

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
ANKARA NUMUNE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
1.PATOLOJİ BÖLÜMÜ

Şef: Doç. Dr. Sezer KULAÇOĞLU

**PROSTAT ADENOKARSİNOMLARINDA GLEASON
SKORU, EKSTRAKAPSÜLER YAYILIM, VEZİKÜLA SEMİNALİS
TUTULUMU VE PERİNÖRAL İNVAZYON İLE p21, p27, SİKLİN
D1 VE Ki-67 EKSPRESYONU ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Gül AĞRALI TÜRKÇÜ

ANKARA

2009

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak eğitimime katkısı bulunan sevgili hocalarım **Doç. Dr. Sezer KULAÇOĞLU** ve **Doç. Dr. Selda SEÇKİN'e**,

Patoloji uzmanlık eğitimi süresince her konuda destek gördüğüm değerli **başasistanlarıma** ve **uzmanlarıma**,

Asistanlığım boyunca birçok şey paylaştığım **asistan arkadaşlarıma**, **bölümümüz laboratuvar çalışanları** ve **sekreterlerine**,

Hayatımdaki her adımda desteklerini hep hissettiğim **anneme**, **babama** ve **kardeşlerime**,

Destek, yardım ve anlayışı ile hep yanımda olan **sevgili eşime**

Teşekkür ederim.

Dr. Gül AĞRALI TÜRKÜ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
MATERYAL VE METOD.....	35
BULGULAR	38
RESİMLER	56
TARTIŞMA.....	64
SONUÇLAR.....	76
ÖZET.....	80
KAYNAKLAR.....	84

GİRİŞ VE AMAÇ

Prostat kanseri, majör uluslararası sağlık sorunudur (1). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde prostat kanseri erkeklerde görülen en sık kanserdir ve ikinci sıklıkta ölüm nedenidir (2). İnsidansı pek çok faktöre bağlı olarak bölgeler arasında farklılık göstermektedir (3). Amerika Birleşik Devletleri'nde siyah popülasyonda insidansı ve mortalite oranı daha yüksektir (4). Sıklığı yaşla birlikte artış gösterir (5).

Prostat kanseri için bazı prognostik faktörler belirlenmiştir. Bu parametreler, operasyondan önce ölçülen serum prostat spesifik antijen (PSA) düzeyi, Gleason skoru ve patolojik evredir (6,7). Prostat kanserli her bir olguda tümörün biyolojik karakteri de prognozu belirler ve olgunun tedavi stratejisinde yol gösterir (8,9). Bazı olgularda cerrahi tedavi küratifken bazı olgularda ek tedavi ve yakın takip gereklidir. Lokalize prostat kanserinde, hastalığın progresyonunda artmış riski gösteren çeşitli önemli moleküler prognostik faktörler biliniyor. Bu moleküllerin çoğu hücre adezyonu, apoptozis veya hücre proliferasyonunun kontrolü ile ilişkilidir (8).

p21 ve p27 siklin bağımlı kinaz (CDK) inhibitörü olup hücre siklusunu G1 fazında durdurarak S fazına geçişi engeller (10). Hücre siklusunun ilerlemesindeki gecikme DNA onarımı için zaman kazandırır (10,11). Hücre siklusundaki kontrol noktalarının komponentlerindeki defekt, kanser hücrelerindeki genetik instabilitenin en önemli nedenlerinden biridir (10).

p21, 6p geninde kodlanır ve 21 kDa ağırlığındadır (11,12). Hücre siklusunu G1 fazında durdurur (6,11,13,14,15). Son yıllarda p21'in, pek çok tümörün prognozunda rol oynadığı gösterilmiştir. Meme, mide ve akciğer kanserinde p21 ekspresyonu iyi prognozu gösterirken, (14,16,17) baş boyun kanserlerinde p21 ekspresyonu kötü gidişle ilişkilidir (8). Tam mekanizması bilinmese de, prostat kanserinde p21 ekspresyonu ileri evre, yüksek Gleason skoru ve kısa biyokimyasal serbest yaşam süresi ile korelasyon gösterir (8,9,12,18).

p27, kromozom 12p'de lokalizedir (11). p27, hücre siklusunda G1'den S fazına geçişi durdurur (6,7,11,19,20,21). p27, transforme edici büyüme etkeni (TGF- β) gibi büyüme baskılayıcılarına yanıt oluşturur. p27'de kayıp, onkogenezis ve tümör progresyonuna katkıda bulunabilir (10). p27 ekspresyon kaybı akciğer, meme, mide ve kolorektal kanser gibi birçok tümörde kötü prognoz ve agresif davranışla korele bulunmuştur (20,21,22,23,24). Ayrıca p27 ekspresyon kaybının, prostat kanserlerinde de kötü prognozu gösterdiği belirtilmektedir (7,22,25,26,27).

Siklin D hücre siklusunda artan ilk siklin olup G1 fazının ortasında görülür, daha sonra kaybolur ve S fazında saptanamaz. Siklin D'nin D1, D2, D3 olmak üzere 3 formu vardır. Hücre siklusunun G1 fazında siklin D, CDK4'e bağlanarak CDK4'ü aktive eder ve "siklin D-CDK4" kompleksini oluşturur. Hücre replikasyonunun uyarılmasında görev alır (10,19). Siklin D1 overekspresyonunun G1 fazını kısalttığı ve S fazına girişi hızlandırdığı söylenmektedir.

Ki-67 nükleer antijeni hücre siklusunda S, G2, M ve G1'in geç fazında eksprese olur. G0 fazındaki hücrelerde bulunmaz (28,29,30). Ki-67'nin diagnostik ve prognostik markır olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (31,32).Yapılan çeşitli çalışmalarda, Ki-67 pozitif tümör hücrelerinin oranı, genellikle hastalığın klinik gidişi ile korelasyon gösterir (29). Birçok çalışmada prostat kanserinde Ki-67 indeksi, Gleason skoru ile korelasyon göstermektedir (30,33,34).

Bu çalışmada prostat adenokarsinomunda hücre siklusunda görevli p21, p27, siklin D1 ve proliferasyon markır Ki-67 ekspresyon oranlarını immünohistokimyasal olarak değerlendirerek, Gleason skoru, ekstrakapsüler yayılım, perinöral invazyon, veziküla seminalis tutulumu ve lenf nodu metastazı ile ilişkilerini araştırdık.

GENEL BİLGİLER

EMBRİYOLOJİ

8-12. haftalarda insan koryonik gonadotropini uyarımı sonucu salgılanan testesteron prostat, veziküla seminalis ve bulboüretal bez gelişimini sağlar (35). Prostat glandı epiteli, üretra tomurcuğu endodermal epitelinden köken alırken, stroma ve kas dokusu çevre mezenşimden köken alır (35,36)

Neonatal dönemde prostat 1 cm'den küçükken, puberteye kadar gelişerek 2 cm'e yakın boyutlara ulaşır. Prostat glandının büyümesi ve matürasyonu 20 yaşına kadar devam eder (37).

ANATOMİ

Prostat erkek genital sisteminin en büyük aksesuar glandıdır (38). Prostat erişkinde yaklaşık 20 gr ağırlığında olup transvers çapı bazalde 4 cm, vertikal çapı 3 cm ve anteroposterior çapı 2 cm'dir. Pelvis boşluğunda bulunan prostat, simfizis pubisin arka tarafında, rektumun önünde, ürogenital diafragmanın yukarısında ve mesanenin aşağısında bulunur (38,39). Prostat, tabanı proksimalde mesane boynu ve veziküla seminalis giriş noktalarında, apeksi distalde ürogenital diyaframda olan ters çevrilmiş koniye benzer (39). Posteriorde prostat ve veziküla seminalisler rektumdan Denonvillier fasyası olarak bilinen ince bir bağ dokusu ile ayrılır (40).

Bu yüzyılın erken dönemlerinden beri çeşitli prostat anatomik modelleri ileri sürülmüştür. Bu modellerden en kullanışlı olanın McNeal'in modeli olduğu düşünülmüyor (39,40,41,42). McNeal'in modelinde prostat 3 farklı glandüler zondan oluşmaktadır: 1- Periferik zon, 2- Santral zon, 3- Transizyonel zon (43).

- 1- Periferik Zon: Prostat hacminin yaklaşık %70'ini oluşturur. Prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) ve karsinomun en sık görüldüğü alandır. Kronik inflamasyon ve glandüler atrofi de bu zonda sık görülür.
- 2- Santral Zon: Prostat hacminin yaklaşık %25'ini oluşturur. Koni şeklinde olup prostat tabanının tamamını ve ejakulatuar duktus çevresini içerir. Kanseri ve inflamasyona en dirençli zondur.
- 3- Transizyonel Zon: Proksimal üretranın çevresinde bulunur. Normal prostat hacminin en küçük kısmını oluşturur ve yaklaşık %5 civarındadır. Ancak benign prostat hiperplazisinin bir sonucu olarak anterior fibromusküler stroma ile beraber büyümesi ile büyük boyuta gelir. Karsinomların yaklaşık %15-20'si bu zondan gelişir.

Prostatı baştanbaşa geçen prostatik üretra, santralde eşit uzunlukta proksimal ve distal segmentlerin oluşturduğu 35 derecelik bir kavis yapar (41,43). Verumontanum bu kavisin posterior duvarında olan çıkıntıdan oluşur ve distale gittikçe incelerek krista üretralisini oluşturur (41).

Glandüler zonlara ek olarak prostat, farklı özelleşmiş prostatik stroma alanları ve diğer önemli nonglandüler elemanlar içerir. Bu alanlar preprostatik sfinkter, çizgili sfinkter, anterior fibromusküler stroma ve prostatik kapsüldür.

Prostatik üretra, sfinkterik kas tabakası ile çevrilidir. Proksimal (preprostatik) sfinkter, proksimal üretra segmenti etrafında manşon tarzında organize olmuş düz kas liflerinden oluşur. Ejakülasyon sırasında proksimal segmenti kapatarak seminal sıvının retrograd akışını engeller (37,39,43). Çizgili sfinkter, distalde verumontanumdan başlayıp eksternal üretral sfinkter ve prostatik apekse kadar devam eden sıkıca düzenlenmiş çizgili kas liflerinden oluşur (37,39). Anterior fibromusküler stroma, prostatik üretranın anteriorunda bulunur. Yoğun düz kas demetlerinden oluşur (39,43)

Prostatik kapsül gerçek kapsül değildir. Fibromüsküler stromanın periferde yoğunlaşmasından oluşur. Kapsül, lateral ve posterior yüzeylerin çoğunu kaplar. Anteriorda kapsüller stroma, anterior fibromüsküler stroma ile kaynaşır. Santral ve periferik zonlardaki terminal asinüsler kapsüle ulaşırken, transizyonel bölgenin terminal asinüsleri anterior fibromüsküler stromada sonlanır. Prostat apeksinde anterior ve anterolateralde kapsül izlenmez. Burada çizgili sfinkter ve anterior fibromüsküler stromanın en distal lifleri prostatik glandüler doku ile karışır. Mesane boynunda da kapsül gözlenmez. Prostatik stroma mesane boynu düz kas lifleri ile birleşir (37,39,43).

PROSTATIN KANLANMASI, VENÖZ VE LENFATİK DRENAJİ VE İNNERVASYONU

Prostat başlıca internal iliak arterin dalları olan inferior vezikal arter ve medial rektal arterden beslenir. Prostattan çıkan venler, prostatın alt ve yan taraflarında prostatik pleksus denilen, bir ağ oluştururlar. Prostatik pleksus, internal iliak vene direne olur. Prostatın lenfatik drenajı başlıca internal iliak lenf nodlarına ve sakral lenf nodlarıdır. Arka bölümünden ayrılan bir kısım lenf damarları, mesanenin lenf damarları ile birlikte eksternal iliak lenfatik nodlara açılır. Parasempatik lifleri splenik pelvik sinirden (S2-4), sempatik lifleri ise inferior hypogastrik pleksustan (L1-2) gelir (38).

HİSTOLOJİ

Prostat tübüloalveoler bir organdır (39,44,45). Mikroskopik olarak glandüler epitel ve fibromüsküler stromadan oluşur (40). Organın glandüler komponenti asinüsler ve duktuslardan oluşur. Duktuslar büyük (primer, major, ekskretuar) ve periferik (sekonder, minör) olmak üzere ikiye ayrılır. Glandüler epitel 3 tip hücreden oluşur: 1- Sekretuar hücreler, 2- Bazal hücreler, 3- Nöroendokrin hücreler (5,37,40,41,43,46).

- 1- **Sekretuar hücreler:** Glandın lüminal yüzeyinde yerleşir (5). Bazalde yerleşimli uniform nükleuslu, soluk ve granüler ya da berrak sitoplazmalı, kolumnar ya da küboidal şekilli hücrelerdir (39,46,42). PSA, prostatik asid fosfotaz (PAP), müsin ve diğer sekretuar ürünleri oluştururlar (5,40,41,43,46). Sekretuar hücreler, immünohistokimyasal olarak PSA, PAP, çeşitli keratinler ve vimentin ile boyanır (5).
- 2- **Bazal hücreler:** Sekretuar hücreleri bazal membrandan ayıran devamlı bir hücre tabakasıdır (5,37,40,42,43). Hiperkromatik oval nükleuslu, dar sitoplazmalı, bazal membrana paralel, düzleşmiş, elonge hücrelerdir (37,40,42,43). Bazal hücrelerin, sekretuar hücrelerin “stem-cell” popülasyonu olduğu düşünülmektedir (41). PSA, PAP ve müsin oluşturmazlar (46). İmmünohistokimyasal olarak keratin 34ßE12, CK8.12 ve 312C8-1 ile boyanırlar (5). Ayrıca p63 ve sitokeratin 5/6 ile de immünreaksiyon gösterirler (42). Bazal hücreler myoepitelyal fenotipte olmayıp düz kas aktini veya S-100 eksprese etmezler. Fokal, kuvvetli androjen reseptör immünreaktivitesi gösterirler (5).
- 3- **Nöroendokrin hücreler:** Prostat epitelinde en az rastlanan hücre tipi olup rutin H&E boyalı kesitlerde genellikle idantifiye edilemezler (41,46). Bu hücrelerin fonksiyonları bilinmese de diğer organlardaki nöroendokrin hücrelere benzer şekilde, büyüme ve gelişmede endokrin-parakrin düzenleyici rol oynarlar. Formalin ile fikse edilmiş kesitlerde, serotonin ve kromogranin, nöroendokrin hücrelerin en iyi immünohistokimyasal işaretleyicileridir (41). Serotonin, kalsitonin ve bombesin gibi çeşitli peptid hormonlarını içerirler (43). PSA eksprese ederler. Androjen reseptörü negatiftirler (5).

Büyük prostatik duktuslar, prostatik üretra gibi transizyonel epitel ile döşelidir. Mesane epitelinin aksine yüzeyde “umbrella” hücreleri bulunmaz. Ancak PSA ve PAP immünreaktif tek katlı kolumnar hücreler bulunur. Bu epitelde skuamöz metaplazi olabilir (5).

Laminer yoğunlaşmalar şeklinde görülen korpora amilasea sıklıkla prostatik glandlarda bulunur ve ileri yaşla birlikte prevelansı artar. Erkeklerin %25'inde 3-5. dekad gibi erken yaşlarda da görülebilir. Dökülmüş ve dejenere epitelyal hücre artıkları ile ilgili olduğu düşünülmektedir.

Karakteristik olarak vaz deferens, veziküla seminalis ve ejakülatuar duktuslarda bulunan lipofuskin pigmentinin prostatik epitelde de olduğu tanımlandı. Prostatik epitelyal hücrelerin sitoplazmasında granüler, altın sarısı renginde görülür. Pigment PAS, Masson Fontana ve modifiye Ziehl-Neelsen gibi özel boyalarla gösterilebilir.

Prostatik duktus ve asinüsler, zemin maddesi ve kollajen matriks içinde gömülü düz kas hücreleri, fibroblastlar ve indifferansiye spindle hücreler içeren stroma ile çevrilidir. Prostatik kapsül ve bu matrikste elastin lifler bulunabilir. Özellikle anterior fibromusküler stroma ve apekte olmak üzere prostatta çizgili kas da bulunur (39).

FİZYOLOJİ

Prostatik ekzokrin sekresyon seminal sıvının önemli bir komponentidir. Ejakülasyon yokluğunda bile bazal prostatik sıvı akışı vardır. Günde 0,5-2 ml sekret oluşur ve ejakülasyon esnasında 0,5-1 ml sekret daha ilave olur. Prostatik sekresyon kısmen apokrin natürdedir. Sekreti oluşturan komponentler arasında asit fosfataz ve sitrik asit bulunur. Fibrinolizin, fibrinogenaz ve aminopeptidazı içeren bir miktar proteolitik enzim de tespit edilmiştir. Bu enzimler semenin likefaksiyonunu sağlar. Ayrıca prostoglandin F2 α , prostat epitelinde üretilir. İn vitro prostaglandin F2 α testosteron bağlanmasını artırır ve c-AMP bağımlı sekresyonu stimüle eder. Fibromusküler stromanın motilitesinin artmasıyla asiner sıvının sekresyonu ve seminal havuza girişi sağlanır. Prostatik sekresyon, sempatik ve parasempatik stimülasyon ile kontrol edilir (39).

PROSTAT TÜMÖRLERİNİN SINIFLANDIRMASI (WHO 2004)

Epitelyal Tümörler

Glandüler neoplazmlar

Adenokarsinom (Asiner)

Atrofik

Ps dohiperplastik

K p ks 

Kolloid

Taşlı yüzük hücreli

Onkositik

Lenfoepitelyoma benzeri

Spindle hücre differansiasyonu gösteren karsinoma

(Karsinosarkom, sarkomatoid karsinom)

Prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN)

Prostatik intraepitelyal neoplazi, grade III (PIN III)

Duktal Adenokarsinom

Kribriform

Papiller

Solid

Ürotelyal tümörler

Ürotelyal karsinom

Skvam z tümörler

Adenoskuamöz karsinom

Skvam z hücreli karsinom

Bazal hücreli tümörler

Bazal hücreli adenom

Bazal hücreli karsinom

Nöroendokrin tümörler

Endokrin differansiasyon gösteren adenokarsinom

Karsinoid tümör

Küçük hücreli karsinom

Paraganglioma

Nöroblastom

Prostatik stromal tümörler

Malign potansiyeli belirlenemeyen stromal tümör

Stromal karsinom

Mezenkimal tümörler

Leiomyosarkom

Rabdomyosarkom

Kondrosarkom

Anjiosarkom

Malign fibröz histiositom

Malign periferik sinir kılıfı tümörü

Hemanjiom

Kondrom

Leiomyom

Granüler hücreli tümör

Hemanjioperistom

Soliter fibröz tümör

Hematolenfoid tümörler

Lenfoma

Lösemi

Diğer tümörleri

Kistadenom

Nefroblastom (Wilms tümörü)

Rabdoid tümör

Germ hücreli tümörler

Yolk sak tümörü

Seminom

Embriyonal karsinom ve teratom

Koryokarsinom

Berrak hücreli adenokarsinom

Melanom

Metastatik tümörler

ADENOKARSİNOM

Prostat kanserleri iki ana gruba ayrılır.

- 1- Periferik duktus ve asinüslerin adenokarsinomu (sekonder)
- 2- Büyük duktusların karsinomu (primer)

Morfolojik ayrım klasik olarak iki tümörün farklı orijin yeri temel alınarak yapılır ve her iki patern sıklıkla bir arada görülür. Tümörlerin çoğu birinci gruptadır ve grade, evre, prognoz ve tedavi konusundaki çalışmaların çoğunda bu gruptaki kanserler referans alınır (5).

ASİNER ADENOKARSİNOM

EPİDEMİYOLOJİ VE KLİNİK

Prostat kanseri erkeklerde görülen en sık kanserdir ve erkeklerde kanser ile ilişkili ölümlerin önemli nedenlerinden biridir (2,4). Adenokarsinom, prostatın en sık malignitesidir (4). Erkeklerde tüm malign tümörlerin %25'ini, kanserden ölümlerin %10'unu oluşturur (2). Erkeklerde akciğer kanserinden sonra ikinci en sık ölüm nedenidir (1). Sıklığı yaşla birlikte artış gösterir (5). Genellikle altıncı ve sekizinci dekadlar arasında görülür. 50 yaş altında nadiren saptanır (47).

Prostat kanserinin insidansı ırklar arasında oldukça değişkendir. ABD, Avustralya ve İskandinav ülkelerinde insidansı çok yüksektir. Avrupa'daki insidansı değişkendir. Kuzey ve Batı Avrupa ülkelerinde insidansı yüksek iken, Doğu ve Güney Avrupa ülkelerinde düşüktür. Prostat kanseri Asya popülasyonunda nispeten nadirdir (3).

Prostat kanserinin spesifik semptomları yoktur. Ancak nodüler hiperplaziyi taklit eden alt üriner sistem semptomlarına neden olabilir (41). Erken prostat kanseri

tespitinde, parmakla rektal muayene, transrektal ultrasonografi ve serum PSA değerinin birlikte değerlendirilmesi önemlidir (5).

Asiner adenokarsinoma, prostatın epitelyal malignitelerinin %90'ından fazlasını oluşturur (4). Kanserlerin yaklaşık %68'i periferik zon, %24' transizyonel zon ve %8'i santral zondan köken alır (48).

ETYOLOJİ

Prostat kanserinin başlangıcına ve ilerlemesine yol açan spesifik nedenler henüz tam olarak bilinmemekle beraber, genetik ve çevresel faktörlerin, hastalığın gelişiminde önemli rol oynadığına dair önemli kanıtlar bulunmaktadır (44,47,49). Klasik ve moleküler epidemiyolojik çalışmalar, prostat kanserinin gelişimi ile ilgili bir takım potansiyel risk faktörlerini belirlemiştir (49).

İnsidansı düşük olan bölgelerden, insidansı yüksek olan bölgelere göç eden popülasyonda hastalığın artış eğilimi göstermesi, etyolojide çevresel faktörlerin rolü olduğunu desteklemektedir (44,50). Kırmızı etten zengin diyetin, alınan yağ miktarından bağımsız olarak kanser riskini arttırdığı söylenmektedir (35).

Yüksek miktarda kadmiyuma ve diğer ağır metallere maruz kalma, prostat kanseri için bir risk faktörü olabilir. Bu nedenle, kauçuk, tekstil, gemi sanayi işçileri ve boyacılar prostat kanseri açısından normalden daha yüksek risk altındadır (35).

Androjenlerin prostat kanseri patogenezinde rol oynadığına inanılmaktadır (44,51). Androjen stimlasyonunun azalmasının kanser gelişimini önleyeceği düşünülmektedir (51).

GENETİK

Prostat kanserinin genetiği ve moleküler patogenezi üzerinde çok durulmuştur. Amerikalı beyaz erkeklerin yaklaşık %10'unda prostat kanseri gelişimi, prostat kanserine yatkınlık oluşturan genlerin germ-line kalıtımına bağlanmıştır. Bu ailesel olguların üçte birinde bu gen kromozom 1q24-25'te haritalanmıştır. Sonradan çok sayıda başka kromozom alanlarının da prostat kanseri ile bağlantılı olabileceği belirtilmiştir.

Prostat kanseri, ailesel geçiş açısından meme ve kolorektal kanserlere benzemektedir (35). Prostat kanseri gelişme riski etkilenen akrabaların sayısı ve onların teşhis anındaki yaşı ile ilişkilidir. Birinci derecede bir akrabasında prostat kanseri olan erkeklerde risk, aile öyküsü olmayanlara göre 2 kat fazla iken, iki akrabasında prostat kanseri olanlarda 5 kat fazladır. Kuvvetli prostat kanseri aile öyküsü olan erkeklerde hastalık daha erken yaşlarda gelişme eğilimindedir (44,47,49).

Ayrıca kromozom 8q, 10q, 13q ve 16q'da prostat karsinogenezinde erken dönemde kaybolan kanser baskılayıcı genler saptanmıştır. Primer prostat kanserinde p53 mutasyonları nispeten düşüktür ve prostat karsinogenezinde geç dönemde geliştiğini düşündürecek şekilde daha çok metastatik hastalıkta gözlenir. Prostat kanserinde rol oynadığı düşünülen diğer tümör baskılayıcı genler PTEN ve K35'dir. Prostat kanseri ayrıca nispeten sık E-kaderin ve CD44 kaybı gösterir (44).

