 kat olarak hesaplanmıştır. Bu bulgu, ERCC5 geninin prostat kanseri patogeneğinde daha aktif bir rol oynayabileceğini düşündürmesine yol açmıştır.
3. Klinik parametreler: Sigara kullanımı, diyabet, hipertansiyon, nodül mevcudiyeti, Gleason ve PIRADS skorları gibi klinik faktörlerin ERCC2 ve ERCC5 gen ifadeleri üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmamıştır. Bu durum, bu genlerin ifade düzeylerinin daha spesifik biyolojik mekanizmalarla düzenlenebileceğini düşünülmektedir.
4. Korelasyon: ERCC2 ve ERCC5 gen ifadeleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır. Bu bulgu, bu iki genin prostat kanserindeki rolleri arasında bağımsız bir işlevsellik olabileceğini işaret etmektedir.

Öneriler:

1. Büyük örneklem büyüklüklü çalışmalar: ERCC2 ve ERCC5 genlerinin prostat kanserindeki rollerini daha iyi anlamak için daha büyük örneklem büyüklüklü, çok merkezli çalışmalar yürütülmelidir.
2. Fonksiyonel analizler: Bu genlerin prostat kanseri progresyonundaki rollerini açıklayabilmek için, ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ekspresyonunun fonksiyonel etkilerini araştıran in vitro ve in vivo çalışmalar gerçekleştirilmelidir.

3. Tedavi hedefleri: ERCC5 geninde gözlenen anlamlı artış, bu geni hedefleyen yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için bir başlangıç noktası sunabilir. Bu nedenle, ERCC5'in prostat kanseri tedavisindeki potansiyel kullanım alanları araştırılmalıdır.
4. Biyobelirteç geliştirme: ERCC5 gen ekspresyonundaki artışın, prostat kanserinin erken tanı ve prognostik değerlendirmesinde bir biyobelirteç olarak kullanılabilirliği incelenmelidir.
5. Epigenetik mekanizmalar: ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade düzeylerini düzenleyen epigenetik mekanizmaları inceleyen çalışmalar, bu genlerin ekspresyonundaki artışın temel nedenlerini açığa çıkarabilir.



KAYNAKLAR

1. Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2021). Cancer statistics, 2021. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(1), 7-33.
2. Hoeijmakers, J. H. J. (2009). DNA damage, aging, and cancer. *The New England Journal of Medicine*, 361(15), 1475-1485.
3. Fousteri, M., & Mullenders, L. H. F. (2008). Transcription-coupled nucleotide excision repair and human disease. *Nature Reviews Cancer*, 8(1), 46-58.
4. Sijbers, A. M., et al. (1996). The nucleotide excision repair gene ERCC5/XPG is required for the repair of UV-induced DNA damage in human cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 271(12), 10143-10146.
5. Tornaletti, S., & Reines, D. (2001). Nucleotide excision repair in vivo: a mechanistic view. *Mutagenesis*, 16(1), 77-87.
6. Marteijn, J. A., Lans, H., Vermeulen, W., & Hoeijmakers, J. H. J. (2014). Understanding NER: From DNA damage recognition to dynamic chromatin alterations. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(10), 465-481.
7. Wang, G., et al., Genetics and biology of prostate cancer. *Genes Dev*, 2018. 32(17-18): p. 1105-1140.
8. Langan, R.C., Benign Prostatic Hyperplasia. *Prim Care*, 2019. 46(2): p. 223232.
9. Das K, Buchholz N. Benign prostate hyperplasia and nutrition. *Clin Nutr ESPEN*. 2019 Oct;33:5-11. doi: 10.1016/j.clnesp.2019.07.015. Epub 2019 Aug 12. PMID: 31451276.
10. Devlin, C.M., M.S. Simms, and N.J. Maitland, Benign prostatic hyperplasia - what do we know? *BJU Int*, 2021. 127(4): p. 389-399.
11. Hjelmborg, J.B.; Scheike, T.; Holst, K.; Skytthe, A.; Penney, K.L.; Graff, R.E.; Pukkala, E.; Christensen, K.; Adami, H.-O.; Holm, N.V.; et al. The Heritability of Prostate Cancer in the Nordic Twin Study of Cancer. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2014, 23, 2303–2310
12. Sakr WA, Haas GP, Cassin BF, Pontes JE, Crissman JD (1993). The frequency of carcinoma and intraepithelial neoplasia of the prostate in young male patients. *J Urol* 150:379-385
13. Mahran A, Turk A, Buzzy C, Wang M, Yang J, Neudecker M, Jaeger I, Ponsky LE (2018). Younger Men with Prostate Cancer have Lower Risk of Upgrading while on Active Surveillance: A Meta-analysis and Systematic Review of the Literature. *Urology*
14. Steinberg GD, Carter BS, Beaty TH, Childs B, Walsh PC (1990). Family history and the risk of prostate cancer. *Prostate* 17:337-347
15. Carter BS, Beaty TH, Steinberg GD, Childs B, Walsh PC (1992). Mendelian inheritance of familial prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:3367-3371
16. Ostrander EA, Stanford JL (2000). Genetics of prostate cancer: too many loci, too few genes. *Am J Hum Genet* 67:1367-1375
17. Anderson DE, Badzioch MD (1993). Familial effects of prostate and other cancers on lifetime breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat* 28:107-113