MAKROSKOPİ

Radikal prostatektomi spesmeninde, makroskopik olarak adenokarsinomun tanınması genellikle zordur. Kesin tanı için mikroskopik inceleme gerekir. Adenokarsinom periferik zonu tercih eder ve multifokal olma eğilimindedir. Makroskopik olarak bazı tümörler sarı granüler kitle olarak görülür (41).

HİSTOPATOLOJİ

Prostat adenokarsinomu, normal glandlardan ayrımı oldukça zor olan iyi diferansiye tümörden, prostatik kökeni tanınmanın zor olduğu az diferansiye tümörlere kadar değişen geniş bir histolojik spektrum gösterir. Bütün prostat kanserleri bazal hücre tabakası olmadan tek hücre tipinden oluşur (3). Çoğu prostat adenokarsinomu, bir veya daha fazla patern oluşturan asinüslerden meydana gelir. Tanı yapısal ve sitolojik bulguların kombinasyonuna bağlıdır. Işık mikroskopunda görülen özellikler tanı için genellikle yeterlidir. Fakat nadir olgularda immünhistokimyasal inceleme yararlı olabilir (41,52).

Yapısal Özellikler

Küçük veya orta büyütmede asinüslerin boyutu, şekli ve aralığı değerlendirilir. Asinüslerin dizilimi tanısaldır ve Gleason gradelemesinin temelini oluşturur (52). Adenokarsinomda glandlar tipik olarak gelişigüzel şekilde büyür. İnfiltratif sürecin bir göstergesi olarak glandlar birbirine dik olarak yerleşir ve düz kas demetleri ile düzensiz olarak ayrılır. İnfiltratif yapının diğer bir paterni büyük benign glandların arasında küçük atipik glandların yerleşmiş olmasıdır. Glandüler diferansiasyon kaybı, kribriform şekil oluşumu, birleşmiş glandlar, şekli bozulmuş gland yapıları ile benign glandlar arasındaki ayırım, yapısal paterne dayalı olarak daha belirgin hale gelir. İndiferansiye prostat kanseri ise solid adalar, hücre kordonları veya izole tek tek hücrelerle karakterizedir. Prostat kanserini gradelemede, bu yapısal paternler ana unsurdur (3).

Prostat kanserinde bazal hücre tabakası yoktur. Bu önemli bir diagnostik özellik olup rutin doku kesitlerinde değerlendirmek her zaman kolay değildir (52).

Nükleer Özellikler

Prostat kanserinde nükleuslar, benign prostatik epitelden ayırt edilemeyenden, aşikar malign olanlara kadar değişkenlik gösterir. Tipik olarak nükleer atipinin derecesi yapısal diferansiasyonun derecesi ile uyumludur. Çoğu prostat kanserinde malign glandlar, çevre benign glandlarla karşılaştırıldığında sitolojik olarak farklılık gösterir (3). Her tümörde görülme de nükleer büyüme, düzensiz nükleer sınır ve belirgin nükleol sık izlenen bulgularıdır (3,5,47). İrileşmiş ve hiperkromatik olmalarına rağmen bazı neoplastik nükleuslarda nükleol belirginliği izlenmez. Mitoz yüksek gradeli kanserlerde nispeten sık olsa da düşük gradeli tümörlerde nadiren gözlenir (3).

Sitoplazmik Özellikler

Tümöral gland benzeri oluşumlarda sitoplazmada, luminal kenar düz ve keskin olup dalgalı ve girintili-çukurlu bir görünüm yoktur. Aksine eşit ölçülerdeki benign glandlar, küçük papiller katlantılar oluşturduğundan düzensiz bir luminal kenara sahiptir. Apikal çıkıntılar benign ve malign glandların her ikisinde de izlendiğinden ayırıcıda yararlı değildir. Düşük grade'li adenokarsinomun sitoplazmik özellikleri genellikle çok belirgin değildir ve benign glandlara benzer şekilde soluk-berrak görünür. Neoplastik glandlar amfofilik sitoplazma içerebilir ve bu sitoplazmik özellik görüldüğünde malignensi için yararlı diagnostik bir kriter olarak kullanılabilir (3).

İntraluminal Özellikler

Kristalloidler, sık olarak düşük gradeli prostat kanserlerinde görülür (3, 4,41,47,52). Bu yoğun eozinofilik kristal benzeri yapılar çeşitli geometrik şekillerde olabilir. Benign glandlardan çok daha sık olarak kanserde izlenen kristalloidler kanser için diagnostik değildir (3,52). Kristalloidler, özellikle adenokarsinoma komşu atipik

adenomatöz hiperplazi, prostatik intraepitelyal neoplazi ve benign glandlarda da bulunabilir (4,47).

İntraluminal pembe asellüler yoğun sekresyon veya hafif mavi müsinöz sekresyonlar H&E boyalı kesitlerde görülür. Bu özellikler kanserde, özellikle de düşük gradeli adenokarsinomda görülür (3). Aksine iyi sınırlı, yuvarlak veya oval şekilli, konsantrik lameller halkalardan oluşan korpora amilasea, benign glandlarda yaygın iken prostat kanserinde nadiren görülür (3,47,52).

Stromal Özellikler

Klasik asiner adenokarsinomda dezmoplastik veya miksoid stromal yanıt yoktur, bu yüzden prostat kanserinde stromanın değerlendirilmesinin pek yararı yoktur. Ayrıca prostat kanseri stromal inflamatuvar yanıt oluşturmaz (3).

Maligniteye Spesifik Özellikler

Prostatik glandların ekstraprostatik alanda görülmesi dışında benign prostat glandlarında izlenmeyen üç özellik vardır ki kanser için diagnostiktir. Bu özellikler: 1-Perinöral invazyon , 2- Kollajenöz mikronodüller, 3- Glomerülasyonlar (3,4,47)

1- Perinöral invazyon: Adenokarsinomda yaygındır (5,41). Benign glandların perinöral indentasyonları bildirilse de bu glandlar çevre non-neoplastik glandlarla aynı histolojik özelliklere sahip olup siniri tamamen çevrelemekten ziyade sinirin bir köşesinde izlenir. Sinirin çevresini tamamen kuşatan invazyon karsinomda görülür (3,40).

2- Kollajenöz mikronodüller (müsinöz fibroplazi): Prostat adenokarsinomunun spesifik fakat seyrek ve insidental bulgusudur (41,52). Kollajenöz mikronodül, neoplastik asinüslerin komşuluğunda veya içinde yuvarlak, yoğun, hyalin benzeri materyal şeklinde görülür (47).

- 3- Glomerülasyonlar:** Kribriform proliferasyon gösteren glandlardan oluşur. Bu proliferasyon yapı glandın sadece bir kenarına tutunur (3,4). Glandlar yüzeysel olarak glomerüle benzer (3).

GLEASON GRADELEME SİSTEMİ

Literatürde, prostat kanseri için çok sayıda gradeleme sistemi sunulmasına rağmen sadece Gleason sistemi yaygın olarak kullanılmaktadır (3,4,44,53,54,55,56). Gleason gradeleme sistemi glandüler yapı üzerine kuruludur, nükleer atipi değerlendirilmez. Gleason gradeleme sistemi 5 histolojik paternden veya diferansiasyonu giderek azalan gradelerden oluşmaktadır (3,40,54,55). Prostat kanseri gradelenirken ilk olarak, x4 veya x10 lensler kullanılarak küçük büyütmede incelenmelidir. İlk değerlendirmeden sonra gradenin doğrulanması için x20 lenslerle incelemeye devam edilebilir (53). Normal prostat epiteli lümen etrafına dizilmiş olarak izlenir. Patern 1-3'de tüm glandlarda, lümenal diferansiasyona eşlik eden epitel polaritesi izlenmektedir. Patern 4'de normal polaritenin kısmi kaybı mevcuttur ve patern 5'de sadece çok nadir lümenal diferansiasyon dışında neredeyse tümüyle polarite kaybı gözlenir. Prostat kanserinde belirgin morfolojik heterojenite ve genellikle bir histolojik paternden daha fazla patern izlenir (3,54). Primer patern en yaygın, sekonder patern de ikinci yaygın paterndir. Primer ve sekonder paternler toplanır ve bir Gleason skoru veya toplamı elde edilir. Tavsiye edilen primer, sekonder paternlerin ve skorun birlikte rapor edilmesidir. Eğer tümörün sadece bir paterni var ise paternin iki katı hesaplanır (3,5,40,41,44,54,56). Gleason skorları genellikle biyolojik davranışları benzer gruplara ayrılır: 2-4 arası düşük gradeli, 5-6 intermediate gradeli, 7 yüksek intermediate gradeli ve 8-10 yüksek gradeli tümörü temsil eder (44). Gleason skor 2 ve 3 çok nadir görülür çünkü Gleason patern 1 çok nadirdir. Gleason skor 4'de sık değildir, çünkü patern 2 sıklıkla patern 3 ile birlikte, Gleason skor 5 olarak bulunur. Gleason skor 2-4 tümörler, transüretal prostat rezeksiyon (TURP) materyali örneklerinde transizyonel zonda görülür (3,40). İğne biyopsi materyalinde tavsiye edilen, Gleason 2-4'ün değerlendirilmemesidir (3,4,40,52,53,54). Mutlaka uzman konsültasyonu gereklidir (4,53). Gleason skor 6 ve 7 en sık görülen skorlar olup pek çok çalışmadaki tümörlerin büyük çoğunluğunu oluştururlar (3).

ISUP grubunun konsensusuna göre iğne biyopsilerinde primer paterni yüksek gradeli tümörlerde, sekonder patern düşük gradeli ise ve tüm tümörün %5'inden azını kaplıyorsa sekonder patern ihmal edilmelidir. Örneğin %100'ü kanserle tutulmuş iğne biyosisi korunda %98 Gleason patern 4 ve %2 Gleason patern 3 görülüyorsa Gleason skor $4+4=8$ tanısı verilmelidir. Bu %5 “cut off” kuralı TURP ve radikal prostatektomi spesmenlerindeki düşük gradeli kanserlerde kullanılmaz.

ISUP grubuna göre, iğne biyopsisinde küçük veya orta büyütmeye tanınacak uzunlukta yüksek gradeli tümör varsa mutlaka Gleason skorunda yer almalıdır. Tamamı tümörle tutulmuş iğne biyopsisinde, tümörün %98'i Gleason patern 3 ve %2'si Gleason patern 4 ise Gleason skoru $3+4=7$ olarak verilmelidir. Eğer radikal prostatektomi materyalinde tümörün %98'i Gleason patern 3 ve %2'si Gleason patern 4 ise Gleason skorunun nasıl hesaplanacağı yönünde grupta ortak görüşe varılamamıştır.

Tümör dokusunda üçüncü yaygın patern tersiyer patern olarak isimlendirilir. Eğer iğne biyopsisinde tersiyer patern varsa ve yüksek gradeli ise; en yaygın patern ve en yüksek gradeli patern toplanarak Gleason skoru hesaplanır. Örneğin tümör dokusunda primer patern 3, sekonder patern 4 ise ve tersiyer patern olarak da patern 5 var ise Gleason skor $3+5=8$ olarak raporda belirtilmelidir. Radikal prostatektomilerde yüksek gradeli tersiyer patern varsa; ISUP grubunun ortak kararına göre Gleason skor primer ve sekonder paternlerin toplanması ile hesaplanmalı, tersiyer patern de notta belirtilmelidir (53).

Gleason patern 1: Gleason patern 1 oldukça nadirdir (3,41). Komşu benign prostat dokusunu infiltre etmeyen, sıkıca paketlenmiş glandlardan oluşan iyi sınırlı nodül şeklindedir. Glandlar orta boyutta ve yaklaşık birbirlerine şekil ve boyut olarak eşittirler (3,4,54).

Gleason patern 2: Çevreden düzgün sınırlarla ayrılan yuvarlak veya oval glandlardan oluşur. Daha gevşek dizilişli olup glandlar patern 1'deki kadar uniform değildirler, orta boyuttadırlar, Gleason patern 3'den büyüktürler (3,41). Aradaki stroma

patern 1'den daha fazla, ancak patern 3'den daha azdır (4). Çevre non-neoplastik prostat dokusuna minimal invazyon olabilir (3).

Gleason patern 3: En sık görülen paternidir. Neoplastik glandlar non-neoplastik glandların arasına infiltrasyon gösterir. Bu glandların boyut ve şekillerinde farklılıklar vardır. Her glandın açık bir lümeni vardır ve stroma ile çevrelenmiştir (3). 2005 ISUP konsensus paneli, kribriform patern 3 tanısına son derecede bağlayıcı kriterler getirdi. Kribriform patern 3 için, normal glandlarla aynı boyutta, düzgün sınırlı, yuvarlak gland olma kriterlerini kullandı. ISUP konsensusuna göre kribriform paternlerin çoğu Gleason patern 4 olarak tanı almalıdır. Sadece nadir kribriform lezyonlar, kribriform patern 3 diagnostik kriterlerini karşılamaktadır (53).

Gleason patern 4: Lüminal diferansiasyonda parsiyel kayıp vardır (54). Patern 4 infiltratif kordonlar ve küçük birleşmiş glandları içerir (4,41). Büyük papiller yapı halinde veya kribriform paternde glandüler proliferasyon olabilir (4). Çoğu kribriform invaziv kanserler patern 3 yerine patern 4 olarak değerlendirilirler. Gleason patern 4'ün hipernefromatoid paterni berrak veya soluk sitoplazmalı nadir bir varyanttır (3,53).

Gleason Patern 5: Glandüler lümen hemen hemen tamamen kaybolmuştur. Solid tabakalar, kordonlar veya stromayı infiltre eden tek tek hücrelerden oluşmaktadır (3). Eğer gerçek komedonekroz var ise bu patern Gleason patern 5 olarak kabul edilmelidir (53).

HİSTOLOJİK VARYANLARI

ATROFİK VARYANT: Çoğu prostat karsinomu geniş sitoplazmalıdır. Prostat kanserinin bu sık rastlanmayan varyantı, içerdiği dar sitoplazma nedeniyle benign atrofiyi andırır. Atrofik prostat kanserinde, büyük benign glandlar arasında infiltratif gelişim paterni gösteren küçük atrofik glandlar izlenebilir. Benign atrofide ise buna ters olarak lobüler konfigürasyon vardır. Atrofik prostat kanseri, benign atrofiden belirgin sitolojik atipi varlığı ile ayırtedilebilir (3).

PSÖDOHİPERPLASTİK VARYANT: Neoplastik glandlar geniş dallanmalar ve papiller çıkıntılar içeren benign prostat glandlarına benzer. Sitolojik atipi benign glandlardan ayırmada yardımcı olur (3). ISUP toplantısında, psödohiperplastik kanserin Gleason skor 3+3=6 olarak değerlendirilmesine karar verildi (53).

KÖPÜKSÜ GLAND VARYANT: Bol köpüksü sitoplazma ve düşük nükleer/sitoplazmik oran gösteren asiner adenokarsinom varyantıdır. Sitoplazma, ksantomatöz görünümüne rağmen lipid içermez, boş vakuoller izlenir. Adenokarsinomun tipik sitolojik özellikleri nükleer irileşme ve belirgin nükleol sıklıkla yoktur. Bu durum lezyonun özellikle biyopsi materyalinde, karsinom olarak tanınmasını güçleştirir. Çoğu olguda köpüksü gland varyant, asiner adenokarsinoma eşlik eder (3). Tüm Gleason gradelerinde olabilir. ISUP panelinde, yapısal paternine göre gradelenmesini öneriyor (53,54).

MÜSİNÖZ (KOLLOİD) KARSİNOM: Diğer organların müsinöz karsinomları için geliştirilen kriterler prostat glandının müsinöz adenokarsinomunun tanısında da kullanılır (3). Hemen her zaman konvansiyonel prostat kanseri ile birlikte bulunur (54). Rezeke edilen tümörün en az %25'i ekstrasellüler müsin gölcükleri içermelidir (3,5,41,54). ISUP'a göre bu patern Gleason grade 4 olarak belirtilmelidir (53,54).

TAŞLI YÜZÜK HÜCRELİ KARSİNOM: Prostat taşlı yüzük hücreli karsinomu nadirdir (4,41). Oldukça agresif olup, solid, asiner veya "indian file" patern gösterir. Taşlı yüzük görünümü, intrasellüler müsin birikimi sonucu oluşur (5). Kötü prognozludur (4).

ONKOSİTİK VARYANT: Prostat adenokarsinomu nadiren, diffüz, geniş eozinofilik, granüler sitoplazmalı hücrelerden oluşur. Tümör hücreleri yuvarlak-oval nükleusludur. Ultrastrüktürel olarak sayısız mitokondri içerir. PSA ile immünoreaktivite gösterir (3).

LENFOEPİTELYOMA BENZERİ VARYANT: Bu indifferansiye karsinom yoğun lenfositik infiltrat ile birlikte malign epitelyal hücrelerin sinsityal paterni ile karakterizedir. Malign epitelyal hücreler PSA pozitifdir. Klinik önemi belirsizdir (3).

SARKOMATOİD VARYANT (KARSİNOSARKOM): Literatürde bu tümörlerin isimlendirilmesi ve histogenezi konuları oldukça tartışmalıdır (3). Prostatın sarkomatoid karsinomu, hem malign epitelyal komponent hem de malign iğsi hücreler ve/veya mezenkimal elemanlardan oluşan bir neoplazidir (3,41). Sarkomatoid karsinom çeşitli Gleason skorları gösteren glandüler komponentten oluşmuştur. Sarkomatoid komponent sıklıkla nonspesifik malign iğsi-hücre proliferasyonundan oluşur. Spesifik mezenkimal elemanlar olarak osteosarkom, kondrosarkom, rabdomyosarkom, leiomyosarkom, liposarkom ve anjiosarkom görülebilir. Bazen de birden fazla heterolog diferansiasyon gösterebilirler. Tanı sırasında nodal ve uzak organ metastazları sıktır. 5 yıllık sağkalım %40'dan azdır (3).

DUKTAL ADENOKARSİNOMA

Yüksek psödostratifiye kolumnar hücrelerle döşeli büyük glandlardan oluşan adenokarsinom subtipidir (3). İlk kez 1967 yılında Melikow ve Pachter tarafından histolojik olarak endometrium karsinomuna benzerliğinden dolayı “endometrioid adenokarsinom” olarak tanımlanmıştır (4,57). Başlangıçta Müllerian kökenli prostatik utrikülden kaynaklandığı ileri sürülse de birçok çalışma prostatik orijini göstermiştir (3,4,57). Adenokarsinomların yaklaşık %1'ini oluşturur (57). Konvansiyonel adenokarsinomun tersine hematüri ve üriner obstrüksiyon semptomları görülür. Büyük, primer periüretral prostatik duktuslardan kaynaklandığında, üretranın içine doğru ekzofitik lezyon olarak büyüyebilir, çoğu verumontanumun içinde veya çevresindedir. Sitolojik olarak uzun, psödostratifiye, genellikle amfofilik, bazen soluk veya berrak, bol sitoplazmalı hücrelerle karakterizedir (3,57). Bazı olgularda çok sayıda mitoz ve belirgin sitolojik atipi izlenir. Diğer olgularda ise atipi minimal olup özellikle iğne

biopsilerinde tanıda güçlük yaratır (3). Histolojik olarak iki tip patern gösterir. Üretra içine ekzofitik olarak büyüyenler sıklıkla papillerdir (57). Periferde lokalize tümörlerde asiner adenokarsinomadaki gibi kribriform, glandüler veya solid paternler sıklıkla bir arada görülür (3). Duktal adenokarsinom değişmez biçimde PSA ve PAP ile yoğun sitoplazmik immunoreaktivite, karsinoembriyonik antijen (CEA) ile zayıf pozitiflik gösterir (3,57). Tümör dokusunda bazal tabaka markırı olan 34βE12 ile boyanma gözlenmez (3). ISUP konsensusuna göre duktal adenokarsinoma Gleason skor 4+4=8 olarak gradelenmelidir. Mikst duktal ve asiner paternler bir arada görüldüğünde duktal patern, Gleason patern 4 olarak gradelenmelidir (53).

İMMÜNHİSTOKİMYA

Prostat epiteli PAP ve PSA ile boyanır. Bu markırlar benign-malign ayırımında yararlı olmasa da metastatik tümörlerde prostatik orijini belirlemede faydalıdır. Diğer bir prostat ile ilişkili markır olan prostat spesifik membran antijen (PSMA), adenokarsinomların bütün tiplerinde eksprese edilir. PSMA non-neoplastik prostat glandininde boyar ancak yüksek gradeli PIN ve adenokarsinoma doğru gittikçe PSMA ekspresyonunda artış izlenir.

Prostat kanseri hücreleri, düşük molekül ağırlıklı sitokeratin eksprese eder. Ürotelyal karsinomun tersine, nadiren sitokeratin 7 ve sitokeratin 20 ile boyanırlar. Leu7, epitelyal membran antijen (EMA), CEA, 92.3, katepsinD, glikoprotein A-80, Paratiroid hormon-ilşkili protein ve gastrik asit proteinaz gastriksin ile boyanma gözlenir (5).

Özellikle zor vakalarda, immünhistokimya önemli bir yardımcıdır. Yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin (34βE12 klonu), sitokeratin 5/6 veya p63 bazal hücre tabakasını boyar. 34βE12 ve p63'ün her ikisi de bazal hücreler için oldukça spesifik olup kanser alanlarında boyanma gözlenmez. Özellikle TURP materyallerinde bazal hücrelerin gösterilmesinde p63, 34βE12'ye göre daha sensitiftir. "Alpha-methylacetyl-CoA-racemase (AMACR/P505S) boyanması da tanıda yardımcıdır. Prostat

kanserlerinde, tümör markırı olarak yeni bulunan AMACR, tümör hücrelerini boyar (4). AMACR kanserde her zaman bulunmaz ve atipik adenomatöz hiperplazi ve PIN'de de eksprese edilebilir (5). Bu nedenle özellikle zorlu iğne biyopsilerinde bazal hücre markırları ile birlikte kullanılması önerilir (4). AMACR iğne biyopsilerinde küçük tümör odağını tespit etmede ve köpüksü gland veya psödohiperplastik gibi nispeten zor tiplerin tanısını desteklemede yararlıdır (5).

PROSTAT ADENOKARSİNOMLARININ EVRELENMESİ

Prostat kanserinde evreleme uygun tedavi şeklini seçmede önemlidir. En sık kullanılan evreleme TNM sistemidir.

TNM SINIFLAMASI (2002)

Primer Tümör (T)

Klinik

Tx: Primer tümör değerlendirilemiyor

T0: Primer tümör bulgusu yok

T1: Görüntüleme yöntemi ile görülmeyen, palpe edilemeyen, klinik olarak değerlendirilemeyen tümör

T1a: Tümör rezeke edilen dokunun %5 veya daha azında, insidental olarak tespit edilir

T1b: Tümör rezeke edilen dokunun %5'inden fazlasında insidental olarak tespit edilir

T1c: Tümör iğne biopsisi ile tespit edilir (Yükselmiş PSA nedeniyle)

T2: Tümör prostat içinde sınırlı*

T2a: Bir lobun yarısı veya daha azını tutmuş

T2b: Bir lobun yarısından daha fazlasını tutmuş, ancak her iki lobda değil

T2c: Her iki lobu tutmuş

T3: Tümörün prostat dışına yayılması**

T3a: Ekstrakapsüler yayılım (unilateral veya bilateral)

T3b: Veziküla seminalis yayılımı

T4: Tümör veziküla seminalisden başka diğer komşu organlara; mesane boynu, eksternal sfinkter, rektum, levator kaslar ve/ veya pelvik duvara invaze veya fikse

NOTLAR

*Palpable olmayan veya görüntüleme yöntemleri ile görülmeyen, iğne biyopsisinde bir veya her iki lobda görülen tümör T1c olarak sınıflandırılır.

**Prostat apeksine veya prostatik kapsüle (ancak ötesine değil) invazyon varlığında T3 olarak değil, T2 olarak sınıflandırılır.

N- BÖLGESEL LENF NODLARI

NX: Bölgesel lenf nodu değerlendirilememektedir

N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yoktur

N1: Bölgesel lenf nodu metastazı

M- UZAK METASTAZLAR

MX: Uzak metastaz değerlendirilemedi

M0: Uzak metastaz yoktur

M1: Uzak metastaz mevcut

M1a Bölgesel olmayan lenf düğümü(leri)

M1b Kemik(ler)

M1c Diğer bölge(ler)

Tablo 1. G HİSTOPATOLOJİK DERECELENDİRME

GX	Grade değeriendirilemedi
G1	İyi diferansiye (Gleason 2-4)
G2	Orta derecede diferansiye (Gleason 5-6)
G3-4	Az diferansiye (Gleason 7-10)

Tablo 2. EVRELERİ GRUPLANDIRMA

Evre I	T1a	N0	M0	G1
Evre II	T1a	N0	M0	G2,3-4
	T1b,c	N0	M0	G'lerden herhangi biri
	T1,T2	N0	M0	G'lerden herhangi biri
Evre III	T3	N0	M0	G'lerden herhangi biri
Evre IV	T4	N0	M0	G'lerden herhangi biri
	T'lerden herhangi biri	N1	M0	G'lerden herhangi biri
	T'lerden herhangi biri	N'lerden herhangi biri	M1	G'lerden herhangi biri

Patolojik (pT)

pT2*: Organa sınırlı

pT2a: Unilateral, bir lobun yarısı veya daha azını tutar

pT2b: Unilateral, bir yarısından fazlasını tutar

pT2c: Bilateral hastalık

pT3: Ekstraprostatik yayılım

pT3a: Ekstraprostatik yayılım**

pT3b: Vezikula seminalis invazyonu

pT4: Mesane, rektum invazyonu

*Patolojik T1 sınıflandırması yoktur.

**Pozitif cerrahi sınır, rezidüel mikroskopik hastalık ile gösterilmelidir.

TEDAVİ

Prostat kanseri cerrahi, radyoterapi ve hormonal yöntemler ile tedavi edilir. Bu yöntemlerden herhangi biri ile tedavi edilen olguların %90'ından fazlasının 15 yıl yaşaması beklenir. Şu anda lokalize prostat kanserinde en fazla uygulanan tedavi radikal prostatektomidir. Radikal prostatektomi sonrası prognoz, patolojik evre, cerrahi sınır durumu ve Gleason skoruna bağlıdır. Lokalize prostat kanseri için alternatif tedavi seçeneği radyoterapidir. Bazı genç erkeklerde, eğer serum PSA değeri düşük, biyopside düşük gradeli, sınırlı kanser varsa, dikkatlice izleyerek beklemek tedavi seçeneği olabilir. Endokrin tedavi, ilerlemiş metastatik karsinomlarda başlıca tedavi şeklidir. Endokrin tedavide amaç, tümör hücrelerinin testosterondan yoksun bırakılmasıdır (44).

PROGNOZ

- 1- Evre: Prostat kanserinin klinik ve patolojik evrelemesi için en sık TNM sistemi kullanılmaktadır (56). Patolojik evre tümörün gerçek hacmini gösterir. Prognozda halen en doğru önceden tahmin edilebilir değerdir. Prognoz ve evreyi belirleyen, prostat kapsülü, vezikula seminalis ve lenf nodu gibi her bir faktör evre ile ilişkilidir. Prostat kapsülüne tümör invazyonunun derecesi ve grade ile tümör rekürrens oranı arasında ilişki vardır (5). Nodal metastazı olan olgularda, multipl metastazı olanlarda, daha büyük tümör volümü olanlarda ve ekstrakapsüler yayılımı olanlarda prognoz daha kötüdür (5,56).
- 2- Mikroskopik grade: Klinik veya patolojik evre ile mikroskopik grade arasında doğrudan doğruya korelasyon vardır (5). Gleason gradeleme sistemi en yaygın kullanılan sistem olup hasta tedavisini ve prognozunu belirlemede etkili gradelemedir. Gleason skoru 2-4 düşük, Gleason skoru 8-10 yüksek maligniteyi gösterir (56).
- 3- Cerrahi sınır: Prostat kanserlerinde pozitif cerrahi sınır progresyon ile korelasyon gösterir (5). Cheng ve arkadaşları yaptıkları çalışmada vezikula seminalis invazyonu ve lenf nodu metastazı olmadan cerrahi sınır durumu ve DNA ploidisinin prostat kanserinin progresyonunu tahmin etmede faydalı olduğunu gösterdiler. Ayrıca cerrahi sınır pozitifliği ve ekstraprostatik yayılım arasında anlamlı ilişki olduğunu belirttiler. Hem pozitif cerrahi sınır hem de ekstraprostatik yayılım olan olgularda, bu iki parametreden herhangi biri olana göre progresyon riskinin daha yüksek olduğunu buldular (57).
- 4- Tümör hacmi: Kanser hacmi, prostat kanserinin agresif gidişi ile yakından ilişkilidir (57). Tümör hacmi Gleason skoru, kapsül penetrasyonu,

rezeksiyonun kapsül sınırı, vezikula seminalis invazyonu ve lenf nodu metastazı ile korelasyon gösterir (5,57).

- 5- Yaş: 35 yaşın altındaki vakalar kötü diferansiasyon ve çok agresif davranışla karakterizedir. Ancak yaş, bağımsız prognostik parametre olarak değerlendirilmez (5).
- 6- Irk: Daha ileri evrede tespit edilmesinden dolayı, siyah erkeklerde ölüm oranı beyaz erkeklere göre iki kat daha fazladır. Evre ve gradelerine göre incelendiğinde her iki ırkta da sağ kalım oranı belirgin farklılık göstermemektedir (5).
- 7- Başlangıç tanı metodu: TUR'la prostat karsinomu tanısı verilen olgularda tümör yayılım insidansı, iğne biyopsisi ile tanı konulan olgulara oranla daha yüksektir. Bu durumun TUR yönteminin bir sonucu mu veya TUR ile tanı konulabilen tümörlerin genellikle daha ileri evre tümörler olmasından mı henüz aydınlatılamamıştır (5).
- 8- Serum PSA düzeyi: Tümör hacminin, tümör yaygınlığının ve tedaviye yanıtın indirekt göstergesi olan serum PSA düzeyinin prostat karsinomunun prognozu ile ilişkili olduğu bilinmektedir (5). Yüksek grade, büyük hacim ve daha ileri patolojik evre artmış serum PSA seviyesi ile ilişkilidir (55).
- 9- Serum PAP düzeyi: Oesterling JE ve arkadaşları yaptıkları çalışmada serum PAP düzeyi, kapsüler penetresyon ve vezikula seminalis tutulumu ile korelasyon göstermektedir (58).
- 10- PAP ve PSA immünreaktivitesi: Dokularında PAP ve PSA immünreaktivitesi zayıf olan veya gösterilemeyen prostat karsinomlu vakalar daha agresif davranış gösterir.

- 11- Perinöral invazyon: Perinöral invazyon, prostat kanseri tanısında değeri zamanla anlaşılan bir göstergedir. Ancak prognostik değeri tartışmalıdır. Bazı çalışmalar rezeksiyonda gösterilen ekstrapostatik yayılımın, radikal prostatektomiden sonra gösterilen tümör progresyonu ile korele olduğunu tespit etmişlerdir.
- 12- Lenfovasküler invazyon: Radikal prostatektomide saptanan vasküler boşluklara yayılım ile Gleason skoru, ekstrapostatik yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve tümör progresyonu ilişkili bulunmuştur.
- 13- Neovaskülarite: Mikrodamar yoğunluğunun, patolojik evre ve prostat kanseri progresyonunda bağımsız prediktör olduğu söylenmektedir.
- 14- Nöroendokrin özellikler: Nöroendokrin özellikler, yüksek grade ve kötü prognozla korelasyon gösterir.
- 15- Androjen reseptör durumu: Tümörde, immünohistokimyasal olarak androjen reseptörü tespit edilmeyenlerde, immünreaktif olanlara göre prognoz daha kötüdür.
- 16- P53 ekspresyonu: İleri evre prostat kanserlerinin bir kısmında p53 tümör supresör geninde mutasyon saptanmıştır.
- 17- Ras onkogeni: Ras onkogeni p21'in ekspresyonu nükleer anaplazi derecesi, mikroskopik derece ve prognozla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu onkogenin ekspresyonu bağımsız prognostik parametre olarak kabul edilmemektedir.
- 18- Diğer moleküler genetik markerlar: Distal 8q, p27-kip1, p34-cdc-2, p120, çeşitli siklinler ve katepsin-D gibi genetik moleküler belirleyiciler prostat karsinomuna prognostik değer kazandırabilir (5).

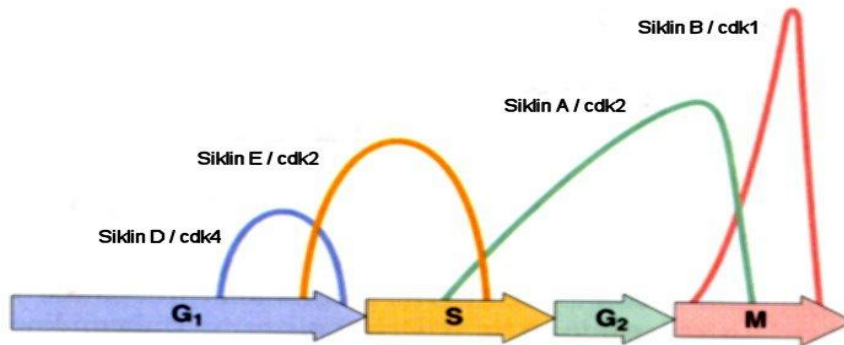
HÜCRE SİKLUSU

Hücre siklusunun düzenlenmesi ve kontrolü, normal hücrelerin büyüme ve diferansiasyonu yanı sıra tümör gelişiminde de önemli roller oynamaktadır (59).

Hücre siklusu, G₁ (presentetik), S (DNA sentezi), G₂ (premitotik) ve M (mitotik) evrelerinden oluşur. İstirahatteki hücreler fizyolojik açıdan G₀ evresinde olarak adlandırılır (60).

SİKLİNLER VE SİKLİN BAĞIMLI KİNAZLAR

Hücre siklusunun farklı evreleri boyunca hücrelerin düzenli olarak ilerlemesi siklinler, siklin bağımlı kinazlar (CDK) ve bunların inhibitörleriyle yönetilir. CDK'lar, hücrelerin bir sonraki evreye geçebilmeleri için gerekli olan kritik hedef proteinlerini fosforilleyerek siklusu harekete geçirir. CDK'lar tüm hücre siklusu boyunca inaktif formda eksprese olurlar. Siklinler adı verilen protein ailesine bağlanarak fosforile olduktan sonra aktif forma geçerler. CDK'ların tersine siklinler, hücre siklusunun spesifik evrelerinde sentezlenir ve fonksiyonları CDK'ları aktive etmektir. Bu görevlerini tamamladıktan sonra siklin düzeyleri hızla düşer (Şekil 1). 15'den fazla siklin tanımlanmıştır.



Şekil 1: Hücre siklusunun spesifik fazlarında sentezlenen siklinler (10).

Siklin D hücre siklusunda artan ilk siklin olup G1 fazının ortasında görülür, daha sonra kaybolur ve S fazında saptanamaz. Siklin D'nin D1, D2, D3 olmak üzere 3 formu vardır. Siklin D diğer siklinler gibi stabil değildir. Hücre siklusunun G1 fazında siklin D, CDK4'e bağlanarak CDK4'ü aktive eder ve "siklin D-CDK4" kompleksini oluşturur. Bu kompleks retinoblastoma duyarlılık proteinini (RB) fosforile ederek hücre siklusunda kritik bir rol oynar. RB'nin fosforilasyonu hücre siklusunun ilerlemesindeki ana engeli ortadan kaldırır ve hücre replikasyonunu uyarır.

Dinlenme halindeki hücreler büyüme faktörleri ile uyarıldığında, siklin D ve E konsantrasyonları yükselerek, G1/S kısıtlama noktasında siklin D-CDK4 ve siklin E-CDK2 aktivasyonuna ve RB'nin fosforilasyonuna yol açar (10).

HÜCRE SIKLUSUNUN İNHİBİTÖRLERİ

Siklin-CDK komplekslerinin aktivitesi, CDK inhibitörleri adı verilen inhibitörler ile sıkı bir şekilde kontrol edilir. CDK inhibitörleri iki ana sınıfa ayrılır: Cip/Kip ve INK4/ARF aileleri (10). Bu inhibitörler tümör supresör olarak fonksiyon görürler ve sıklıkla tümörlerde değişikliğe uğrarlar. Cip/Kip ailesinin, siklinler ve CDK'lar arasında oluşan komplekslere bağlanan ve onları inaktive eden 3 komponenti vardır: p21, p27 ve p57 (10,11). P21'in transkripsiyonel aktivasyonu p53'ün kontrolü altındadır (6,10,11,12,19). P53 insan kanserinin büyük kısmında mutasyona uğrayan bir tümör süpresör gendir.

Siklusun kendi içinde kontrol noktaları vardır. Başlıca iki denetim noktası G1/S ve G2/M geçişleridir. Her ne kadar hücre siklusundaki her basamak önemli ise de G1'den S fazına geçiş, hücre siklusundaki çok önemli bir kontrol noktasıdır. S fazı, siklusun geri dönüşü olmayan bir noktasıdır. Hücre siklusu boyunca ilerleme ve özellikle G1/S geçişi, siklin ve CDK'lar denilen ilgili enzimler tarafından sıkıca denetlenir (10,61). Eğer DNA hasarı varsa DNA onarım sistemi ve hücre siklusunu durduran mekanizmalar harekete geçer. Hücre siklusunun ilerlemesindeki gecikme DNA onarımı için zaman kazandırır. G1-S kontrol noktasında hücre siklusu durmasına

en çok hücre siklusu inhibitörü p21'i uyaran p53 aracılık eder (10,11). Hücre siklusundaki kontrol noktalarının komponentlerindeki defekt, kanser hücrelerindeki genetik instabilitenin en önemli nedenlerinden biridir (10).

p21

CDK inhibitörü olan p21; WAF1, CIP1, SD11, MD38 veya CAP20 olarak da bilinir (11). Kromozom 6p geninde kodlanır ve 21 kDa ağırlığındadır (11,12). p21'in hem p53 bağımlı hem de p53 bağımsız yolla hücre döngüsünü etkilediği düşünülüyor (6,12). DNA hasar ajanları p53 ekspresyonunun artmasına ve artmış p53 de p21'in indüklenmesine ve hücre siklusunun devamlılığını G1 fazında durdurmasına neden olur (6,11,13,14,15).

p21 ekspresyonu nükleusta lokalizedir (11,12). Non-neoplastik kolonda, kriptin alt yarısında Ki-67, lüminal yarısında p21 ekspresyonu izlenir. Benzer şekilde, özefagusun çok katlı yassı epitelinde bazal membrandan sonraki tabakada Ki-67 ile boyanma izlenirken, ikinci, üçüncü tabakalarda p21 ekspresyonu gözlenir. Bu bulgular p21'in proliferasyonun negatif kontrolünde önemli rol oynadığını düşündürür (11).

Son yıllarda p21' in, pek çok tümörün prognozunda rol oynadığı gösterilmiştir. Meme, mide ve akciğer kanserinde p21 ekspresyonu iyi prognozu gösterirken, (16,17,14) baş boyun kanserlerinde p21 ekspresyonu kötü gidişle ilişkilidir (8).

Bazı çalışmalar, p21 ile non-neoplastik prostat dokusunda immünreaksiyon gösteremezken, bazı çalışmalarda non-neoplastik prostat dokusunda yer yer pozitif p21 immünreaktivitesi tanımlanmıştır. Prostat kanserinde nükleer p21 proteini ekspresyonu gösterildi (8). Tam mekanizması bilinmese de, prostat kanserinde p21 ekspresyonu ileri evre, yüksek Gleason skoru ve kısa biyokimyasal serbest yaşam süresi ile korelasyon gösterir (12,8,18,9).

p27

p27, kromozom 12p'de lokalizedir (11). p27, siklin E-CDK2 kompleksini bağlayarak ve inaktive ederek hücre proliferasyonunu inhibe eder ve G1'den S fazına geçişi durdurur (6,7,11,19,20,21). p27, transforme edici büyüme etkeni (TGF- β) gibi büyüme baskılayıcılarına yanıt oluşturur. Negatif hücre düzenleyicisi p27'de kayıp, onkogenezis ve tümör progresyonuna katkıda bulunabilir (10).

p27 ekspresyon kaybı akciğer, meme, mide ve kolorektal kanser gibi birçok tümörde gösterilmiş, kötü prognoz ve agresif davranışla korele bulunmuştur (20,21,22,23,24). Ayrıca p27 ekspresyon kaybının, prostat kanserlerinde de negatif prognostik markır olduğu gösterilmiştir (7,22,25,26,27).

Siklin D1

Siklin D, CDK4'e bağlanarak CDK4'ü aktive eder ve "siklin D-CDK4" kompleksini oluşturur. Bu kompleks retinoblastoma duyarlılık proteinini (RB) fosforile ederek hücre siklusunun ilerlemesindeki ana engeli ortadan kaldırır ve hücre replikasyonunu uyarır (10,19). Bu önemli transkripsiyon faktörü, DNA sentezi ve hücre büyümesinde kritik olan promotor genlere bağlanır. Bu genler, DNA polimeraz alfa gen, N-myc ve IGF-1 genleridir (19).

Siklin D1 overekspresyonunun G1 fazını kısalttığı ve S fazına girişi hızlandırdığı söylenmektedir. Transgenik fare çalışmaları siklin D1'in diğer faktörlerle kombinasyonu ile onkojenik rolü olabileceğini göstermektedir.

Mantle hücreli lenfomaların çoğunda siklin D1 protein overekspresyonu vardır. Bu hücre siklus proteininin kontrolsüz ekspresyonu, tam mekanizması bilinmese de bu lenfomanın patogenezinde yer aldığı düşünülmektedir. Comstock ve ark. prostat kanserinde, nükleer siklin D1 ekspresyonu ile yüksek grade arasında ilişki olduğunu gösterdiler (62).

Ki-67

Ki-67 proteini yaklaşık 395 kDa ağırlığında büyük bir proteindir. Mitoz esnasında fosforilasyon ve defosforilasyona uğrar. Proteazlara hassas olmasından dolayı ekspresyonu proteolitik yollarla regüle edilmektedir (31). Ki-67 proteini hücre proliferasyonu ile yakından ilişkili olup bu antijen nükleusta tespit edilir (29). Ki-67 nükleer antijeni hücre siklusunda S, G2, M ve G1'in geç fazında eksprese olur. G0 fazındaki hücrelerde bulunmaz (28,29,30,63). Formalin fikse spesmenlerde MIB 1 antikor kullanıldığında Ki-67'yi değerlendirmek kolay ve objektiftir (30).

Ki-67'nin diagnostik katkılarının yanında prognostik değeri de belirlenmiştir (31, 32).Yapılan çeşitli çalışmalarda, Ki-67 pozitif tümör hücrelerinin oranı, genellikle hastalığın klinik gidişi ile korelasyon gösterir (29). Birçok çalışmada prostat kanserinde de Ki-67 indeksi, Gleason skoru ile korelasyon göstermektedir (22,30,33).

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmaya 2001-2008 yılları arasında Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü'nde değerlendirilen 60 radikal prostatektomi materyali alındı. Olguların yaşına ait bilgiler bölüm arşivi kayıtlarından ve rapor örneklerinden elde edildi. Olgulara ait formalin fikse, parafin bloklardan hazırlanan H&E boyalı preparatlar arşivden çıkarılarak Gleason skora göre yeniden gradelendi ve ekstrakapsüler yayılım, vezikula seminalis tutulumu, perinöral invazyon ve lenf nodu metastazı açısından tekrar değerlendirildi. En yüksek gradeli tümör alanlarını içeren bloklar belirlendi. Gleason skoru ile yaş, ekstrakapsüler yayılım, vezikula seminalis tutulumu, perinöral invazyon ve lenf nodu metastazı arasındaki ilişkiyi değerlendirdik.

Seçilen her bloktan 3-4 mikron kalınlığında kesitler adezivli lamlara alındı. İmmünohistokimyasal yöntem ile Ki-67, p21, p27 ve siklin D1 uygulanarak bu markırların Gleason skoru, ekstraprostatik yayılım, perinöral invazyon ve vezikula seminalis tutulumu ile ilişkilerini araştırdık.

Boyama işlemi şu şekilde gerçekleştirildi:

- 1- Lamlar etüvde bekletildikten sonra 3'er dakika, ksilol ve sırası ile %96, %80, %75, %70'lik alkolden geçirilerek deparafinize ve dehidrate edildi. EDTA solüsyonu içinde mikrodalga fırına konarak 2 kez 7'er dakika kaynatıldı. Preparatlar oda ısısında soğumaya bırakıldı.
- 2- Tampon solüsyonunda (TBS) 6 dakika, %3'lük H₂O₂ solüsyonunda 10 dakika bekletildi.
- 3- Kesitlere monoklonal mouse anti-human Ki-67 antijen (clone MIB-1, DAKO), mouse monoklonal antikor p27 protein (klon 1B4, Novacastra), monoklonal mouse anti-human p21^{waf1/cip1} (klon SX118, DAKO) ve cyclin

D1/Bcl-1 (SP4 klonu, Thermo scientific) damlatılarak oda ısısında 2 saat bekletildi. Daha sonra 2 kez 3 dakika TBS ile muamele edildi.

4- “Biotinylated Goat Anti-Polvalent” damlatıldı. 30 dakika sonra 2 kez 3 dakika TBS’de bekletildi.

5- “Streptavidin Peroxidase” damlatıldı. 30 dakika sonra 2 kez 3 dakika TBS’de bekletildi.

6- Kromojen olarak DAB kullanıldı. Kromojende 5-10 dakika bekletildi.

7- Lamlara kontrast boyama için Mayer Hematoksilen damlatılarak 1-2 dakika bekletildikten sonra preparatlar musluk suyunda yıkandı.

8- Kapatıcı ile kapatıldı ve kuruduktan sonra ışık mikroskopunda değerlendirildi.

Pozitif kontrol olarak Ki-67 ve p27 için tonsil dokusu, p21 için mesane epiteli ve siklin D1 için mantle hücreli lenfoma olgusu kullanıldı. İmmünohistokimyasal değerlendirmede nükleer boyanma dikkate alındı ve boyanma yüzdesi saptandı.

İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS for Windows 11.5 paket programında yapıldı. Sürekli değişkenlerin dağılımının normale uygun olup olmadığı Shapiro Wilk testi ile araştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli yaş için ortalama $\pm$ standart sapma, Ki-67, p21, p27 ve Siklin D1 boyanma yüzdeleri için ortanca (minimum - maksimum) olarak kategorik değişkenler ise vaka sayısı ve (%) olarak gösterildi.

Gleason skoruna göre oluşturulan gruplar arasında yaş ortalaması yönünden farkın önemliliği Student’s t testi ile ekstrakapsüler yayılım ve lenf nodu metastazı

dağılımı yönünden farkın anlamlılığı Fisher'in Tam Sonuçlu Olasılık testi ile veziküla seminalis tutulumu ve perinöral invazyon dağılımı ise Pearson'un Ki-Kare testi ile araştırıldı. Bağımsız gruplar arasında markırlara göre boyanma yüzdesi ortancaları yönünden farkın önemliliği Mann Whitney U testi ile araştırıldı.

Gleason skorunun 6'nın üzerinde olmasını, ekstrakapsüler yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve perinöral invazyon varlığını öngörmede markırların etkili olup olmadığı ROC eğrisi altında kalan alan hesaplanarak değerlendirildi. Eğri altında kalan alanın önemli bulunması halinde boyanma yüzdesine ilişkin en iyi kesim (cut off) noktası Youden İndeks kullanılarak saptandı. Ayrıca, bu noktaya ilişkin duyarlılık, seçicilik, pozitif ve negatif tahmini değerler hesaplandı.

$p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Toplam 60 prostat adenokarsinom olgusunun 30'u Gleason skor ≤ 6 , 30'u Gleason skor >6 idi. Olguların 8'inde ekstrakapsüler yayılım, 10'unda veziküla seminalis tutulumu, 40'ında perinöral invazyon ve 4'ünde lenf nodu metastazı vardı. Ekstrakapsüler yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve lenf nodu metastazı olan olguların hepsi Gleason skor 6'dan yüksek idi. Gleason skor ≤ 6 olan olguların 13'ünde, Gleason skor >6 olan olguların 27'sinde perinöral invazyon mevcuttu.