18. Bennett KE, Howell A, Evans DG, Birch JM (2002). A follow-up study of breast and other cancers in families of an unselected series of breast cancer patients. *Br J Cancer* 86:718-722
19. Prehn RT (1999). On the prevention and therapy of prostate cancer by androgen administration. *Cancer Res* 59:4161-4164
20. Bhargava S (2014). Increased DHT levels in androgenic alopecia have been selected for to protect men from prostate cancer. *Med Hypotheses* 82:428-432
21. Humphrey, P.A. and G.L. Andriole, Prostate cancer diagnosis. *Mo Med*, 2010. 107(2): p. 107-12.
22. Kornberg Z, Cooperberg MR, Spratt DE, Feng FY (2018). Genomic biomarkers in prostate cancer. *Transl Androl Urol* 7:459-471
23. Blanc-Lapierre A, Rousseau MC, Parent ME (2017). Perceived Workplace Stress Is Associated with an Increased Risk of Prostate Cancer before Age 65. *Front Oncol* 7:269
24. McVary KT, Rademaker AW (1990). Re: Prostate specific antigen in the diagnosis and treatment of adenocarcinoma of the prostate. *J Urol* 144:1485-1486
25. Humphrey PA. Histopathology of Prostate Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2017 Oct 3;7(10):a030411. doi: 10.1101/cshperspect.a030411. PMID: 28389514; PMCID: PMC5629988.
26. Wasim S, Lee SY, Kim J. Complexities of Prostate Cancer. *Int J Mol Sci*. 2022 Nov 17;23(22):14257. doi: 10.3390/ijms232214257. PMID: 36430730; PMCID: PMC9696501.
27. Schatten H. Brief Overview of Prostate Cancer Statistics, Grading, Diagnosis and Treatment Strategies. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1095:1-14. doi: 10.1007/978-3-319-95693-0_1. PMID: 30229546.
28. Suzuki, K.; Kise, H.; Nishioka, J.; Hayashi, T. The Interaction among Protein C Inhibitor, Prostate-Specific Antigen, and the Semenogelin System. *Semin. Thromb. Hemost.* 2007, 33, 46–52.
29. Logothetis CJ, Gallick GE, Maity SN, Kim J, Aparicio A, Efstathiou E, Lin SH (2013). Molecular classification of prostate cancer progression: foundation for marker-driven treatment of prostate cancer. *Cancer Discov* 3:849-861
30. Miyahira, A.K., et al., Prostate cancer research: The next generation; report from the 2019 Coffey-Holden Prostate Cancer Academy Meeting. *Prostate*, 2020. 80(2): p. 113-132.
31. Vietri, M.T., et al., Hereditary Prostate Cancer: Genes Related, Target Therapy and Prevention. *Int J Mol Sci*, 2021. 22(7).
32. Fontana, F., M. Anselmi, and P. Limonta, Molecular mechanisms and genetic alterations in prostate cancer: From diagnosis to targeted therapy. *Cancer Lett*, 2022. 534: p. 215619.
33. Hayes, J. D.-K. (2020). Oxidative stress in cancer. . *Cancer cell*, , 38(2), 167-197
34. Sameer AS and Nissar S (2018) XPD–The Lynchpin of NER: Molecule, Gene, Polymorphisms, and Role in Colorectal Carcinogenesis. *Front. Mol. Biosci.* 5:23. doi: 10.3389/fmolb.2018.00023
35. Muniesa-Vargas A, Theil AF, Ribeiro-Silva C, Vermeulen W, Lans H. XPG: a multitasking genome caretaker. *Cell Mol Life Sci*. 2022 Mar 1;79(3):166. doi: 10.1007/s00018-022-04194-5. PMID: 35230528; PMCID: PMC8888383.
36. Pal R, Paul N, Bhattacharya D, Rakshit S, Shanmugam G, Sarkar K. XPG in the Nucleotide Excision Repair and Beyond: a study on the different functional aspects of XPG and its associated diseases. *Mol Biol Rep*. 2022 Aug;49(8):7995-8006. doi:

- 10.1007/s11033-022-07324-1. Epub 2022 May 20. Erratum in: *Mol Biol Rep.* 2022 Oct;49(10):10143-10146. doi: 10.1007/s11033-022-07729-y. PMID: 35596054.
37. Agalliu I, Kwon EM, Salinas CA, Koopmeiners JS, Ostrander EA, Stanford JL. Genetic variation in DNA repair genes and prostate cancer risk: results from a population-based study. *Cancer Causes Control.* 2010 Feb;21(2):289-300. doi: 10.1007/s10552-009-9461-5. Epub 2009 Nov 10. PMID: 19902366; PMCID: PMC2811225.
 38. Mirecka A, Paszkowska-Szczur K, Scott RJ, Górski B, van de Wetering T, Wokołorczyk D, Gromowski T, Serrano-Fernandez P, Cybulski C, Kashyap A, Gupta S, Gołąb A, Słojewski M, Sikorski A, Lubiński J, Dębniak T. Common variants of xeroderma pigmentosum genes and prostate cancer risk. *Gene.* 2014 Aug 10;546(2):156-61. doi: 10.1016/j.gene.2014.06.026. Epub 2014 Jun 13. PMID: 24933002.
 39. Bau DT, Wu HC, Chiu CF, Lin CC, Hsu CM, Wang CL, Wang RF, Tsai FJ. Association of XPD polymorphisms with prostate cancer in Taiwanese patients. *Anticancer Res.* 2007 Jul-Aug;27(4C):2893-6. PMID: 17695467
 40. Lavender NA, Komolafe OO, Benford M, Brock G, Moore JH, Vancleave TT, States JC, Kittles RA, Kidd LC. No association between variant DNA repair genes and prostate cancer risk among men of African descent. *Prostate.* 2010 Feb 1;70(2):113-9. doi: 10.1002/pros.21048. PMID: 19760636; PMCID: PMC2798907.
 41. Dhillon VS, Yeoh E, Fenech M. DNA repair gene polymorphisms and prostate cancer risk in South Australia--results of a pilot study. *Urol Oncol.* 2011 Nov-Dec;29(6):641-6. doi: 10.1016/j.urolonc.2009.08.013. Epub 2009 Nov 13. PMID: 19914098.
 42. Liu J, Li H, Sun L, Feng X, Wang Z, Yuan Y, Xing C. The Differential Expression of Core Genes in Nucleotide Excision Repair Pathway Indicates Colorectal Carcinogenesis and Prognosis. *Biomed Res Int.* 2018 Jan 15;2018:9651320. doi: 10.1155/2018/9651320. PMID: 29568775; PMCID: PMC5820669.
 43. Dabholkar M, Bostick-Bruton F, Weber C, Bohr VA, Egwuagu C, Reed E. ERCC1 and ERCC2 expression in malignant tissues from ovarian cancer patients. *J Natl Cancer Inst.* 1992 Oct 7;84(19):1512-7. doi: 10.1093/jnci/84.19.1512. PMID: 1433335.
 44. Zhang S, Guan Z, Xia Q, Shen C, Hu H, Wang J. Bioinformatics analysis of ERCC family in pan-cancer and ERCC2 in bladder cancer. *Front Immunol.* 2024 Aug 13;15:1402548. doi: 10.3389/fimmu.2024.1402548. PMID: 39192988; PMCID: PMC11347307.
 45. Van Allen EM, Mouw KW, Kim P, Iyer G, Wagle N, Al-Ahmadie H, Zhu C, Ostrovnaya I, Kryukov GV, O'Connor KW, Sfakianos J, Garcia-Grossman I, Kim J, Guancial EA, Bambury R, Bahl S, Gupta N, Farlow D, Qu A, Signoretti S, Barletta JA, Reuter V, Boehm J, Lawrence M, Getz G, Kantoff P, Bochner BH, Choueiri TK, Bajorin DF, Solit DB, Gabriel S, D'Andrea A, Garraway LA, Rosenberg JE. Somatic ERCC2 mutations correlate with cisplatin sensitivity in muscle-invasive urothelial carcinoma. *Cancer Discov.* 2014 Oct;4(10):1140-53. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-0623. Epub 2014 Aug 5. PMID: 25096233; PMCID: PMC4238969.
 46. Hermawan, A., Putri, H. Characterizing excision repair cross-complementing family genes as drug resistance biomarkers in breast cancer. *Beni-Suef Univ J Basic Appl Sci* 12, 79 (2023). <https://doi.org/10.1186/s43088-023-00415-3>
 47. Hyytinen ER, Frierson HF Jr, Sipe TW, Li CL, Degeorges A, Sikes RA, Chung LW, Dong JT. Loss of heterozygosity and lack of mutations of the XPG/ERCC5 DNA repair gene at 13q33 in prostate cancer. *Prostate.* 1999 Nov 1;41(3):190-5. doi:

- 10.1002/(sici)1097-0045(19991101)41:3<190::aid-pros6>3.0.co;2-2. PMID: 10517877.
48. Liu Y, Hu Y, Zhang M, Jiang R, Liang C. Polymorphisms in *ERCC2* and *ERCC5* and Risk of Prostate Cancer: A Meta-Analysis and Systematic Review. *J Cancer*. 2018 Jul 16;9(16):2786-2794. doi: 10.7150/jca.25356. PMID: 30123346; PMCID: PMC6096373.
 49. Zuo C, Lv X, Liu T, Yang L, Yang Z, Yu C, Chen H. Polymorphisms in *ERCC4* and *ERCC5* and risk of cancers: Systematic research synopsis, meta-analysis, and epidemiological evidence. *Front Oncol*. 2022 Aug 11;12:951193. doi: 10.3389/fonc.2022.951193. PMID: 36033436; PMCID: PMC9404303.
 50. Hooker S, Bonilla C, Akereyeni F, Ahaghotu C, Kittles RA. *NAT2* and *NER* genetic variants and sporadic prostate cancer susceptibility in African Americans. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2008;11(4):349-56. doi: 10.1038/sj.pcan.4501027. Epub 2007 Nov 20. PMID: 18026184.
 51. Shakil Malik S, Mubarik S, Baig M, Masood N, Chaudhry N. Genetic polymorphism in *ERCC5* and breast cancer risk. *Mol Biol Res Commun*. 2019 Mar;8(1):27-31. doi: 10.22099/mbrc.2019.32294.1383. PMID: 31528641; PMCID: PMC6510213.
 52. Wang S, Chen X, Fu Y, Zhang H, Liu W, Song X, Ma X, Cheng S, Lu J. Relationship of *ERCC5* genetic polymorphisms with metastasis and recurrence of gastric cancer. *Rev Assoc Med Bras (1992)*. 2021 Nov;67(11):1538-1543. doi: 10.1590/1806-9282.20210209. PMID: 34909875.
 53. Yang G, Yang Y, Ma X, Huang L, Li W, Song X, Zhang H, Liu W, Lu J. Association of *ERCC5* Genetic Polymorphisms With Cirrhosis and Liver Cancer. *Technol Cancer Res Treat*. 2020 Jan-Dec;19:1533033820943244. doi: 10.1177/1533033820943244. PMID: 32812509; PMCID: PMC7440721.
 54. Zheng X, Chen K, Liu X, Jiang G, Liu H. High expression of *ERCC5* predicts a poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*. 2018 Jul 1;11(7):3664-3670. PMID: 31949747; PMCID: PMC6962895.
 55. Italiano A, Laurand A, Laroche A, Casali P, Sanfilippo R, Le Cesne A, Judson I, Blay JY, Ray-Coquard I, Bui B, Coindre JM, Nieto A, Tercero JC, Jimeno J, Robert J, Pourquier P. *ERCC5/XPG*, *ERCC1*, and *BRCA1* gene status and clinical benefit of trabectedin in patients with soft tissue sarcoma. *Cancer*. 2011 Aug 1;117(15):3445-56. doi: 10.1002/cncr.25925. Epub 2011 Feb 1. PMID: 21287534.
 56. Rulli, E., Guffanti, F., Caiola, E. *et al.* The 5'UTR variant of *ERCC5* fails to influence outcomes in ovarian and lung cancer patients undergoing treatment with platinum-based drugs. *Sci Rep* 6, 39217 (2016). <https://doi.org/10.1038/srep39217>
 57. Walsh CS, Ogawa S, Karahashi H, Scoles DR, Pavelka JC, Tran H, Miller CW, Kawamata N, Ginther C, Dering J, Sanada M, Nannya Y, Slamon DJ, Koeffler HP, Karlan BY. *ERCC5* is a novel biomarker of ovarian cancer prognosis. *J Clin Oncol*. 2008 Jun 20;26(18):2952-8. doi: 10.1200/JCO.2007.13.5806. PMID: 18565881.
 58. Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc*. 2008;3(6):1101-8. doi: 10.1038/nprot.2008.73. PMID: 18546601.