Tablo 3. Gleason Skor ≤ 6 olan 30 Adenokarsinom Olgusuna Ait Özellikler

Olgu	Yaş	EKY	VST	Pİ	LNМ	Ki-67 %	p21 %	p27 %	Siklin D1
1	57	-	-	+	-	4	5	50	5
2	66	-	-	-	-	1	-	70	1
3	59	-	-	-	-	7	-	70	10
4	64	-	-	-	-	3	10	30	60
5	53	-	-	+	-	5	10	70	5
6	57	-	-	-	-	3	30	70	2
7	66	-	-	-	-	15	-	60	5
8	63	-	-	-	-	7	7	30	95
9	68	-	-	+	-	2	5	15	10
10	59	-	-	-	-	10	-	97	80
11	61	-	-	+	-	8	5	90	5
12	58	-	-	-	-	5	2	5	5
13	69	-	-	+	-	4	6	10	5
14	75	-	-	-	-	10	5	5	30
15	55	-	-	+	-	50	1	80	-
16	67	-	-	+	-	6	30	90	20
17	61	-	-	-	-	4	10	80	20
18	69	-	-	+	-	4	-	30	-
19	71	-	-	-	-	1	-	10	-
20	60	-	-	+	-	2	30	80	5
21	60	-	-	+	-	4	-	90	5
22	68	-	-	+	-	2	-	90	5
23	66	-	-	-	-	6	2	90	10
24	64	-	-	-	-	4	2	60	-
25	71	-	-	-	-	4	5	90	10
26	67	-	-	+	-	4	-	70	90
27	61	-	-	-	-	3	-	80	-
28	71	-	-	-	-	3	-	-	-
29	66	-	-	+	-	4	7	10	-
30	71	-	-	-	-	2	-	90	-

EKY: Ekstrakapsüler Yayılım

VST: Veziküla seminalis Tutulumu

Pİ: Perinöral İnvazyon

LNМ: Lenf Nodu Metastazı

Tablo 3'te Gleason skor ≤ 6 olan 30 prostat adenokarsinomu olgularına ait yaş, histopatolojik prognostik parametrelere ait özellikler, Ki-67, p21, p27 ve siklin D1 ile boyanma oranları izlenmektedir.

Tablo 4. Gleason Skor >6 Olan 30 Adenokarsinom Olgusuna Ait Özellikler

Olgu	Yaş	EKY	VST	Pİ	LNM	Ki-67 %	p21 %	p27 %	Siklin D1
1	63	+	+	+	-	70	20	5	60
2	63	-	-	+	-	20	-	10	5
3	67	-	-	+	-	8	-	30	-
4	47	+	+	+	+	60	-	90	-
5	64	-	+	+	-	40	-	95	10
6	72	+	+	+	-	20	5	95	30
7	68	-	-	+	-	10	40	95	5
8	69	-	-	+	-	80	-	40	30
9	69	-	+	+	-	30	4	80	30
10	69	+	+	+	+	80	10	40	10
11	70	-	-	+	-	5	5	80	20
12	66	+	-	+	-	2	15	5	70
13	51	-	-	-	-	70	-	90	95
14	67	-	-	+	-	30	40	-	-
15	67	-	-	-	-	2	-	-	-
16	64	-	-	+	-	5	2	90	50
17	65	-	-	+	-	15	30	80	3
18	72	-	+	+	+	40	5	50	10
19	74	+	+	+	-	20	-	90	-
20	72	-	-	+	-	80	40	60	10
21	61	-	-	+	-	13	-	90	5
22	61	-	-	+	-	6	8	95	15
23	64	-	+	+	-	10	30	60	2
24	60	+	-	+	-	30	6	70	-
25	54	-	-	+	-	15	6	-	-
26	64	-	-	+	-	-	-	80	-
27	64	-	-	+	-	30	-	5	10
28	60	-	-	+	-	5	8	-	10
29	64	+	+	+	+	80	80	10	40
30	61	-	-	-	-	5	-	70	40

EKY: Ekstrakapsüler Yayılım

VST: Veziküla seminalis Tutulumu

Pİ: Perinöral İnvazyon

LNM: Lenf Nodu Metastazı

Tablo 4’te Gleason skor ≤ 6 olan 30 olguya ait yaş, histopatolojik prognostik parametrelere ait özellikler, Ki-67, p21, p27 ve siklin D1 ile boyanma oranları izlenmektedir.

Tablo 5. Tüm Olguların Yaş Dağılımı

Yaş					
Gruplar	Ortalama	Sd.	Ortanca	Minimum	Maksimum
Gleason S. ≤ 6 (n=30)	64.10	5.505	65	53	75
Gleason S. >6 (n=30)	64.43	6.280	64.50	47	74
Total (n=60)	64.26	5.842	64.50	47	75

Gleason skor ≤ 6 olan olguların yaşları 53 ile 75 arasında değişmekte, ortalama 64,10 idi. Gleason skor >6 olan olguların yaşları 47 ile 74 arasında değişmekte, ortalama 64,43 idi. Gruplar arasında yaş dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0.833$).

Tablo 6. Gleason Skoru Düzeylerine Göre Yaş ve Klinik Özelliklerin Dağılımı

Değişkenler	Gleason Skor ≤ 6 (n=30)	Gleason Skor >6 (n=30)	p
Yaş	64,1 $\pm$ 5,5	64,4 $\pm$ 6,3	0,833
Ekstrakapsüler Yayılım	-	8 (%26,7)	0,005
Veziküla Seminalis Tutulumu	-	10 (%33,3)	<0,001
Perinöral İnvazyon	13 (%43,3)	27 (%90,0)	<0,001
Lenf Nodu Metastazı	-	4 (%13,3)	0,112

Çalışmada Gleason skor ≤ 6 olan olgularda ekstrakapsüler yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve lenf nodu metastazı izlenmedi. Gleason skor >6 olan 8 (%26.7) olguda ekstrakapsüler yayılım, 10 (%33.3) olguda veziküla seminalis tutulumu ve 4 (%13.3) olguda lenf nodu metastazı mevcuttu. İki grup arasında ekstrakapsüler yayılım ve veziküla seminalis tutulumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0.005$, <0.001). Lenf nodu metastazı açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok idi ($p=0.112$).

Gleason skor ≤ 6 olan 13 (%43.3) olguda ve Gleason skor >6 olan 27 (%90) olguda perinöral invazyon gözlemlendi. İki grup arasında perinöral invazyon açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p<0.001$).

Tablo 7. Gleason Skoru Düzeylerine Göre Markırların Boyanma Düzeyleri

Değişkenler	Gleason Skor ≤ 6 (n=30)	Gleason Skor >6 (n=30)	p
	Ortanca (min%-maks%)	Ortanca (min%-maks%)	
Ki 67 %	4 (1-50)	20 (0-80)	$<0,001$
p21 %	2 (0-30)	5 (0-80)	0,417
p27 %	70 (0-97)	65 (0-95)	0,817
Siklin D1 %	5 (0-95)	10 (0-95)	0,409

İmmünohistokimyasal olarak Ki-67 ile tümör dokusu yanı sıra normal prostat glandı epitelinde de nükleer ekspresyon saptandı. Ki-67 indeksi Gleason skor ≤ 6 olan 30 olguda 1-50 arasında (ortanca 4), Gleason skor >6 olan 30 olguda ise 0-80 (ortanca 20) arasında değişmekte idi. Ki-67 indeksi esas olarak Gleason skor >6 olan olgularda, Gleason skor ≤ 6 olanlardan daha yüksek bulundu. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.001$).

Ki-67 indeksi Gleason skor ≤ 6 olan 29 olguda 1-15 arasında değişmekte idi. Ancak bir Gleason skor 6 olan 1 olguda Ki-67 indeksi 50 olarak saptandı. Bu olguda perinöral invazyon izlenirken, ekstraprostatik yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve lenf nodu metastazı yoktu.

p21 ile boyanma oranı Gleason skor ≤ 6 olan olgularda 0-30 arasında (ortanca 2), Gleason skor >6 olan olguda ise 0-80 arasında (ortanca 5) değişmekte idi. p27 ile boyanma indeksi Gleason skor ≤ 6 olan olgularda 0-97 arasında (ortanca 70), Gleason skor >6 olan olgularda ise 0-95 arasında (ortanca 65) değişim göstermekte idi. Siklin D1 ile boyanma oranı Gleason skor ≤ 6 olan olgularda 0-95 arasında (ortanca 5), Gleason skor >6 olanlarda 0-95 arasında (ortanca 10) değişmekte idi. İki grup arasında p21, p27

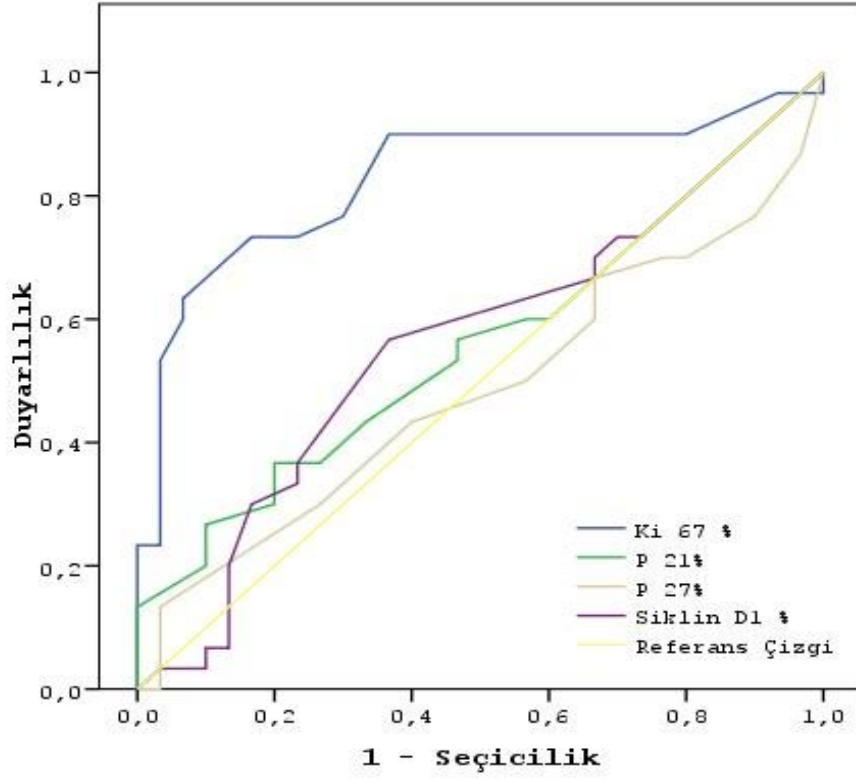
ve siklin D1 ile boyanma açısından saptanan fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0.417, 0.817, 0.409).

Ki-67, p21, p27 ve siklin D1 değerlerinin, olguların Gleason skor ≤ 6 veya >6 olduğunu ayırt etmedeki duyarlılık ve özgüllüklerini bize verecek olan ROC analizi sonucu şu şekildedir:

Tablo 8. Gleason Skorunun 6'dan Büyük Olmasını Tahmin Etmede Markırlara İlişkin Eğri Altında Kalan Alan ve %95 Güven Aralığı Düzeyleri

Değişkenler	EAKA	p	%95 Güven Aralığı (EAKA)	
			Alt Sınır	Üst Sınır
Ki 67 %	0,828	<0,001	0,717	0,940
P 21 %	0,559	0,433	0,412	0,706
P 27 %	0,517	0,819	0,368	0,666
Siklin D1 %	0,561	0,416	0,413	0,709

EAKA: Eğri Altında Kalan Alan



Grafik 1. Gleason Skorunun 6'dan Büyük Olmasını Tahmin Etmede Markırlara İlişkin ROC Eğrileri

Eğri altında kalan alan (mavi çizginin altındaki alan) Ki-67 indeksini, Gleason skorunu tahmin etmede anlamlı buldu (EAKA=0.828; $p<0.001$; %95 güven aralığı; 0.717-0.940).

Eğri altında kalan alan p21, p27 ve siklin D1 değerlerini, Gleason skorunu tahmin etmede anlamlı bulunmadı ($p=0.433, 0.819, 0.416$).

Tablo 9. Gleason Skorunu Belirlemede Ki-67'ye Ait En İyi Kesim Noktası ve Bu Noktaya İlişkin Tanısal Performans Düzeyi

Değişkenler	Kesim Noktası	Duyarlılık	Seçicilik	PTD	NTD
Gleason >6	11,5 ↑	%63,3	%93,3	%90,5	%71,8

PTD: Pozitif Tahmini Değer

NTD: Negatif Tahmini Değer

%63.3 duyarlılık, %93.3 seçicilik düzeyinde kesim noktası 11.5 olarak elde edilmiştir. Yani Ki-67 indeksi açısından 11.5 üzerindeki değere sahip olan olgularda yukarıda belirtilen duyarlılık ve seçicilik düzeyi ile Gleason skorunun >6 olduğu belirlenebilmektedir. Ki-67 indeksi için 11.5'in üzeri boyanma eşik değeri kabul edildiğinde Gleason skor ≤ 6 olan olguların 2'sinde (%6.7), Gleason skor >6 olan olguların 19'unda (%63.3) overekspresyon mevcuttu. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p < 0.001$).

Tablo 10. Ekstrakapsüler Yayılım Olan ve Olmayan Gruplara Göre Markırların Boyanma Düzeyleri

Değişkenler	EKY (-) (n=52)	EKY (+) (n=8)	p
	Ortanca (min%-maks%)	Ortanca (min%-maks%)	
Ki 67 %	5 (0-80)	45 (2-80)	0,005
P 21 %	2 (0-40)	8 (0-80)	0,156
P 27 %	70 (0-97)	55 (5-95)	0,913
Siklin D1 %	5 (0-95)	20 (0-70)	0,529

EKY: Ekstrakapsüler Yayılım

Ki-67 indeksi ekstrakapsüler yayılım izlenen 8 olguda 2-80 arasında (ortanca 45), ekstrakapsüler yayılım olmayan 52 olguda 0-80 arasında (ortanca 5) değişmekte idi. Ki-67 indeksi ekstrakapsüler yayılım izlenen olgularda, ekstrakapsüler yayılım olmayan olgulara göre daha yüksek bulundu. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.005$).

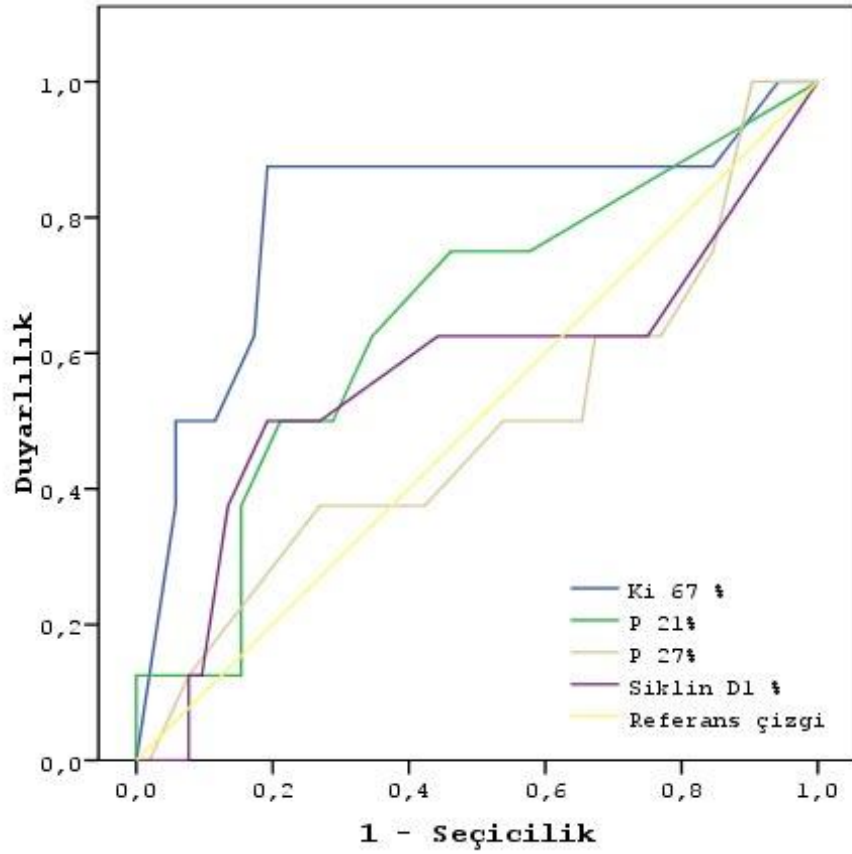
P21 ile boyanma indeksi ekstrakapsüler yayılım izlenen 8 olguda 0-80 arasında (ortanca 8), ekstrakapsüler yayılım olmayan 52 olguda 0-40 arasında (ortanca 2) değişmekte idi. Ekstrakapsüler yayılım izlenen olgularda p27 ile boyanma indeksi 5-95 arasında (ortanca 55), siklin D1 ile boyanma indeksi 0-97 arasında (ortanca 70) değişmekte idi. Ekstrakapsüler yayılım olmayan olgularda p27 ile boyanma indeksi 0-97 arasında (ortanca 70), siklin D1 ile boyanma indeksi 0-95 arasında (ortanca 5) değişmekte idi. Ekstrakapsüler yayılım olan ve olmayan olgular arasında p21, p27 ve siklin D1 ile boyanma yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p=0.156, 0.913, 0.529$).

Ki-67, p21, p27 ve siklin D1 değerlerinin, olgularda ekstrakapsüler yayılım olan ve olmayanı ayırt etmedeki duyarlılık ve özgüllüklerini bize verecek olan ROC analizi sonucu şu şekildedir:

Tablo 11. Ekstrakapsüler Yayılımı Tahmin Etmede Markırlara İlişkin Eğri Altında Kalan Alan ve %95 Güven Aralığı Düzeyleri

Değişkenler	EAKA	p	%95 Güven Aralığı (EAKA)	
			Alt Sınır	Üst Sınır
Ki 67 %	0,806	0,006	0,609	1,000
P 21 %	0,651	0,171	0,440	0,863
P 27 %	0,512	0,913	0,276	0,748
Siklin D1 %	0,569	0,533	0,313	0,824

EAKA: Eğri Altında Kalan Alan



Grafik 2. Ekstrakapsüler Yayılımı Tahmin Etmede Markırlara İlişkin ROC Eğrileri

Eğri altında kalan alan, Ki-67 indeksini ekstrakapsüler yayılımı tahmin etmede anlamlı buldu (EAKA=0.806; $p=0.006$; %95 güven aralığı; 0.609-1).

Eğri altında kalan alan p21, p27 ve siklin D1 değerleri Gleason skorunu tahmin etmede anlamlı bulunmadı ($p=0.171, 0.913, 0.533$).

Tablo 12. Ekstrakapsüler Yayılım Varlığını Belirlemede Ki-67'ye Ait En İyi Kesim Noktası ve Bu Noktalara İlişkin Tanısal Performans Düzeyi

Değişkenler	Kesme Noktası	Duyarlılık	Seçicilik	PTD	NTD
Ekstrakapsüler Yayılım	17,5 ↑	%87,5	%80,8	%41,2	%97,7

PTD: Pozitif Tahmini Değer

NTD: Negatif Tahmini Değer

%87.5 duyarlılık, %80.8 seçicilik düzeyinde kesim noktası 17.5 olarak elde edilmiştir. Yani Ki-67 indeksi açısından 17.5 üzerindeki değere sahip olan olgularda yukarıda belirtilen duyarlılık ve seçicilik düzeyi ile ekstrakapsüler yayılım belirlenebilmektedir. Ki-67 için %17.5 üzerindeki boyanma eşik değeri kabul edildiğinde. Ekstrakapsüler yayılım olan olguların 7'sinde (%87.5), ekstrakapsüler yayılım olmayan olguların 10'unda (%19.2) overekspresyon saptandı. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p=0.005$).

Tablo 13. Veziküla Seminalis Tutulumu Olan ve Olmayan Gruplara Göre Markırların Boyanma Düzeyleri

Değişkenler	VST (-) (n=50)	VST (+) (n=10)	p
	Ortanca (min%-maks%)	Ortanca (min%-maks%)	
Ki 67 %	5 (0-80)	40 (10-80)	<0,001
p 21 %	2 (0-40)	5 (0-80)	0,377
p 27 %	70 (0-97)	70 (5-95)	0,413
Siklin D1 %	5 (0-95)	10 (0-50)	0,364

VST: Veziküla Seminalis Tutulumu

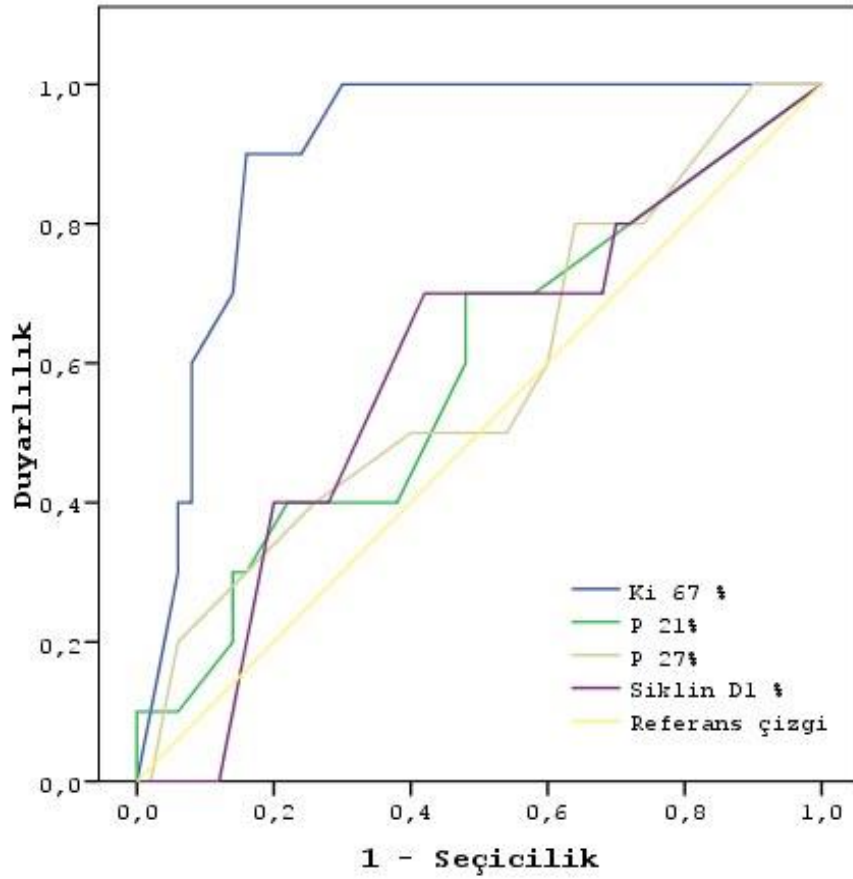
Ki-67 indeksi veziküla seminalis tutulumu olan 10 olgu için 10-80 arasında (ortanca 40), veziküla seminalis tutulumu olmayan 50 olgu için 0-80 arasında (ortanca 5) değişmekte idi. Veziküla seminalis tutulumu olan 10 olgudaki boyanma p21 için 0-80 arasında (ortanca 5), p27 için 5-95 arasında (ortanca 70), siklin D1 için 0-50 arasında (ortanca 10) değişmekte iken veziküla seminalis tutulumu olmayan 50 olgudaki boyanma p21 için 0-40 arasında (ortanca 2), p27 için 0-97 arasında (ortanca 70), siklin D1 için 0-95 arasında (ortanca 5) değişmekte idi. İki grup arasında p21, p27 ve siklin D1 ile boyanmada saptanan fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.377$, 0.413 , 0.364).

Ki-67, p21, p27 ve siklin D1 değerlerinin, olguların veziküla seminalis tutulumu olup olmadığını ayırt etmedeki duyarlılık ve özgüllüklerini bize verecek olan ROC analizi sonucu şu şekildedir:

Tablo 14. Veziküla Seminalis Tutulumunu Tahmin Etmede Markırlara İlişkin Eğri Altında Kalan Alan ve %95 Güven Aralığı Düzeyleri

Değişkenler	EAKA	p	%95 Güven Aralığı (EAKA)	
			Alt Sınır	�st Sınır
Ki 67 %	0,901	<0,001	0,823	0,979
P 21 %	0,586	0,394	0,386	0,786
P 27 %	0,582	0,416	0,382	0,782
Siklin D1 %	0,590	0,372	0,398	0,782

EAKA: Eğri Altında Kalan Alan



Grafik 3. Vezikula Seminalis Tutulumunu Tahmin Etmede Markırlara İlişkin ROC Eğrileri

Eğri altında kalan alan Ki-67 indeksini vezikula seminalis tutulumunu tahmin etmede anlamlı buldu (EAKA=0.901; $p<0.001$; %95 güven aralığı; 0.823-0.979). Eğri altında kalan alan p21, p27 ve siklin D1 değerleri vezikula seminalis tutulumunu tahmin etmede anlamlı bulunmadı ($p=0.394, 0.416, 0.372$).

Tablo 15. Veziküla Seminalis Tutulumu ve Perinöral İnvazyon Varlığını Belirlemede Ki-67'ye Ait En İyi Kesim Noktaları ve Bu Noktalara İlişkin Tanısal Performans Düzeyleri

Değişkenler	Kesme Noktası	Duyarlılık	Seçicilik	PTD	NTD
Veziküla Seminalis Tutulumu	17,5 ↑	%90,0	%84,0	%52,9	%97,7

PTD: Pozitif Tahmini Değer

NTD: Negatif Tahmini Değer

%90 duyarlılık, %84 seçicilik düzeyinde kesim noktası 17.5 olarak elde edilmiştir. Yani Ki-67 indeksi açısından 17.5 üzerindeki değere sahip olan olgularda yukarıda belirtilen duyarlılık ve seçicilik düzeyi ile veziküla seminalis tutulumu belirlenebilmektedir.

Ki-67 için %17.5 üzerindeki boyanma eşik değeri kabul edildiğinde veziküla seminalis tutulumu olan olguların 9'unda (%90), tutulum olmayan olguların 8'inde (%16) overekspresyon mevcuttu. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.006$).

Tablo 16. Perinöral İnvazyonu Olan ve Olmayan Gruplara Göre Markırların Boyanma Düzeyleri

Değişkenler	PNİ (-) (n=20)	PNİ (+) (n=40)	p
	Ortanca (min%-maks%)	Ortanca (min%-maks%)	
Ki 67 %	4 (1-70)	10 (0-80)	0,006
p21 %	0 (0-30)	5 (0-80)	0,042
p27 %	70 (0-97)	70 (0-95)	0,752
Siklin D1 %	7,5 (0-95)	5 (0-90)	0,774

PNİ: Perinöral İnvazyon

Ki-67 ile boyanma indeksi 40 perinöral invazyonu olan olgu için 0-80 arasında (ortanca 10), 20 perinöral invazyonu olmayan olgu için 1-70 arasında (ortanca 4) idi. Aradaki fark anlamlı bulundu ($p=0.006$).

p21 ile boyanma perinöral invazyonu olan olgular için 0-80 arasında (ortanca 5), perinöral invazyonu olmayan olgular için 0-30 arasında (ortanca 0) idi. p21 için boyanma oranı perinöral invazyonu olan olgularda perinöral invazyonu olmayanlara göre yüksek bulundu. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.042$).

P27 ile boyanma perinöral invazyon izlenen 40 olgu için 0-95 arasında (ortanca 70), perinöral invazyonu olmayan 20 olgu için 0-97 arasında (ortanca 70) idi. İki grup arasında fark saptanmadı ($p=0.913$).

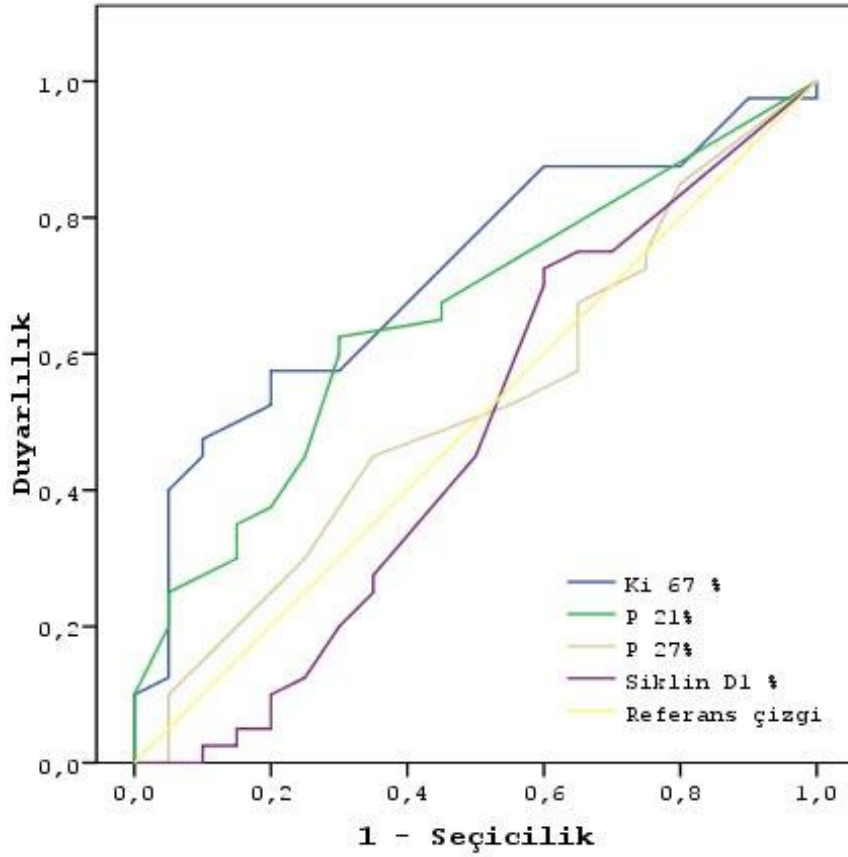
Siklin D1 ile boyanma perinöral invazyon izlenen 40 olgu için 0-90 arasında (ortanca 5), perinöral invazyonu olmayan 20 olgu için 0-95 arasında (ortanca 7.5) idi. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.913$).

Ki-67, p21, p27 ve siklin D1 değerlerinin, olgularda perinöral invazyon olup olmadığını ayırt etmedeki duyarlılık ve özgüllüklerini bize verecek olan ROC analizi sonucu şu şekildedir:

Tablo 17. Perinöral İnvazyonu Tahmin Etmede Markırlara İlişkin Eğri Altında Kalan Alan ve %95 Güven Aralığı Düzeyleri

Değişkenler	EAKA	p	%95 Güven Aralığı (EAKA)	
			Alt Sınır	Üst Sınır
Ki 67 %	0,717	0,007	0,584	0,850
P 21 %	0,656	0,050	0,514	0,799
P 27 %	0,525	0,754	0,370	0,680
Siklin D1 %	0,522	0,778	0,355	0,690

EAKA: Eğri Altında Kalan Alan



Grafik 4. Perinöral İnvazyonu Tahmin Etmede Markırlara İlişkin ROC Eğrileri

Eğri altında kalan alan Ki-67 indeksini, perinöral invazyon varlığını tahmin etmede anlamlı buldu (EAKA=0.717; $p<0.007$; %95 güven aralığı; 0.584-0.850). p21 boyanma oranı için de eğri altında kalan alan, perinöral invazyon varlığını tahmin etmede anlamlı olarak kabul edilebilir (EAKA=0.656; $p=0.50$; %95 güven aralığı; 0.514-0.799).

Eğri altında kalan alan p27 ve siklin D1 değerleri perinöral invazyon varlığını tahmin etmede anlamlı bulunmadı (0.754, 0.778).

Tablo 18. Perinöral İnvazyon Varlığını Belirlemede Ki-67'ye Ait En İyi Kesim Noktası ve Bu Noktaya İlişkin Tanısal Performans Düzeyleri

Değişkenler	Kesme Noktası	Duyarlılık	Seçicilik	PTD	NTD
Perinöral İnvazyon	11,5 ↑	%47,5	%90,0	%90,5	%46,2

PTD: Pozitif Tahmini Değer

NTD: Negatif Tahmini Değer

%47.5 duyarlılık, %90 seçicilik düzeyinde kesim noktası 11.5 olarak elde edilmiştir. Yani Ki-67 indeksi açısından 11.5 üzerindeki değere sahip olan olgularda yukarıda belirtilen duyarlılık ve seçicilik düzeyi ile perinöral invazyon varlığı belirlenebilmektedir.

Perinöral invazyon ile karşılaştırırken Ki-67 için esas olarak %11.5 üzerindeki boyanma eşik değeri kabul edildiğinde perinöral invazyonu olan olguların 19'unda (%47.5), perinöral invazyon saptanmayan olguların 2'sinde (%9.5) overekspresyon gözlemlendi. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p=0.006$).

Tablo 19. Perinöral İnvazyon Varlığını Belirlemede p21'ye Ait En İyi Kesim Noktası ve Bu Noktaya İlişkin Tanısal Performans Düzeyleri

Değişkenler	Kesme Noktası	Duyarlılık	Seçicilik	PTD	NTD
Perinöral İnvazyon	3↑	%62.5	%70	%80.6	%48.3

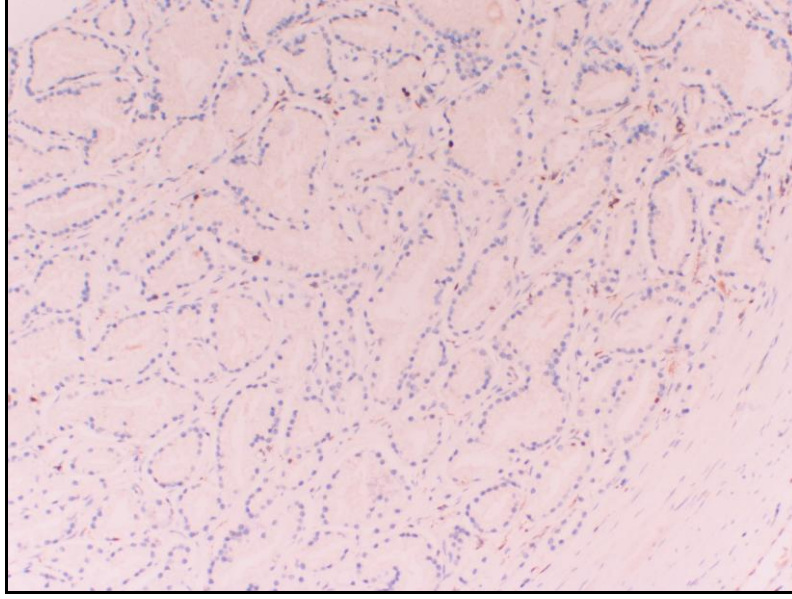
PTD: Pozitif Tahmini Değer

NTD: Negatif Tahmini Değer

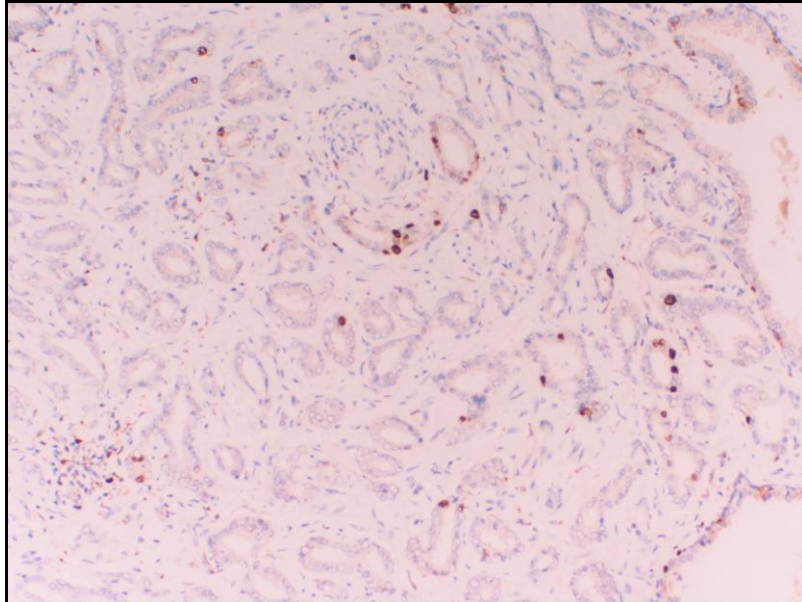
P21 için %62.5 duyarlılık, %70 seçicilik düzeyinde kesim noktası 3 olarak elde edilmiştir. p21 boyanma oranı %3 üzerindeki değere sahip olan olgularda %62.5 duyarlılık, %70 seçicilik düzeyi ile perinöral invazyon varlığı belirlenebilmektedir.

Perinöral invazyon ile karşılaştırırken p21 için esas olarak %3 üzerindeki boyanma eşik değeri kabul edildiğinde perinöral invazyonu olan olguların 25'inde (%80.6), perinöral invazyon saptanmayan olguların 6'sında (%19.4) overekspresyon gözlemlendi. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edilebilir ($p=0.05$).

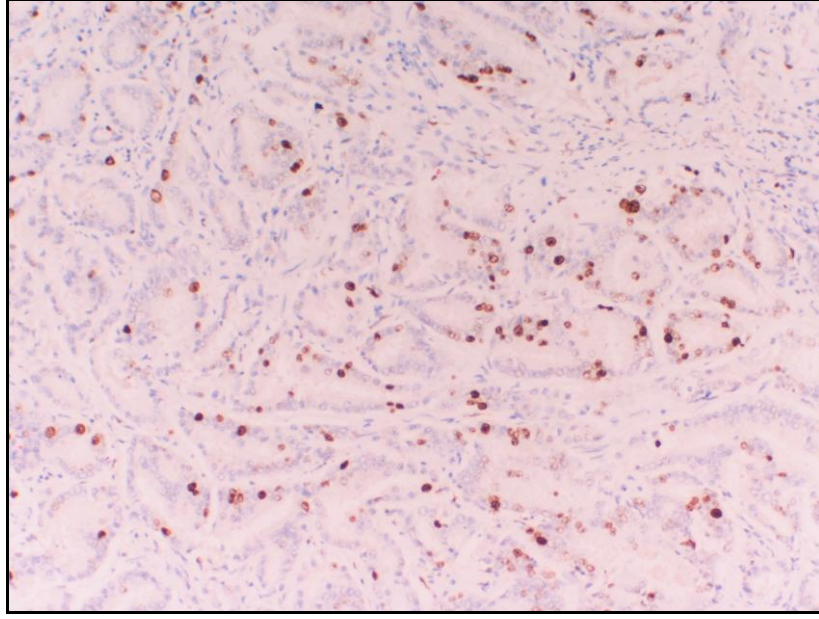
RESİMLER



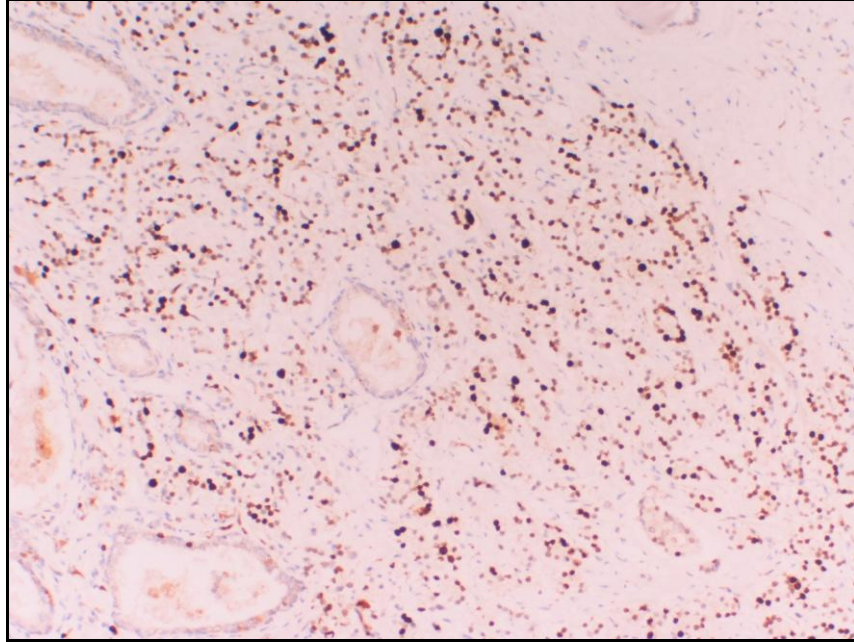
Resim 1. Gleason Skor 5 olarak değerlendirilen bir olguda Ki-67 ile birkaç hücrede nükleer boyanma (Ki-67 indeksi 3) (x100)



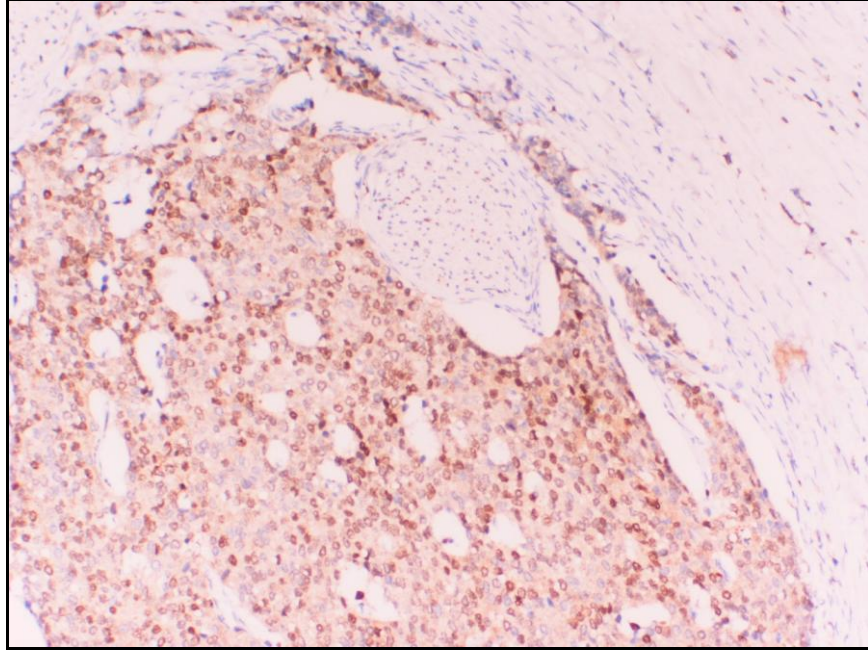
Resim 2. Gleason Skor 6 olarak değerlendirilen bir olguda Ki-67 ile seyrek nükleer boyanma (Ki-67 indeksi 5) (x100)



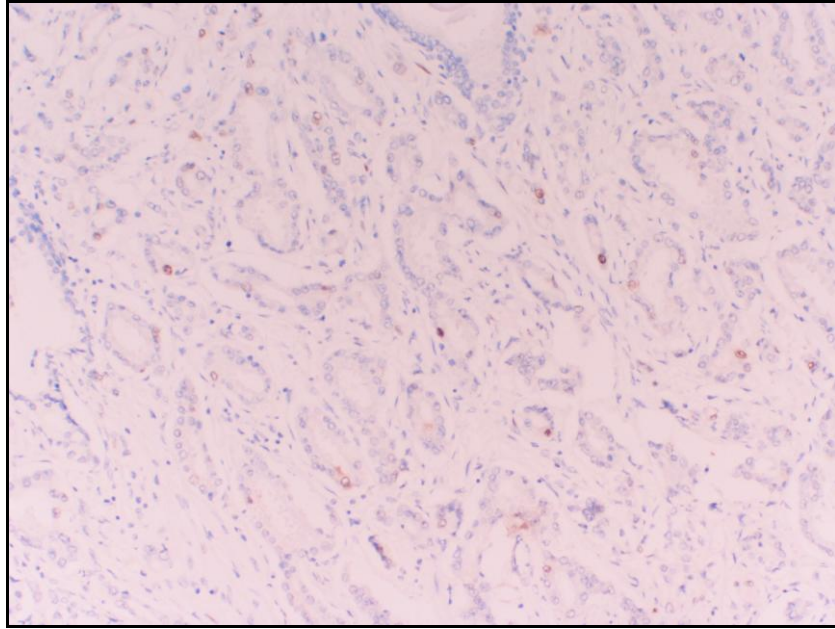
Resim 3. Gleason Skor 6 olan olgulardan birinde beklenmedik şekilde Ki-67 ile artmış nükleer boyanma (Ki-67 indeksi 50) (x100)



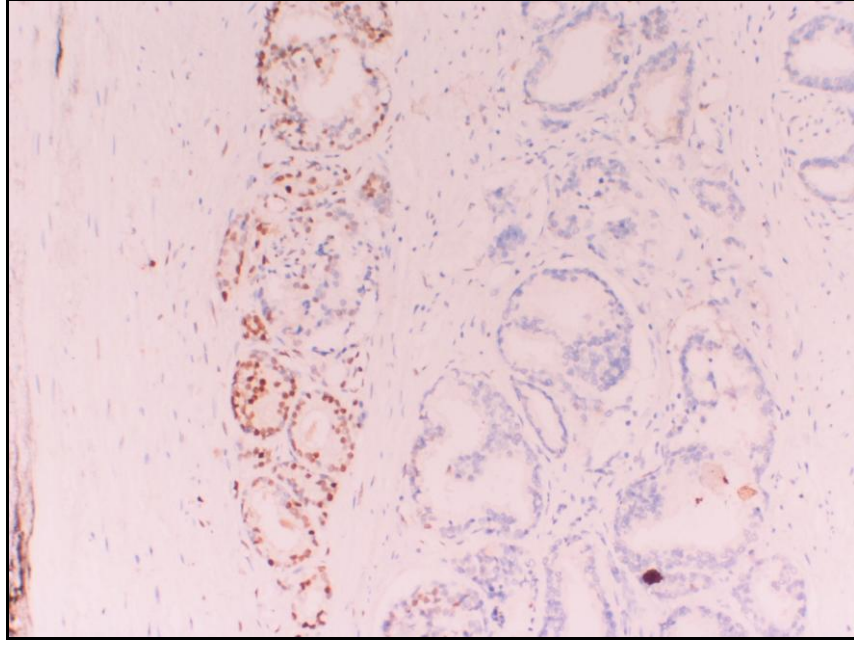
Resim 4. Gleason Skor 7 olarak değerlendirilen bir olguda Ki-67 ile yaygın nükleer boyanma (Ki-67 indeksi 80) (x100)



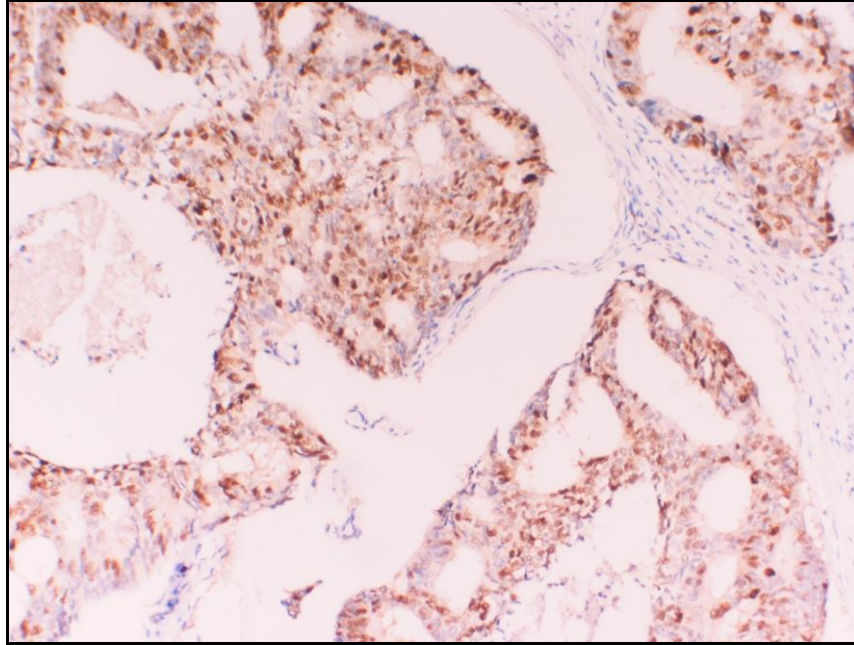
Resim 5. Gleason Skor 9 olarak değerlendirilen bir olguda Ki-67 ile yaygın nükleer boyanma (Ki-67 indeksi 80) (x100)