EKLER

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMUNDA OLMASI GEREKEN ASGARİ BİLGİLER				
Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-DD-13	01.12.2019		00	1/2

Araştırmanın adı: Prostat Kanserinde NER Tamir Mekanizması Enzim İfade Değişimlerinin İncelenmesi

Kabul etmeniz halinde katılacağınız bu çalışma bir araştırmadır. Araştırmanın amacı, Prostat kanserinde BER tamir mekanizması ile ilgili ERCC2 ve ERCC5 genlerinin ifade düzeylerinin prostat kanser dokusunda incelenmesi ve bu genlerin ifade düzeylerini birbirleriyle ve hastaların klinik verileri ile ilişkilendirmektir.

Çalışmanın süresi 14 ay olarak planlanmış olup, çalışma 50 Prostat kanser hastasının normal ve tümörlü doku örneklerinde gerçekleştirilecektir. Prostat kanseri varlığının araştırması amacı ile Üroloji uzmanı tarafından size uygulanan biyopsi örneklerinde çalışma gerçekleştirilecektir. Sizden bunun için ayrı bir örnek alınmayacaktır. Biyopsi işlemi (Tru-Cut biyopsi) ile alınan ve patoloji değerlendirmesi ile uygunluğu teyit edilmiş olan örnekler çalışmaya dâhil edilecektir.

Çalışmada, çalışmaya katılan hastalara mevcut tanıları ile ilgili herhangi bir tedavi uygulanmayacaktır. Bu konu ile ilgili herhangi bir risk durumu söz konusu değildir.