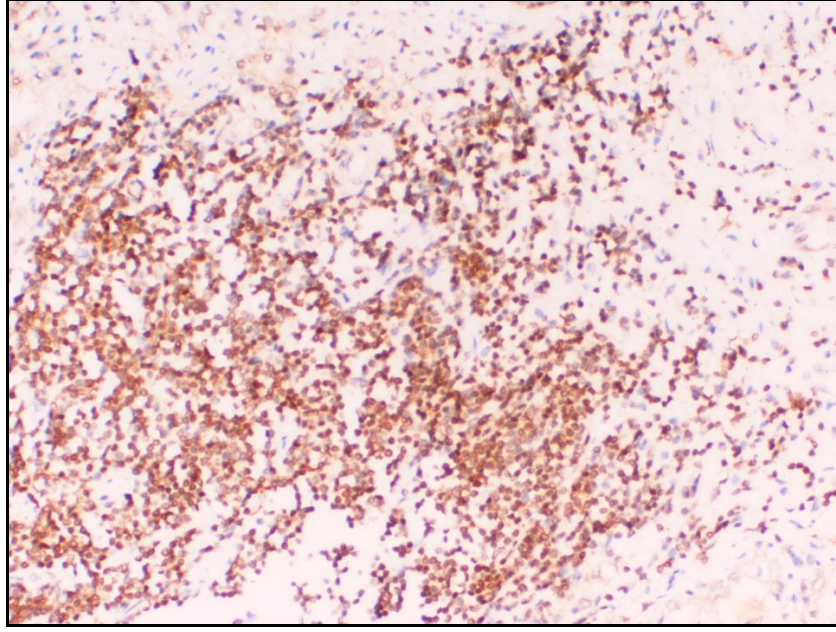
Resim 6. Gleason Skor 5 olarak değerlendirilen bir olguda p21 ile seyrek nükleer boyanma (p21 boyanma oranı %2) (x100)



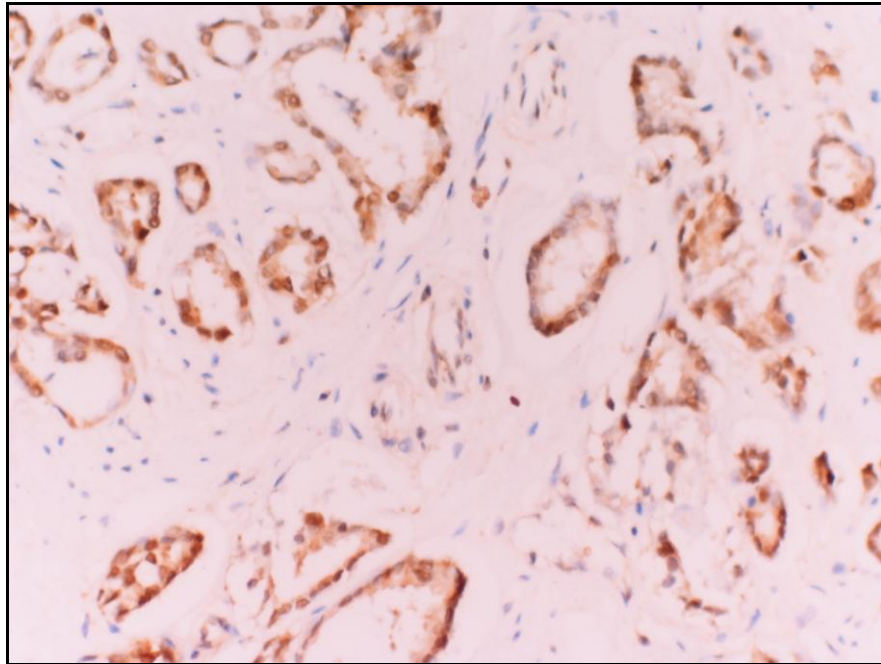
Resim 7. Gleason Skor 7 olarak değerlendirilen bir olguda p21 ile artmış nükleer boyanma (p21 boyanma oranı %40) (x100)



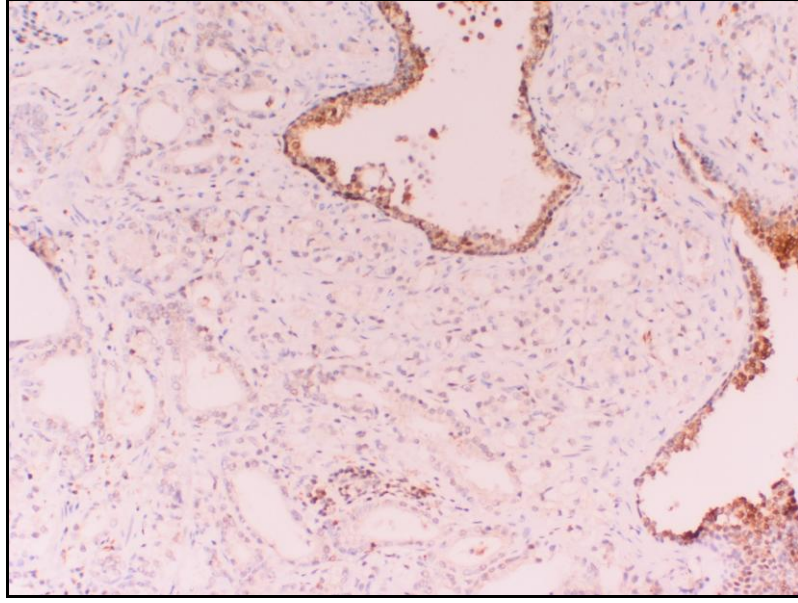
Resim 8. Gleason Skor 9 olarak değerlendirilen bir olguda p21 ile yaygın nükleer boyanma (p21 boyanma oranı %80) (x100)



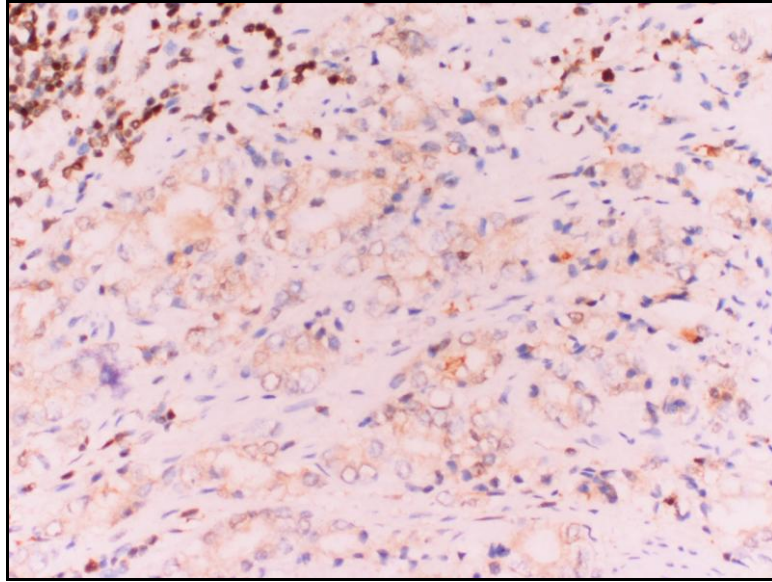
Resim 9. Lenfositlerde p27 ile nükleer boyanma (x100)



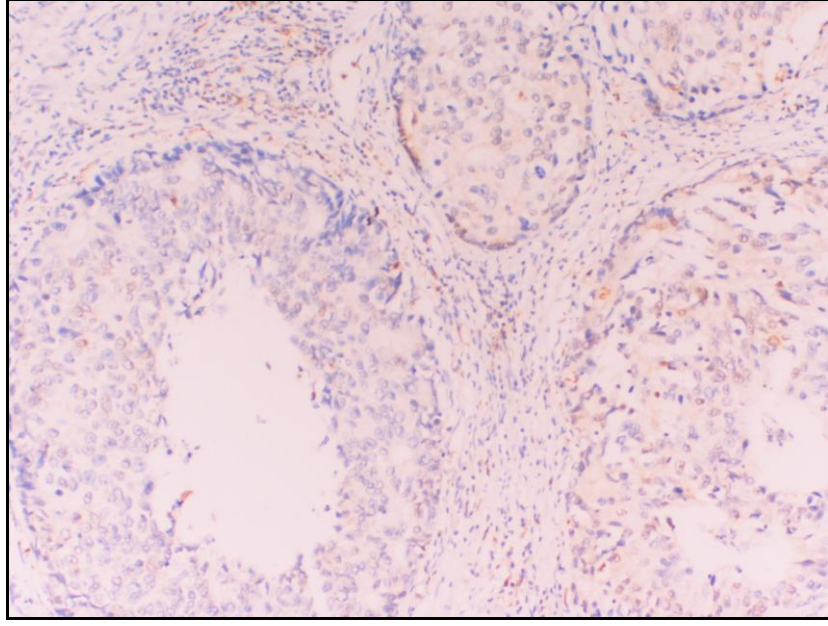
Resim 10. Gleason Skor 6 olarak değerlendirilen bir olguda p27 ile yaygın nükleer ve sitoplazmik boyanma (p27 boyanma oranı %97) (x200)



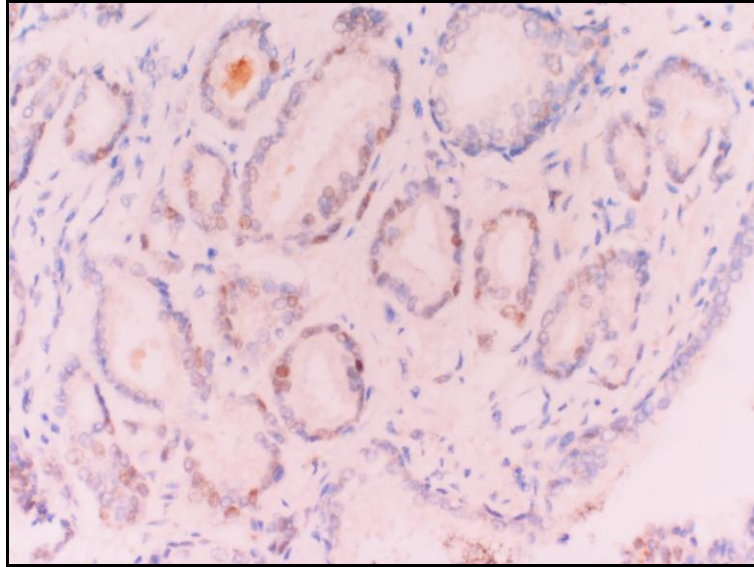
Resim 11. Gleason Skor 7 olarak değerlendirilen bir olguda p27 ile non-neoplastik glandlarda yaygın, neoplastik hücrelerde seyrek nükleer ve sitoplazmik boyanma (p27 boyanma oranı %5) (x100)



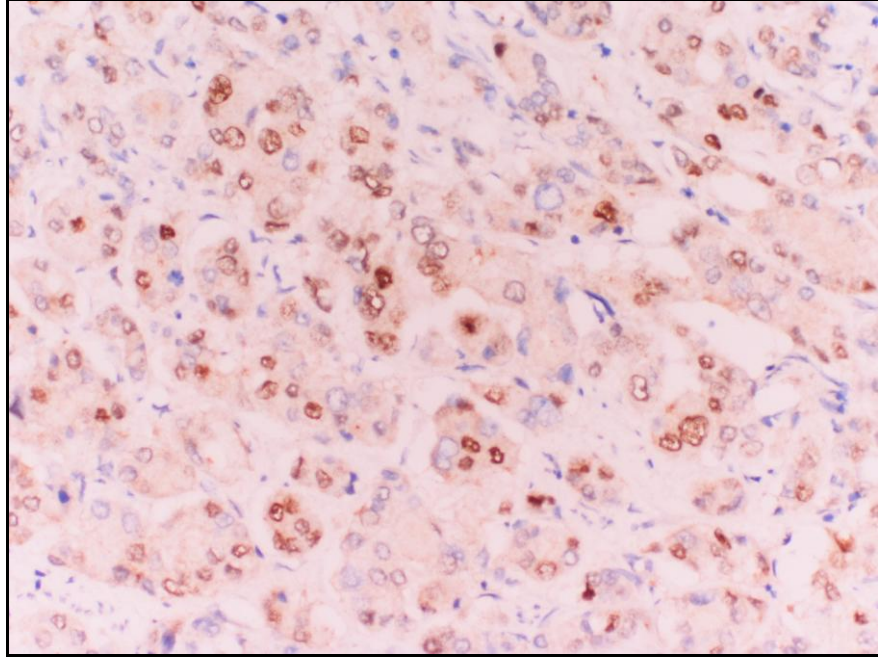
Resim 12. Gleason Skor olarak değerlendirilen bir olguda p27 ile birkaç hücrede nükleer boyanma (p27 boyanma oranı %5) (x200)



Resim 13. Gleason Skor 9 olarak değerlendirilen bir olguda p27 ile birkaç hücrede nükleer boyanma (p27 boyanma oranı %5) (x100)



Resim 14. Gleason Skor 6 olarak değerlendirilen bir olguda siklin D1 ile nükleer boyanma (p27 boyanma oranı %10) (x200)



Resim 15. Gleason Skor 9 olarak değerlendirilen bir olguda siklin D1 ile nükleer boyanma (p27 boyanma oranı %70) (x200)

TARTIŞMA

Prostat adenokarsinomu erkeklerde görülen en sık kanserdir ve ikinci sıklıkta ölüm nedenidir (1). Asiner adenokarsinoma, prostatın epitelyal malignitelerinin %90'ından fazlasını oluşturur (4).

İnsidansı ırklar arasında değişkenlik gösterir. En sık ABD, Avustralya ve İskandinav ülkelerinde görülür (3). Etyopatogenezi tam anlaşılamamış olmakla birlikte genetik, diyet ve çevresel faktörlerin hastalığın gelişiminde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (35,49). Prostat kanseri sadece ölüme neden olduğu için değil aynı zamanda morbiditeye de yol açtığı için oldukça önemlidir. En sık lenf nodu ve kemik metastazı görülür (22).

Sıklığı yaşla birlikte artış gösterir (5). Genellikle altıncı ve sekizinci dekadlar arasında görülür. 50 yaş altında nadiren saptanır (47). Otopsi çalışmalarında 80-89 yaşları arasındaki erkeklerin %71'inde latent prostat kanseri saptanmıştır (64).

Bizim çalışmamızda da olguların yaş dağılımı benzerdi. Gleason skoru 6 ve altında olan 30 olgunun yaş aralığı 53 ile 75 arasında, Gleason skoru 6'nın üzerinde olan 30 olgunun yaş aralığı 47-74 arasında değişmekte idi. Yalnızca bir olgu 50 yaş altında idi. Gleason skoru 6 ve altında olan olguların ortalama yaşı 64.10, Gleason skoru 6'nın üzerinde olan olguların ortalama yaşı 64.43 idi. Ayrıca Gleason skoru ile yaş dağılımı arasında bir ilişki izlenmedi.

Parmakla rektal muayene, transrektal ultrasonografi ve serum PSA değerinin birlikte değerlendirilmesi erken tanıda önemlidir (5). Prognozda preoperatif serum PSA değeri, patolojik evre (ekstraprostatik yayılım, veziküla seminalis invazyonu, çevre dokulara invazyon), cerrahi sınır durumu ve Gleason skoru önemlidir (32,44,56,65). Perinöral invazyonun prognostik değeri tartışmalı olsa da, tümör progresyonu ile korele olduğunu gösteren çalışmalar vardır (5).

Çalışmamıza dahil ettiğimiz adenokarsinomalı 30 Gleason skor ≤ 6 ve 30 Gleason skor >6 olmak üzere toplam 60 olgudan 8’inde ektrakapsüler yayılım, 10’unda veziküla seminalis tutulumu, 40’ında perinöral invazyon ve 4’ünde lenf nodu metastazı mevcuttu. Biz bu çalışmada Gleason skoru 6’nın üzerinde olan olgularda ve Gleason skoru 6 ve altında olan olgular arasında ektrakapsüler yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve perinöral invazyon açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptadık. Lenf nodu metastazı açısından iki grup arasındaki fark anlamlı değildi.

Goto T ve ark. yaptıkları çalışmada, tek değişkenli analizde tedavi öncesi PSA seviyesi, postoperatif Gleason skoru, patolojik evre ve veziküla seminalis invazyonunun erken dönemde artmış serum PSA düzeyi ile ilişkili olduğunu gösterdi (65).

Prostat kanserinin klinik gidişi oldukça değişkendir ve sadece histolojik kriterlerle prognoz başarılı bir şekilde tahmin edilemez (30). Prostat kanserinde her bir olgunun prognozunu, tümörün biyolojik karakteri belirler. Bu da hastanın tedavi stratejisini belirlemede önemlidir. Yavaş progresyon gösteren prostat kanserleri yalnızca takip veya cerrahi tedavi yaklaşımları için uygunken agresif büyüme paterni ve erken yayılım riski olan tümörlerde cerrahi tedaviye ek olarak radyoterapi ve kemoterapi tedavisi uygulanmalıdır. Sadece cerrahi ile kür elde edilebilen hastalar yanı sıra ek tedavi ve yakın takipten fayda görebilecek hasta grubu da mevcuttur (8).

Serum PSA düzeyleri ile tarama ve kor biyopsi ile tanısı konan hastalarda hastalığın latent olarak mı kalacağı yoksa progresyon mu göstereceğini öngörebilecek prognostik faktörlere yönelik çalışmalar devam etmektedir. Gelecekte, prostat kanserinin “moleküler parmak izi” sayesinde hangi hastanın cerrahi tedaviye, hangisinin radyoterapiye daha iyi cevap vereceğini, (neo)adjuvan hormonal tedavilerin yararlı olup olmayacağına, kemoterapi ve diğer tedavi modalitelerine daha iyi yanıt verip vermeyeceğini saptamak mümkün olabilecektir (66). Prostat kanseri progresyonundan sorumlu moleküler yolların saptanması hedefe yönelik tedavi stratejilerinin geliştirilmesine öncülük edecektir (66,67,68,69) .

Hastalığın progresyonunda, hücre adezyonu, apoptozis ve hücre proliferasyon kontrolü ile ilişkili moleküllerin kötü gidişi gösterdiği düşünülmektedir (8). Biz de prostat adenokarsinom olgularında hücre proliferasyonunu gösteren Ki-67, hücre proliferasyonunda anahtar rol oynayan p21, p27 ve siklin D1 değerlendirdik ve histopatolojik prognostik parametrelerle karşılaştırdık.

Nükleer hücre proliferasyonu ile ilişkili protein Ki-67 antijeni hücre siklusunda S, G2, M ve G1'in geç fazında eksprese olur. G0 fazındaki hücrelerde bulunmaz (28, 29,30). Formalin fikse spesmenlerde MIB 1 antikoru kullanıldığında Ki-67'yi değerlendirmek kolay ve objektiftir (30).

Ki-67 ile yapılmış olan proliferasyon aktivitesi çalışmaları sonucunda normal prostat dokusunun düşük proliferasyon gösterdiği, buna karşılık tümör dokusunda artmış proliferasyonu gösterir şekilde Ki-67 indeksinin yükseldiği saptanmıştır. Bu çalışmalarda da Ki-67'nin prognostik önemi olduğu kabul edilmiştir (22,30,32,34,70).

İmmünohistokimyasal olarak Ki-67 ile olguların çoğunda (59) boyanma izledik. Eşik değer 11.5'in üzeri kabul edildiğinde Gleason skor 6 ve altında olan olguların 2'sinde (%6.7), Gleason skor 6'nın üzerinde olan olguların 19'unda (%63.3) overekspresyon saptandı. Bu fark istatistiksel açıdan anlamlı idi.

Bizim çalışmamızda Gleason skor 6 ve üstünde olanları, Gleason skor 6'nın altında olanlardan ayırt etmede Ki-67 indeksinin kesim noktasını 11.5 olarak saptadık. Ki-67 indeksi 11.5'in üstünde olan olguların %63.3 olasılıkla Gleason skor >6, Ki-67 indeksi 11.5'in altında olan olguların %93.1 olasılıkla Gleason skor $\leq$ 6 olduğunu gördük. Ki-67 indeksini Gleason skoru $\leq$ 6 olan olguları tahmin etmede daha başarılı olduğunu saptadık.

Ekstrakapsüler yayılım izlenen 8 olgunun hepsinde, ekstrakapsüler yayılım izlenmeyen 52 olgunun 51'inde Ki-67 ile boyanma vardı. Ekstrakapsüler yayılım olanları, ekstrakapsüler yayılım olmayanlardan ayırt etmede Ki-67 indeksinin kesim

noktasını 17.5 olarak saptadık. Eşik değeri 17.5'in üstü boyanma kabul edildiğinde, ektrakapsüler yayılımı olan 8 olgunun 7'sinde (%87.5), ektrakapsüler yayılımı olmayan 52 olgunun 10'unda (%19.2) boyanma vardı. Bu durumda gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Ki-67 indeksi açısından %17.5'in üzerindeki değere sahip olgularda %87.5 duyarlılık ve %80.8 seçicilik oranında ektrakapsüler yayılım olduğu tahmin edilebilir.

Veziküla seminalis tutulumu ve Ki-67 indeksi arasındaki ilişkiye bakıldığında 17.5'in üzeri boyanma eşik değeri kabul edildiğinde veziküla seminalis tutulumu olan 10 olgunun 9'unda (%90), veziküla seminalis tutulumu olmayan 50 olgunun 8'inde (%16) overekspresyon saptandı. Veziküla seminalis tutulumu olanları tutulum olmayanlardan ayırmada eşik değeri 17.5 olması koşuluyla, istatistiksel fark anlamlı idi. Ki-67 indeksi 17.5'in üzerindeki değerlerde veziküla seminalis tutulumunu %90 duyarlılık ve %84 seçicilik oranında tahmin edilebilir.

Ki-67 indeksi 40 perinöral invazyonu olan olgu için 0-80 arasında, 20 perinöral invazyonu olmayan olgu için 1-70 arasında değişmekte idi. Aradaki fark anlamlı bulundu. Ki-67 için esas olarak 11.5 üzerindeki boyanma eşik değeri kabul edildiğinde perinöral invazyonu olan olguların 19'unda (%47.5), perinöral invazyon saptanmayan olguların ikisinde overekspresyon gözlemlendi. Bu durumda gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Ki-67 indeksi 11.5'in altında olan değerlerde %90 oranında perinöral invazyon olmadığı varsayılabilir. Ancak Ki-67 indeksi 11.5'in üzerinde olanlarda %47.5 oranında perinöral invazyon ihtimalinden söz edilebilir.

Bu çalışmada Ki-67 indeksinin, histopatolojik prognostik parametreler olan, Gleason skoru, ektrakapsüler yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve perinöral invazyonla korele olduğunu gösterdik.

Daha önce yapılan çalışmalarda da bizim çalışmamızdakine benzer şekilde prostat adenokarsinomlarındaki Ki-67 boyanma indeksinin prognostik parametrelerle

ilişkili olduğu gösterildi (22,30,34,70,71,72). Keshgegian AA ve ark. 208 prostat kanserli bir seride Ki-67 pozitifliğini Gleason skor, prostat dışına yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve lenf nodu tutulumu ile ilişkili bulmuştur (72). Bubendorf L ve ark. radikal prostatektomi uygulanan 137 olgu üzerinde yaptıkları çalışmada, tek parametrelili analiz uygulandığında tümör evresi, Gleason skoru, lenf nodu durumu ve Ki-67 indeksini anlamlı olarak prognozla ilişkili bulmuş, fakat Ki-67 indeksi ile Gleason skor, tümör evresi, lenf nodu durumu ve nöroendokrin diferansiasyon arasında ilişki tespit edilememiştir (30). Başka bir çalışmada, tek değişkenli analizler p53, Ki-67 ve kaveolin-1 boyanmasının postoperatif dönemde artmış serum PSA düzeyi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (65).

Claudio ve ark 24 olguluk çalışmalarında yüksek Ki-67 proliferasyon oranının artmış prostat kanseri rekürrensi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (22). Nariculan J ve ark. erken biyokimyasal relaps gelişen olgularla yapılan karşılaştırmada Ki-67 ekspresyonunda anlamlı farklılık saptamamıştır. Ancak benign prostat dokusu ile karşılaştırıldığında prostat adenokarsinomunda Ki-67'nin anlamlı olarak arttığını göstermiştir (32). Radyoterapi ile tedavi edilen lokalize prostat kanserli hastaların iğne biyopsileri ve TUR materyallerinde yapılan bir çalışmada, tedavi yetersizliğinin biyokimyasal nüks (PSA artışı) ve yüksek proliferasyon indeksi ile birlikte olduğu gösterilmiştir (71).

Mucci NR ve ark. iğne biyopsisi ve radikal prostatektomi spesmenlerinde Ki-67 ekspresyonu üzerine yaptıkları çalışmada, normal dokuda, yüksek grade'li PIN odağında ve prostat kanserli olgulardaki Ki-67 indeksinin, iğne biyopsileriyle ve radikal prostatektomiyle olan karşılaştırmasında istatistiksel anlamda bir fark görülmemiştir. Yani aynı kişiye ait prostat biyopsisi ve radikal prostatektomi materyallerinde Ki-67 ekspresyon seviyesinde fark edilebilir farklılık saptanmadı (70).

Diğer organlarda Ki-67 ile yapılan çalışmalarda değişik sonuçlar elde edilmiştir. Mesane kanserinde yapılan bir çalışmada, ürotelyal karsinomlu olguların klinik, patolojik ve immünohistokimyasal verilerini değerlendirdiklerinde Ki-67'nin yüksek rekürrens riskini saptamada kullanılabileceğini ortaya koymuştur (73). Gündoğdu C ve

ark. gliozis ve astrositomalar üzerinde yaptıkları araştırmada düşük gradeli astrositomalarda, gliozise göre artmış Ki-67 indeksini gösterdiler. Ayrıca astrositomun gradeleri ile Ki-67 arasında anlamlı ilişki saptadılar (74). Wu TJ ve ark. ince barsağın gastrointestinal stromal tümöründe Ki-67 indeksinin 10'un üzerinde olmasını kötü prognostik faktör olarak göstermişlerdir (75). Ayrıca nöroendokrin tümörlerin sınıflamasında ve tedavinin belirlenmesinde de Ki-67 indeksi kullanılmaktadır. (76). Başka bir çalışmada larinks epidermoid karsinomu olgularında histolojik grade ve ileri evre ile Ki-67 indeksi arasında anlamlı ilişki gösterilememiştir (77).

Prognostik faktör olarak Ki-67 indeksini değerlendiren çalışmalarda belirlenen eşik ("cut off") değer oldukça değişkendir. Bubendorf L ve ark.nın yapmış oldukları çalışmada Ki-67 indeksi 7.5'in üzerinde olanlarda hastalıksız yaşam daha kısa iken Cowen D ve ark.nın yapmış olduğu çalışmada Ki-67 indeksi 3.5'in üzerinde olanlarda postoperatif PSA artışı daha erken dönemde görülmektedir (30,71). Bir başka çalışmada da Ki-67 indeksi 8.5'in üzerinde olanlarda radikal prostatektomi sonrası erken dönemde serum PSA düzeyinin arttığı gösterildi. (65). Bizde çalışmamızda Gleason skoru ve perinöral invazyon açısından değerlendirirken %11.5'in üzerindeki boyanma, ektrakapsüler yayılım ve veziküla seminalis tutulumu açısından değerlendirirken %17.5'in üzerindeki boyanmayı pozitif kabul ettiğimizde anlamlı sonuca ulaştık.

Başka çalışmaları destekler şekilde bizim sonuçlarımıza göre de histopatolojik parametrelerin yanında Ki-67 ekspresyonu da prognostik markır olarak kullanılabilir (22,30). İğne biyopsilerinde adenokarsinoma tanısı alan olguların proliferasyon indeksine bakılarak hastalığın prognozu hakkında fikir sahibi olunabilir ve hangi tedaviden fayda göreceği belirlenebilir. Bunun için daha fazla sayıda olgu içeren, uzun süreli takip çalışmaları yapılarak Ki-67 indeksi için eşik değer belirlenmelidir.

Son zamanlarda prostat adenokarsinomlarında p21, p27 ve siklin D1 ekspresyonunu değerlendiren çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

CDK inhibitörü olan p21 hücre siklusunu G1 fazında durdurur (6,11,13,14,15). p21'in proliferasyonun negatif kontrolünde önemli rol oynadığı düşünülüyor (11).

Bazı çalışmalar, p21 ile non-neoplastik prostat dokusunda immünreaksiyon gösteremezken (8,9), bazı çalışmalarda non-neoplastik prostat dokusunda yer yer pozitif p21 immünreaktivitesi tanımlanmıştır (78). Prostat kanserinde p21 proteini ekspresyonu nükleusta lokalizedir (8,11,12). Biz de çalışmamızda non-neoplastik prostat dokusunda boyanma izlemedik. Bazı olgularda tümör alanında nükleer ekspresyon saptadık. Nükleer boyanmayı pozitif kabul edip p21 ile boyanma yüzdesini hesapladık.

Çalışmamızda p21 ile boyanma perinöral invazyonu olan olgularda (ortanca 5), perinöral invazyonu olmayan olgulara (ortanca 0) göre daha fazla idi. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu. Perinöral invazyonu tahmin etmede p21 için kesim noktasını %3 olarak saptadık. p21 boyanma oranı %3 üzerindeki değere sahip olan olgularda %62.5 duyarlılık, %70 seçicilik düzeyi ile perinöral invazyon varlığı belirlenebilir.

p21 ile boyanma Gleason skor 6 ve altında olan olgular için 0-30, Gleason skor 6'nın üzerinde olan olgularda 0-80 arasında değişmekte idi. p21 ile boyanma Gleason skoru 6'nın üzerinde olanlarda, Gleason skoru 6 ve altında olanlara göre daha fazla idi. Ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Benzer şekilde ekstrakapsüler yayılımı olan olgularda (ortanca 8), ekstrakapsüler yayılım olmayanlara (ortanca 2) göre, veziküla seminalis tutulumu olan olgularda (ortanca 5), veziküla seminalis tutulumu olmayan olgulara (ortanca 2) göre p21 ile boyanma oranı yüksek idi. Fakat aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Son zamanlarda prostat kanserinde p21 ekspresyonunu değerlendiren çeşitli çalışmalar yapılmış ve çeşitli sonuçlar elde edilmiştir (6,8,9,12,18,78). Çalışmaların bazılarında, tam mekanizması bilinmese de, prostat kanserinde p21 ekspresyonu ileri evre, yüksek Gleason skoru ve kısa zamanda artmış serum PSA düzeyi ile korelasyon gösterir (8,9,12,18).

Baretton ve ark, p21 ekspresyonunu kısa survi göstermede prognostik faktör olarak anlamlı bulmuşlardır (74). Başka bir çalışmada prostat kanserinde p21 ekspresyonu ile yüksek Gleason skoru arasında korelasyon gösterilmiştir (8). Aaltomaa ve ark. 213 olgudan oluşan çalışmalarında, p21 ekspresyonunun yüksek Gleason skoru, DNA anöploidisi, Ki-67, bcl-2, siklin A ve siklin D ekspresyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca p21 ekspresyonunun kötü prognozla anlamlı olarak ilişkili olduğunu bulmuşlardır (8). Bir başka çalışmada da p21 ile biyokimyasal relaps arasında korelasyon bildirilmiştir. Ancak bu çalışmada ilginç olarak p21 beyaz ırkta prognostik belirleyici olarak gösterilirken benzer ilişki Afrika kökenli Amerikalılarda gösterilememiştir (18). Biz de çalışmamızda prognostik parametre olarak kabul edilen perinöral invazyon ile p21 boyanması arasında korelasyon saptadık.

Çok değişkenli regresyon modeli kullanıldığında, Osman ve ark. 86 radikal prostatektomi spesmeninde p21 ekspresyonunu değerlendirdikleri çalışmada, p21 pozitivitesinin kısa zamanda oluşan PSA relapsı ile ilişkili olduğunu bulmuş, ancak p21 pozitivitesi ile Gleason skoru, preoperatif serum PSA seviyesi, cerrahi sınır durumu, veziküla seminalis tutulumu ve lenf nodu metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterilememiştir (79). Benzer şekilde Lacombe L ve ark. radikal prostatektomi yapılmış pT3 kanserli 296 olgu üzerinde yaptıkları araştırmada p21 overekspresyonunun postoperatif dönemde artmış serum PSA düzeyini göstermede bağımsız prediktör faktör olduğunu saptamış, ancak p21 overekspresyonu ile patolojik evre, cerrahi sınır durumu, lenf nodu durumu, Gleason skoru ve preoperatif serum PSA düzeyi arasında ilişki gösterilememiştir (9). Wu TT ve ark. radikal prostatektomiye gitmiş 275 pT2 olgusunda Gleason skoru ≤ 6 ve Gleason skoru >6 ile p21 ekspresyonu arasındaki ilişkiyi araştırmış ve Gleason skoru ile p21 ekspresyonu arasında korelasyon saptamamıştır (6). Biz de bu çalışmalara benzer olarak p21 ekspresyonu ile Gleason skoru, ekstrakapsüler yayılım ve veziküla seminalis tutulumu arasında anlamlı ilişki bulamadık.

Diğer organlarda p21 ile yapılan çalışmalarda değişik sonuçlar elde edilmiştir. Meme, akciğer ve mide kanserlerinde p21'in iyi prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (14,16,17). Pankreas adenokarsinomlarında ise p21 erken klinik evre ile ilişkilidir (13).

Tersine mesane kanserinde p21 ekspresyonu tümör grade'i ve evresi ile korelasyon gösterirken p21 ekspresyonu ile tümör rekürrensi ve progresyonu arasında ilişki bulunmuştur (80).

p27, siklin E-CDK2 kompleksini bağlayarak ve inaktive ederek hücre proliferasyonunu inhibe eder ve G1'den S fazına geçişi durdurur (6,7,11,19,20,21). Negatif hücre düzenleyicisi p27'de kayıp, onkogenezis ve tümör progresyonuna katkıda bulunabilir (10).

Yapılan çalışmalarda p27 ile normal ve benign prostat epitelinde nükleusta yoğun olmak üzere nükleer ve sitoplazmik boyanma izlenmiştir (7,25,81). Biz de çalışmamızda non-neoplastik prostat dokusunda nükleer ve zayıf sitoplazmik boyanma izledik. Ayrıca lenfositlerde yaygın ve kuvvetli boyanma saptadık. Tümör dokusunda nükleer ve hafif sitoplazmik boyanma mevcuttu. Biz çalışmamızda nükleer boyanmayı pozitif kabul ettik.

p27 ile boyanma Gleason skor 6 ve altında olan olgular (ortanca 70) ile Gleason skoru 6'nın üzerinde olan olgularda (ortanca 65), ekstrakapsüler yayılım izlenen (ortanca 55) ve izlenmeyen (ortanca 70) olgularda benzerdi. Veziküla seminalis tutulumu olan (ortanca 70) ve olmayan olgularda (ortanca 70) ve perinöral invazyonu olan (ortanca 70) ve olmayan olgularda (ortanca 70) ise p27 ile boyanma oranı aynı idi. Yani gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Dreher T ve ark. Gleason skor 6 ve altında olan 64 olgu ve Gleason skor 6'nın üzerinde olan 66 olgudan oluşan çalışmada, tümör grade'i ile p27 boyanmasının lokalizasyonunu değerlendirmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır (81). Wu TT ve ark. 43'ü Gleason skor 6 ve altında, 10'u Gleason skor 6'nın üzerinde olan toplam 53 radikal prostatektomi uygulanmış olgu üzerinde yaptıkları çalışmada p27 ile Gleason skoru arasında ilişki bulamamışlardır (6). Biz de çalışmamızda benzer şekilde p27 ekspresyonu ile histopatolojik prognostik faktörler arasında ilişki bulamadık.

Guo Y ve ark. çalışmalarında, normal ve benign prostat glandüler epiteline göre prostat kanserinde p27 immünreaktivitesinin azaldığını saptamışlardır. Ayrıca azalmış p27 ekspresyonunun yüksek tümör grade'i ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (25). Tsihlias J ve ark.'nın çalışmalarında 113 radikal prostatektomi spesmeninde p27 çalışılmış ve preoperatif serum PSA düzeyi, klinik ve patolojik evre, Gleason skoru, biyokimyasal ve klinik rekürrens ve survi ile karşılaştırmışlardır. Azalmış p27 boyanması, veziküla seminalis tutulumu ve yüksek Gleason skoru ile korele bulunmuştur (7). Başka bir çalışmada da p27 ekspresyonunun azalması veya yokluğu kötü prognostik faktör olarak gösterilmiştir (26).

p27'in çeşitli malignitelerin patogenezinde kritik rol oynadığı düşünülmüş ve azalmış ekspresyonunun kanserli hastalarda kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (81). Başka organlarda yapılan çalışmalarda p27 ekspresyon kaybı akciğer, meme, mide ve kolorektal kanser gibi birçok tümörde gösterilmiş, kötü prognoz ve agresif davranışla korele bulunmuştur (20,21,22, 23,24). Mesane kanserinde p27 ekspresyon kaybı ile ileri evre ve rekürrens riski arasında ilişki gösterilememiştir (80).

Siklin D, CDK4'e bağlanarak CDK4'ü aktive eder ve "siklin D-CDK4" kompleksini oluşturur. Bu kompleks retinoblastoma duyarlılık proteinini (RB) fosforile ederek hücre siklusunun ilerlemesindeki ana engeli ortadan kaldırır ve hücre replikasyonunu uyarır (10,19). Siklin D1 overekspresyonunun G1 fazını kısalttığı ve S fazına girişi hızlandırdığı söylenmektedir. Transgenik fare çalışmaları siklin D1'in diğer faktörlerle kombinasyonu ile onkojenik rolü olabileceğini söylemektedir.

Siklin D1 ile boyanan örneklerde nükleer ve yer yer sitoplazmik boyanma saptadık. Nükleer boyanmayı pozitif olarak değerlendirdik.

Çalışmamızda siklin D1 ile boyanma oranı Gleason skoru 6'nın üzerinde olan olgular (ortanca 10) ile Gleason skoru 6 ve altında olanlar (ortanca 5) arasında istatistiksel olarak farklı değildi. Ekstrakapsüler yayılım izlenen 8 olgunun boyanma oranı (ortanca 20), ekstrakapsüler yayılım olmayan 52 olgudan (ortanca 5) daha fazla idi. Ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Veziküla seminalis

tutulumu olan (ortanca 10) ve olmayan (ortanca 10) olgular arasında siklin D1 ile boyanma açısından fark saptanmadı. Perinöral invazyonu olan 40 olguda (ortanca 5) ve perinöral invazyon izlenmeyen 20 olguda (ortanca 7.5) siklin D1 ile boyanma oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

Dronjak M ve ark 29'u Gleason skor ≤ 6 ve 18'i Gleason skor >6 olan radikal prostatektomi materyalinde yaptıkları çalışmada siklin D1 overekspresyonu ile Gleason skoru arasında ilişki gösteremediler (82). Başka bir çalışmada da siklin D1 ekspresyonu ile Gleason skoru arasında anlamlı ilişki gösterilemedi (83). Bu iki çalışmanın sonuçları bizim çalışmamız ile benzer idi.

Comstock ve ark. 38 non-neoplastik prostat örneği, 138 primer prostat kanseri ve metastatik 3 lenf nodu spesmeninde siklin D1 ile immünohistokimyasal çalışma yapmışlar ve nükleer siklin D1 boyanmasını yüksek grade (Gleason skor 8 ve 9) ile ilişkili bulmuşlardır. Non-neoplastik prostat dokusunda nükleer boyanma saptanmamıştır (62). Aaltoma ve arkadaşları orşiektomi ile tedavi edilen olgularda siklin D1 negatif olanların survinin siklin D1 pozitif olanlardan daha uzun olduğunu göstermişlerdir (8).

Bu çalışmada Ki-67 ekspresyonu ile yüksek Gleason skoru, ekstraprostatik yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve perinöral invazyon arasında korelasyon olduğunu gösterdik.

Bu verilerle Ki-67 indeksinin tanı amaçlı biyopsilerde doğru yaklaşım ve tedavi için yardımcı olabileceği, rezeksiyondan sonra ek tedavi gerekliliğini tespit etmede yardımcı olabileceği düşünüldü.

p21 ekspresyonu ile perinöral invazyon arasında ilişki olduğunu saptadık. Gleason skoru >6 olanlar olgularda, ekstraprostatik yayılımı olan olgularda ve veziküla seminalis tutulumu olan olgularda p21 boyanmasında artış mevcuttu. Ancak istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu. Gleason skoru >6 olanlar olgularda ve ekstraprostatik

yayılımı olan olgularda p27 ekspresyonunda azalma saptadık. Ancak p27 ekspresyonundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi. Veziküla seminalis tutulumu olanlarda tutulum olmayan olgular ile benzer boyanma mevcuttu. Gleason skoru >6 olan olgularda, ekstraprostatik yayılımı olan olgularda ve veziküla seminalis tutulumu olan olgularda siklin D1 ekspresyonunda artış vardı. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi. Perinöral invazyonu olan ve olmayan olgularda siklin D1 ile benzer boyanma mevcuttu.

p21, p27 ve siklin D1 ile daha geniş serilerde hasta survi, biyokimyasal relaps ve gelişen metastazı içeren klinik verilerle birlikte yapılan çalışmalarda daha anlamlı sonuç alınabileceği düşünülmektedir.

SONUÇLAR

Çalışmamızda 30'u Gleason skor ≤ 6 , 30'u Gleason skor >6 olmak üzere toplam 60 prostat adenokarsinoma olgusu değerlendirildi. Olguların 8'inde ekstrakapsüler yayılım, 10'unda veziküla seminalis tutulumu, 40'ında perinöral invazyon ve 4'ünde lenf nodu metastazı mevcuttu. Yaş aralığı 47-75 arasında değişmekte idi.

Gleason skor ≤ 6 olan olguların yaşları 53 ile 75 arasında değişmekte, ortalama 64,10 idi. Gleason skor >6 olan olguların yaşları 47 ile 74 arasında değişmekte, ortalama 64,43 idi. Gruplar arasında yaş ortalamaları yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.833$).

Gleason skor ≤ 6 olan olguların hiçbirinde ekstrakapsüler yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve lenf nodu metastazı izlenmedi. Gleason skor >6 olan 8 (%26.7) olguda ekstrakapsüler yayılım, 10 (%33.3) olguda veziküla seminalis tutulumu ve 4 (%13.3) olguda lenf nodu metastazı saptandı. İki grup arasında ekstrakapsüler yayılım ve veziküla seminalis tutulumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p=0.005$, <0.001). Lenf nodu metastazı açısından iki grup arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.112$).

Gleason skor ≤ 6 olan 13 (%43.3) olguda ve Gleason skor >6 olan 27 (%90) olguda perinöral invazyon gözlemlendi. İki grup arasında perinöral invazyon açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0.001$).

Sonuçta Gleason skor >6 olan olgularda, perinöral invazyon, ekstrakapsüler yayılım ve veziküla seminalis tutulumunun Gleason skor ≤ 6 olan olgulara göre daha fazla olduğu gözlemlendi.

Bu özelliklere sahip olgularda immünohistokimyasal olarak Ki-67, p21, p27 ve siklin D1 çalışıldı.

Gleason skor ≤ 6 olan olguların hepsinde (30) ve >6 olan olguların çoğunda (29) Ki-67 ile boyanma gözlenmekle birlikte, eşik değeri ≥ 11.5 'in üzeri kabul edildiğinde Gleason skor ≤ 6 olan 2 (%6.7) olguda, Gleason skor >6 olan 19 (63.3) olguda overekspresyon saptandı. Bu fark istatistiksel açıdan anlamlı idi ($p<0.001$).

Ekstrakapsüler yayılım izlenen 8 olgunun hepsinde, ekstrakapsüler yayılım izlenmeyen 52 olgunun 51'inde Ki-67 ile boyanma vardı. Eşik değeri ≥ 17.5 'in üstü boyanma kabul edildiğinde, ekstrakapsüler yayılımı olan 8 olgunun 7'sinde (%87.5), ekstrakapsüler yayılımı olmayan 52 olgunun 10'unda (%19.2) boyanma vardı. Bu durumda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p=0.005$).

Veziküla seminalis tutulumu ve Ki-67 indeksi arasındaki ilişkiye bakıldığında ≥ 17.5 'in üzeri boyanma eşik değeri kabul edildiğinde veziküla seminalis tutulumu olan 10 olgunun 9'unda (%90), veziküla seminalis tutulumu olmayan 50 olgunun 8'inde (%16) overekspresyon saptandı. Veziküla seminalis tutulumu olanları tutulum olmayanlardan ayırmada eşik değeri ≥ 17.5 olması koşulunda, istatistiksel fark anlamlı idi ($p<0.001$).

Ki-67 için esas olarak ≥ 11.5 üzerindeki boyanma eşik değeri kabul edildiğinde perinöral invazyonu olan olguların 19'unda (%47.5), perinöral invazyon saptanmayan olguların ikisinde overekspresyon gözlemlendi. Bu durumda gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.006$).

Farklı Gleason skoruna sahip tümörleri birbirinden ayırt etmede, ekstrakapsüler yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve perinöral invazyon varlığını tahmin etmede Ki-67'nin etkili olduğu ROC analizi ile görüldü. Gleason skor >6 olan tümörleri, Gleason skor ≤ 6 olan tümörlerden ayırt edilmesinde Ki-67 için kesme noktası 11,5 olarak belirlendi. Duyarlılık %63.3, seçicilik %93.3 idi. Ekstrakapsüler yayılım olanları, yayılım olmayanlardan ayırmada Ki-67 için kesme noktası 17.5 olarak belirlendi. Duyarlılık %87.5, seçicilik %80.8 idi. Veziküla seminalis tutulumunu tahmin etmede Ki-67 için kesme noktası yine 17.5 olarak belirlendi ve duyarlılık %90, seçicilik %84 idi. Perinöral invazyon olanları tahmin etmede kesme noktası 11.5 olarak belirlendi. Duyarlılık %47.5, seçicilik %90 idi.

p21 ile boyanma indeksi Gleason skor ≤ 6 olan olgularda 0-30 arasında (ortanca 2), Gleason skor >6 olan olguda ise 0-80 arasında (ortanca 5) değişmekte idi. p27 ile boyanma indeksi Gleason skor ≤ 6 olan olgularda 0-97 arasında (ortanca 70), Gleason skor >6 olan olgularda ise 0-95 arasında (ortanca 65) değişim göstermekte idi. Siklin D1 ile boyanma oranı Gleason skor ≤ 6 olan olgularda 0-95 arasında (ortanca 5), Gleason skor >6 olanlarda 0-95 arasında (ortanca 10) değişmekte idi. İki grup arasında p21, p27 ve siklin D1 ile boyanma açısından saptanan fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.417, 0.817, 0.409$).

p21 ile boyanma indeksi ekstrakapsüler yayılım izlenen 8 olguda 0-80 arasında (ortanca 8), ekstrakapsüler yayılım olmayan 52 olguda 0-40 arasında (ortanca 2) değişmekte idi. Ekstrakapsüler yayılım izlenen olgularda p27 ile boyanma indeksi 5-95 arasında (ortanca 55), siklin D1 ile boyanma indeksi 0-97 arasında (ortanca 70) değişmekte idi. Ekstrakapsüler yayılım olmayan olgularda p27 ile boyanma indeksi 0-97 arasında (ortanca 70), siklin D1 ile boyanma indeksi 0-95 arasında (ortanca 5) değişmekte idi. Ekstrakapsüler yayılım olan ve olmayan olgular arasında p21, p27 ve siklin D1 ile boyanma yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p=0.156, 0.913, 0.529$).

Veziküla seminalis tutulumu olan 10 olgudaki boyanma p21 için 0-80 arasında (ortanca 5), p27 için 5-95 arasında (ortanca 70), siklin D1 için 0-50 arasında (ortanca 10) değişmekte iken veziküla seminalis tutulumu olmayan 50 olgudaki boyanma p21 için 0-40 arasında (ortanca 2), p27 için 0-97 arasında (ortanca 70), siklin D1 için 0-95 arasında (ortanca 5) değişmekte idi. İki grup arasında p21, p27 ve siklin D1 ile boyanmada saptanan fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.377, 0.413, 0.364$).

Sonuç olarak p21 ile boyanma perinöral invazyonu olan olgularda (ortanca 5), perinöral invazyonu olmayan olgulara (ortanca 0) göre daha fazla idi. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu (0.042). p21 için esas olarak %3 üzerindeki boyanma eşik değeri kabul edildiğinde perinöral invazyonu olan olguların 25'inde

(%80.6), perinöral invazyon saptanmayan olguların 6'sinde (%19.4) overekspresyon gözlemlendi. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p=0.05$).