Çalışmada araştırılacak gen ifade düzeyleri, normal ve tümör dokularında araştırılacak proteinleri kodlayan mRNA'ların miktar tayini ile tespit edilecektir.

Prostat doku örneği alma sürecinden sonra çalışmaya katılan bireylerde tespit edilebilecek ve çalışmanın sonuçlarına etki edebilecek herhangi bir olumsuz durum söz konusu olursa, bu kişiler çalışmadan çıkartılabilecektir.

Gönüllü olarak sizin araştırma üzerinde herhangi bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır. Araştırma boyunca sizden maddi katkı talebi olmayacaktır. Sizin için herhangi bir rahatsızlık veya risk oluşturmayacak bu çalışma, kısa dönemde size fayda sağlamayacaktır. Ancak uzun dönemde hastalığın gelişiminin daha iyi anlaşılabilmesi ve alternatif tedavi geliştirebilmek için çalışma önemlidir.

Araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlı olup araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz. Reddetmeniz halinde yararınıza engel ya da cezai bir durum ortaya çıkmayacaktır.

İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, etik kurul, kurum ve diğer ilgili sağlık otoritelerinin gönüllünün orijinal tıbbi kayıtlarına doğrudan ulaşabilecektir, ancak bu bilgilerin gizli tutulacaktır.

Siz veya yasal temsilciniz bilgilendirmiş olur formu imzalamakla bunu kabul etmiş olacaksınız. Ayrıca kimliğinizi ortaya koyacak kayıtlar da gizli tutulacaktır. Araştırma sırasında sizi ilgilendirecek bir bilgi söz konusu olduğunda siz veya yasal temsilcinize derhal haber verilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiye 0212 414 30 00- İç Hat 68010 (Prof. Dr. Mehmet Güven) telefon numarasından ulaşabilirsiniz.

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMUNDA OLMASI GEREKEN ASGARİ BİLGİLER				
Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon Tarihi	Revizyon No	Sayfa
KAD-DD-13	01.12.2019		00	2/2

Bilgilendirilmiş gönüllü olur formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Hasta adı, soyadı

İmza

Tarih

Açıklama yapan araştırmacı adı, soyadı

İmza

Tarih

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI



Sayfa 2 of 67 - Bütünlük Genel Bakış

Gönderi Kimliği trn:oid::1:3122989398

7% Genel Benzerlik

Her veri tabanı için çıkarılan kaynaklar da dâhil tüm eşleşmelerin kombine toplamı.

Rapordan Filtrelenen

- Bibliyografya
- Alıntılanan Metin

Hariç Tutulacaklar

- 1 Çıkarılan Kaynak
- 25 Çıkarılan Eşleşme

Ön Sıradaki Kaynaklar

- 4% İnternet kaynakları
- 3% Yayınlar
- 2% Gönderilen çalışmalar (Öğrenci Makaleleri)

Bütünlük Bayrakları

İnceleme için 0 Bütünlük Bayrağı

Herhangi bir şüpheli metin manipülasyonu belirlenmedi.

Sistemimizin algoritmaları bir belgede, onu normal bir gönderiden ayırabilecek her türlü tutarsızlığı derinlemesine inceler. Tuhaf bir şey fark edersek incelemeniz için bayrak ekleriz.

Bir Bayrak mutlaka bir sorun olduğunu göstermez. Ancak daha fazla inceleme için dikkatinizi vermenizi öneririz.



Sayfa 2 of 67 - Bütünlük Genel Bakış

Gönderi Kimliği trn:oid::1:3122989398

KURUM İZİNİ YAZILARI

Uyarı: Canlı ve cansız deneklerle yapılan tüm çalışmalar için kurum izin belgelerinin eklenmesi zorunludur. Gizlilik ve mahremiyet içeren durumlarda kurum adı kapatılmalıdır.

- Kurum izni gerekmektedir.
- Kurum izni gerekmemektedir.

Adila ABDULLA