P27 ile boyanma perinöral invazyon izlenen 40 olgu için 0-95 arasında (ortanca 70), perinöral invazyonu olmayan 20 olgu için 0-97 arasında (ortanca 70) idi. İki grup arasında fark saptanmadı ($p=0.913$). Siklin D1 ile boyanma perinöral invazyon izlenen 40 olgu için 0-90 arasında (ortanca 5), perinöral invazyonu olmayan 20 olgu için 0-95 arasında (ortanca 7.5) idi. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.913$).

Ki-67 indeksinin artmış Gleason skoru, ekstrakapsüler yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve perinöral invazyon varlığı ile artış göstermesi, proliferatif aktiviteyi gösteren Ki-67 indeksinin tümör agresifliği ile korele olduğunu düşündürdü.

ÖZET

Çalışmamızda prostat adenokarsinomlarında Ki-67, p21, p27 ve siklin D1 ekspresyonu değerlendirildi. Bu markırların Gleason skoru, ekstrakapsüler yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve perinöral invazyon ile ilişkisi araştırıldı.

Çalışmaya 30 Gleason skor ≤ 6 , 30 Gleason skor >6 adenokarsinoma olgusu dahil edildi. Olguların 8'inde ekstrakapsüler yayılım, 10'unda veziküla seminalis tutulumu, 40'ında perinöral invazyon ve 4'ünde lenf nodu metastazı vardı. Ekstrakapsüler yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve lenf nodu metastazı olan olguların hepsi Gleason skor 6'dan yüksek idi. Gleason skor ≤ 6 olan olguların 13'ünde, Gleason skor >6 olan olguların 27'sinde perinöral invazyon mevcuttu. Her olgu için yaş belirlendi.

Yaş ile Gleason skoru arasında korelasyon gösterilemedi. Gleason skoru ile ekstrakapsüler yayılım, veziküla seminalis tutulumu, perinöral invazyon arasında korelasyon saptandı. Lenf nodu metastazı ile Gleason skoru arasında anlamlı ilişki gösterilemedi.

Ki-67, p21, p27 ve siklin D1 için nükleer boyanma pozitif kabul edildi ve boyanma yüzdesi değerlendirildi.

Ki-67 indeksi ile Gleason skoru, ekstraprostatik yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve perinöral invazyon arasında korelasyon gözlemlendi.

Ki-67 indeksinin Gleason skor 6 ve üstünde olanları, Gleason skor 6'nın altında olanlardan ayırt etmede kesim noktasını 11.5, ekstraprostatik yayılım olanları olmayanlardan ayırt etmede kesim noktasını 17.5, veziküla seminalis tutulumu olanları tutulum olmayanlardan ayırt etmede kesim noktasını 17.5, perinöral invazyonu olanları perinöral invazyonu olmayanlardan ayırt etmede kesim noktasını 11.5 olarak saptandı.

p21 boyanma oranı ile perinöral invazyon arasında anlamlı ilişki mevcuttu. Perinöral invazyonu olanları perinöral invazyonu olmayanlardan ayırt etmede p21'in kesim noktasını 11.5 olarak saptandı. p21 ile Gleason skoru, ekstraprostatik yayılım ve veziküla seminalis tutulumu arasında korelasyon yoktu.

p27 ile Gleason skoru, ekstraprostatik yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve perinöral invazyon arasında anlamlı ilişki gösterilemedi.

Siklin D1 ile Gleason skoru, ekstraprostatik yayılım, veziküla seminalis tutulumu ve perinöral invazyon arasında korelasyon saptanmadı.

Summary

Expression of p21, p27, cyclin D1 and Ki-67 in prostatic adenocarcinoma: correlation with Gleason score, extracapsular extension, vesicula seminalis invasion and perineural invasion

In this study, Ki-67, p21, p27 and cyclin D1 expression in prostate adenocarcinoma are evaluated. The correlation between these markers and Gleason score, extracapsular extension, vesicula seminalis invasion and perineural invasion is analyzed.

The study includes 30 adenocarcinoma cases with Gleason score ≤ 6 and 30 cases with Gleason score > 6 . Among these cases 8 of them have extracapsular extension, 10 have vesicula seminalis invasion, 40 have perineural invasion and 4 have lymph node metastasis. All cases that have extracapsular extension, vesicula seminalis invasion and lymph node metastasis are the cases with Gleason score > 6 . There exist perineural invasion in 13 cases with Gleason score ≤ 6 and 27 cases with Gleason score > 6 . For all cases, ages are determined.

No correlation is shown between age and Gleason score. A correlation between Gleason score and extracapsular extension, vesicula seminalis invasion and perineural invasion is determined. No significant correlation between lymph node metastasis and Gleason score is determined.

The nuclear staining is assumed to be positive for Ki-67, p21, p27 and cyclin D1, and the percentage of staining is evaluated.

A correlation between Ki-67 index and Gleason score, extraprostatic extension, vesicula seminalis invasion and perineural invasion is observed.

The cut-off points of Ki-67 index for differentiating Gleason score ≤ 6 from Gleason score > 6 is determined as 11.5, having extraprostatic extension from those not

having is determined as 17.5, having vesicula seminalis invasion from those not having is determined as 17.5, and having perineural invasion from those not having is determined as 11.5.

There exists a significant correlation between p21 staining rate and perineural invasion. The cut-off points of p21 in differentiating the ones having perineural invasion from those not having is determined as 11.5. There exists no correlation between p21 and Gleason score, extraprostatic extension and vesicula seminalis invasion.

A significant correlation between p27 and Gleason score, extraprostatic extension, vesicula seminalis invasion and perineural invasion cannot be shown.

A correlation between cycline D1 and Gleason score, extraprostatic extension, vesicula seminalis invasion and perineural invasion cannot be determined.

KAYNAKLAR

- 1- Quinn DI, Henshall SM, Haynes AM, Brenner PC, Kooner R, et al. Prognostic significance of pathologic features in localized prostate cancer treated with radical prostatectomy: implications for staging systems and predictive models. *J Clin Oncol.* 2001;19(16):3692-3705.
- 2- Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, et al. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008;58(2):71-96.
- 3- Epstein JI, Algaba F, Allsbrook Jr WC, Bastacky S, Baccon-Gibod L, et al. Tumors of the Prostate. In: Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA eds. *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology&Genetics. Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs.* Lyon: IARC Press; 2004. p. 160-202.
- 4- Ro JY, Amin MB, Kim K, Ayala AG. Prostate and Seminal Vesicles. In: Fletcher CDM, ed. *Diagnostic Histopathology of Tumors. Vol 1. 3rd ed.* China: Churchill Livingstone Elsevier; 2007. p. 749-812.
- 5- Rosai J. Prostate and Seminal Vesicles. In: Rosai J, ed. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. Vol 1. 9th ed.* China: Mosby; 2004. p. 1361-1412.
- 6- Wu TT, Wang JS, Jiaan BP, Yu CC, Tsai JY, et al. Role of p21(WAF1) and p27(KIP1) in predicting biochemical recurrence for organ-confined prostate adenocarcinoma. *J Chin Med Assoc* 2007;70(1):11-15.
- 7- Tsihlias J, Kapusta LR, DeBoer G, Morava-Protzner I, Zbieranowski I, et al. Loss of cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 is a novel prognostic factor in localized human prostate adenocarcinoma. *Cancer Res* 1998;58(3):542-548.
- 8- Aaltomaa S, Lipponen P, Eskelinen M, Ala-Opas M, Kosma VM. Prognostic value and expression of p21(waf1/cip1) protein in prostate cancer. *Prostate* 1999;39(1):8-15.
- 9- Lacombe L, Maillette A, Meyer F, Veilleux C, Moore L, et al. Expression of p21 predicts PSA failure in locally advanced prostate cancer treated by prostatectomy. *Int J Cancer* 2001;95(3):135-139.

- 10- Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Neoplasia. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N eds. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th ed. China: Elsevier;2005. p. 269-342.
- 11- El-Deiry WS, Tokino T, Waldman T, Oliner JD, Velculescu VE, et al. Topological control of p21WAF1/CIP1 expression in normal and neoplastic tissues. *Cancer Res* 1995;55(13):2910-2919.
- 12- Royuela M, Arenas MI, Bethencourt FR, Sánchez-Chapado M, Fraile B, et al. Immunoexpressions of p21, Rb, mcl-1 and bad gene products in normal, hyperplastic and carcinomatous human prostates. *Eur Cytokine Netw.* 2001;12(4):654-63.
- 13- Dergham ST, Dugan MC, Joshi US, Chen YC, Du W, et al. The clinical significance of p21(WAF1/CIP-1) and p53 expression in pancreatic adenocarcinoma. *Cancer* 1997;80(3):372-381.
- 14- Komiya T, Hosono Y, Hirashima T, Masuda N, Yasumitsu T, et al. p21 expression as a predictor for favorable prognosis in squamous cell carcinoma of the lung. *Clin Cancer Res* 1997;3(10):1831-1835.
- 15- Waldman T, Kinzler KW, Vogelstein B. p21 is necessary for the p53-mediated G1 arrest in human cancer cells. *Cancer Res.* 1995;55(22):5187-5190.
- 16- Gamboa-Dominguez A, Seidl S, Reyes-Gutierrez E, Hermannstädter C, Quintanilla-Martinez L, et al. Prognostic significance of p21WAF1/CIP1, p27Kip1, p53 and E-cadherin expression in gastric cancer. *J Clin Pathol* 2007;60(7):756-761.
- 17- Lipponen P, Aaltomaa S, Eskelinen M, Ala-Opas M, Kosma VM. Expression of p21(waf1/cip1) protein in transitional cell bladder tumours and its prognostic value. *Eur Urol* 1998;34(3):237-243.
- 18- Sarkar FH, Li Y, Sakr WA, Grignon DJ, Madan SS, et al. Relationship of p21(WAF1) expression with disease-free survival and biochemical recurrence in prostate adenocarcinomas (PCa). *Prostate* 1999;40(4):256-260.
- 19- Ioachim EE, Katsanos KH, Michael MC, Tsianos EV, Agnantis NJ. Immunohistochemical expression of cyclin D1, cyclin E, p21/waf1 and p27/kip1 in inflammatory bowel disease: correlation with other cell-cycle-related proteins

- (Rb, p53, ki-67 and PCNA) and clinicopathological features. *Int J Colorectal Dis* 2004;19(4):325-333.
- 20- Catzavelos C, Bhattacharya N, Ung YC, Wilson JA, Roncari L, et al. Decreased levels of the cell-cycle inhibitor p27Kip1 protein: prognostic implications in primary breast cancer (abstract). *Nat Med* 1997;3(2):227-230.
 - 21- Esposito V, Baldi A, De Luca A, Groger AM, Loda M, et al. Prognostic role of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 in non-small cell lung cancer. *Cancer Res.* 1997;57(16):3381-3385.
 - 22- Claudio PP, Zamparelli A, Garcia FU, Claudio L, Ammirati G, et al. Expression of cell-cycle-regulated proteins pRb2/p130, p107, p27(kip1), p53, mdm-2, and Ki-67 (MIB-1) in prostatic gland adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2002;8(6):1808-1815.
 - 23- Tan P, Cady B, Wanner M, Worland P, Cukor B, et al. The cell cycle inhibitor p27 is an independent prognostic marker in small (T1a,b) invasive breast carcinomas. *Cancer Res* 1997;57(7):1259-1263.
 - 24- Singh SP, Lipman J, Goldman H, Ellis FH Jr, Aizenman L, et al. Loss or altered subcellular localization of p27 in Barrett's associated adenocarcinoma. *Cancer Res* 1998;58(8):1730-1735.
 - 25- Guo Y, Sklar GN, Borkowski A, Kyprianou N. Loss of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27(Kip1) protein in human prostate cancer correlates with tumor grade. *Clin Cancer Res* 1997;3:2269-2274.
 - 26- Yang RM, Naitoh J, Murphy M, Wang HJ, Phillipson J, et al. Low p27 expression predicts poor disease-free survival in patients with prostate cancer. *J Urol* 1998;159(3):941-945.
 - 27- Cheville JC, Lloyd RV, Sebo TJ, Cheng L, Erickson L, et al. Expression of p27kip1 in prostatic adenocarcinoma. *Mod Pathol* 1998;11(4):324-328.
 - 28- Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker HH, Schwab U, et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67 (abstract). *J Immunol.* 1984 Oct;133(4):1710-1715.
 - 29- Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol.* 2000;182(3):311-322.

- 30- Bubendorf L, Sauter G, Moch H, Schmid HP, Gasser TC, et al. Ki67 labelling index: an independent predictor of progression in prostate cancer treated by radical prostatectomy. *J Pathol* 1996;178(4):437-441.
- 31- Brown DC, Gatter KC. Ki67 protein: the immaculate deception? *Histopathology*. 2002;40(1):2-11.
- 32- Nariculam J, Freeman A, Bott S, Munson P, Cable N, et al. Utility of tissue microarrays for profiling prognostic biomarkers in clinically localized prostate cancer: the expression of BCL-2, E-cadherin, Ki-67 and p53 as predictors of biochemical failure after radical prostatectomy with nested control for clinical and pathological risk factors. *Asian J Androl* 2009;11(1):109-118.
- 33- Mashal RD, Lester S, Corless C, Richie JP, Chandra R, et al. Expression of cell cycle-regulated proteins in prostate cancer. *Cancer Res*. 1996;56(18):4159-4163.
- 34- Raymond WA, Leong AS, Bolt JW, Milios J, Jose JS. Growth fractions in human prostatic carcinoma determined by Ki-67 immunostaining. *J Pathol*. 1988;156(2):161-167.
- 35- Oğuz EO. Pelvis Organları Embriyolojisi ve Histolojisi. Balbay MD. ed. Prostat'da. 1.Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi; 2008. s. 1-7.
- 36- Sadler TW (Çeviri: AC Başaklar). Langman's Medikal Embriyoloji. Ankara: Palme Yayıncılık; 1993:246-282.
- 37- McNeal JE. Prostate. In: Mills SE. ed. *Histology for Pathologist*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott William&Wilkins;2007. p. 923-943.
- 38- Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 2.Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 1997:422-425.
- 39- Young RH, Srigley JR, Amin MB, Ulbright TM, Cubilla AL. In: Rosai J, ed. *Atlas of Tumor Pathology. Tumors of the Prostate Gland, Seminal Vesicles, Male Urethra, and Penis*. 3rd series. Washington: ARP; 2000. p. 1-31.
- 40- Epstein JI. The prostate and seminal vesicles. In: Mills SE. ed. *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*. Vol:3. 4th ed. India: Lippincot Williams &Wilkins, 2004: 2083-2132.
- 41- Bostwick DG. Surgical Pathology of the Prostate. In: Weidner N, Cote RJ, Suster S, Weiss LM eds. *Modern Surgical Pathology*. Vol 2. 1st ed. Hong Kong: Saunders; 2003.p. 1149-1197.

- 42- Humphrey PA. In: Silverber's Principles and Practice of Surgical Pathology and Cytopathology. Vol 2. 4th ed. China: Elsevier; 2006. p. 1791-1830.
- 43- McNeal JE. Normal histology of the prostate. Am J Surg Pathol. 1988;12(8):619-633.
- 44- Epstein JI. The Lower Urinary Tract and Male Genital System. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N eds. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th ed. China: Elsevier;2005. p. 1047-1059.
- 45- Junqueira LC, Carneiro J, Lelley PO (Çeviri: Y. Aytakin). Temel Histoloji. İstanbul: Barış kitabevi, 1993:513-514.
- 46- Bostwick DG, Amin MB. Prostate and Seminal Vesicles. In: Damjanov I, Linder J eds. Anderson's Pathology. Vol 2. 10th ed. USA: Mosby; 1996. p. 2197-2230.
- 47- Young RH, Srigley JR, Amin MB, Ulbright TM, Cubilla AL. Carcinoma of the prostate Gland (Excluding Unusual Variants and Secondary Carcinomas). In: Rosai J, ed. Atlas of Tumor Pathology. Tumors of the Prostate Gland, Seminal Vesicles, Male Urethra, and Penis. 3rd series. Washington: ARP; 2000. p. 111-199.
- 48- McNeal JE, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA. Zonal distribution of prostatic adenocarcinoma. Correlation with histologic pattern and direction of spread. Am J Surg Pathol. 1988;12(12):897-906.
- 49- Walsh PC (Çeviri: MK Anafarta, MÖ Yaman). Campbell Üroloji. Ankara: Güneş kitabevi; 2005:3001-3080.
- 50- Isaacs W, De Marzo A, Nelson WG. Focus on prostate cancer. Cancer Cell. 2002;2(2):113-116.
- 51- Brawley OW, Barnes S, Parnes H. The future of prostate cancer prevention. Ann N Y Acad Sci. 2001;952:145-152.
- 52- Montironi R, Vela Navarrete R, Lopez-Beltran A, Mazzucchelli R, Mikuz G, et al. Histopathology reporting of prostate needle biopsies. 2005 update. Virchows Arch. 2006;449(1):1-13.
- 53- Epstein JI, Allsbrook WC Jr, Amin MB, Egevad LL. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. Am J Surg Pathol. 2005 Sep;29(9):1228-1242.

- 54- Egevad L. Recent trends in Gleason grading of prostate cancer: I. Pattern interpretation. *Anal Quant Cytol Histol.* 2008;30(4):190-198.
- 55- Bostwick DG. Grading prostate cancer. *Am J Clin Pathol.* 1994;102:38-56.
- 56- Bostwick DG, Grignon DJ, Hammond ME, Amin MB, Cohen M, et al. Prognostic Factors in Prostat Cancer. *Arch Pathol Lab Med.* 2000;124:995-1000.
- 57- Young RH, Srigley JR, Amin MB, Ulbright TM, Cubilla AL. Variants of Prostatic Adenocarcinoma, Other Primary Carcinomas of Prostate, and Secondary Carcinomas. In: Rosai J, ed. *Atlas of Tumor Pathology. Tumors of the Prostate Gland, Seminal Vesicles, Male Urethra, and Penis.* 3rd series. Washington: ARP; 2000. p. 217-257.
- 58- Oesterling JE, Brendler CB, Epstein JI, Kimball AW Jr, Walsh PC. Correlation of clinical stage, serum prostatic acid phosphatase and preoperative Gleason grade with final pathological stage in 275 patients with clinically localized adenocarcinoma of the prostate. *J Urol.* 1987;138(1):92-8.
- 59- Ay ME, Terzioğlu O, Terzi C, İzci Ay Ö. Kolorektal kanserlerde, p21, p27, p57, siklin bağımlı kinaz inhibitör geni (CDKI) ekspresyonlarının değerlendirilmesi. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi* 2006;5(1):20-25.
- 60- Cotran RS, Kumar V, Collins T. Tissue Repair: Cellular Growth, Fibrosis, and Wound Healing. In: Cotran RS, Kumar V, Collins T eds. *Robbins Pathologic Basis of Disease.* 6th ed. USA: WS Saunders Company;1999. p. 89-113.
- 61- Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Tissue Renewal and Repair: Regeneration, Healing, and Fibrosis. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N eds. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease.* 7th ed. China: Elsevier;2005. p. 87-118.
- 62- Comstock CE, Revelo MP, Buncher CR, Knudsen KE. Impact of differential cyclin D1 expression and localisation in prostate cancer. *Br J Cancer.* 2007 Mar;96(6):970-979.
- 63- Gerdes J, Lemke H, Baisch H, et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984;133(4): 1710-1715.
- 64- Weidner N, Carroll PR, Flax J, et al. Tumor Angiogenesis Correlates with Metastasis in Invasive Prostate carcinoma. *Am J Pathol* 1993;143:401-409.

- 65- Goto T, Nguyen Bp, Nakano M, et al. Utility of Bcl-2, P53, Ki-67, and caveolin-1 immunostaining in the prediction of biochemical failure after radical prostatectomy in a Japanese population. *Urology* 2008;72:167-171.
- 66- Scardino PT, Slawin KM (Çeviri: MD Balbay). *Prostat*. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2009:135-136.
- 67- Di Lorenzo G, DE Placido S, Autorino R, et al. Expression of biomarkers modulating prostate cancer progression: implications in the treatment of the disease. *Prostate Cancer and Prostatic diseases* 2005;8:54-59.
- 68- Garbar C, Mascaux C, Wespes E. Expression of MUC1 and Sialyl-Tn in benign prostatic glands, high-grade prostate intraepithelial neoplasia and malignant prostatic glands. *Anal Quant Cytol Histol* 2008;30:71-77.
- 69- Köksal İT, Özcan F, Kılıçaslan I, et al. Expression of E-cadherin in prostate cancer in formalin-fixed, parafin-embedded tissues: correlation with pathological features. *Pathology* 2002;34:233-238.
- 70- Mucci NR, Rubin MSS, Montie JE, et al. Expression of nuclear antigen Ki-67 in prostate Cancer Needle Biopsy and Radical Prostatectomy Specimens. *J Natl Cancer Inst* 2000;92 (23):1941-1942.
- 71- Cowen D, Troncoso P, Khoo VS, et al. Ki-67 staining is an independent correlate of biochemical failure in prostate cancer treated with radiotherapy. *Clin Cancer Res* 2002;8:1148-1154.
- 72- Keshgegian AA, Johnston E, Cnaan A. Bcl-2 oncoprotein positivity and high MIB-1 (Ki-67) proliferative rate are independent predictive markers for recurrence in prostate carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1998;110(4):443-449.
- 73- Yan Y, Andriole GL, Humphrey PA, Kibel AS. Patterns of multiple recurrences of superficial (Ta/T1) transitional cell carcinoma of bladder and effects of clinicopathologic and biochemical factors. *Cancer* 2002 Sep 15;95(6):1239-1246.
- 74- Gündoğdu C, Kadioğlu HH, Erman Z. Gliosis ve astrositik tümörlerde Ki-67 proliferatif indeksi ve p53 arasındaki ilişki. *AÜTD* 2000;32:17-20.
- 75- Sağlam S, Aykan F. Nöroendokrin tümörlerin tedavisi. *Endokrinolojide Diyalog* 2007; 2: 142- 146.

- 76- Wu TJ, Lee LY, Yeh CN, Wu PY, Chao TC, et al. Surgical treatment and prognostic analysis for gastrointestinal stromal tumors (GISTs) of the small intestine: before the era of imatinib mesylate. *BMC Gastroenterol* 2006; 24:6:29.
- 77- Rodrigues RB, Motta Rda R, Machado SM, Cambruzzi E, Zettler EW, et al. Prognostic value of the immunohistochemistry correlation of Ki-67 and p53 in squamous cell carcinomas of the larynx. *Braz J Otorhinolaryngol* 2008 Nov-Dec;74(6):855-859.
- 78- Baretton GB, Klenk U, Diebold J, Schmeller N, Löhrs U. Proliferation- and apoptosis-associated factors in advanced prostatic carcinomas before and after androgen deprivation therapy: prognostic significance of p21/WAF1/CIP1 expression. *Br J Cancer* 1999;80(3-4):546-555.
- 79- Osman I, Drobnjak M, Fazzari M, Ferrara J, Scher HI, et al. Inactivation of the p53 pathway in prostate cancer: impact on tumor progression. *Clin Cancer Res* 1999;5(8):2082-2088.
- 80- Ioachim E, Michael M, Stavropoulos NE, et al. Expression patterns of cyclins D1, E and cyclin-dependent kinase inhibitors p21(Waf1/Cip1) and p27(Kip1) in urothelial carcinoma: correlation with other cell-cycle-related proteins (Rb, p53, Ki-67 and PCNA) and clinicopathological features. *Urol Int* 2004;73(1):65-73.
- 81- Dreher T, Zentgraf H, Abel U, Kappeler A, Michel MS, et al. Reduction of PTEN and p27kip1 expression correlates with tumor grade in prostate cancer. Analysis in radical prostatectomy specimens and needle biopsies. *Virchows Arch* 2004;444(6):509-517.
- 82- Drobnjak M, Osman I, Scher HI, Fazzari M, Cordon-Cardo C. Overexpression of cyclin D1 is associated with metastatic prostate cancer to bone. *Clin Cancer Res* 2000;6(5):1891-1895.
- 83- Kallakury BV, Sheehan CE, Ambros RA, Fisher HA, Kaufman RP Jr, et al. The prognostic significance of p34cdc2 and cyclin D1 protein expression in prostate adenocarcinoma. *Cancer* 1997;80(4):753-763.