

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ
ANABİLİM DALI

**RADİKAL PROSTATEKTOMİ
MATERYALLERİNDE EKSTRAPROSTATİK
YAYILIM GÖSTEREN OLGULARDA GLEASON
SKORLAMASININ PROGNOSTİK ÖNEMİ VE
NESTİN EKSPRESYONUNUN
EKSTRAPROSTATİK YAYILIMI ÖNGÖRMEDEKİ
YERİ**

ZEHRA BECEREN

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2013

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ
ANABİLİM DALI

**RADİKAL PROSTATEKTOMİ
MATERYALLERİNDE EKSTRAPROSTATİK
YAYILIM GÖSTEREN OLGULARDA GLEASON
SKORLAMASININ PROGNOSTİK ÖNEMİ VE
NESTİN EKSPRESYONUNUN
EKSTRAPROSTATİK YAYILIMI ÖNGÖRMEDEKİ
YERİ**

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI:

PROF. DR. BURÇİN TUNA

ZEHRA BECEREN

İÇİNDEKİLER

Kısaltmalar	i
Tablo Listesi	iii
Resim Listesi	iv
Teşekkür	v
Özet	1
İngilizce Özet	3
Giriş ve Amaç	5
Genel Bilgiler	7
Gereç ve Yöntem	29
Bulgular	33
Tartışma	53
Sonuçlar	59
Kaynaklar	61

KISALTMALAR

EPY: Ekstraprostatik yayılım

CS: Cerrahi sınır

GS: Gleason skoru

TH: Tümör hacmi

Min: minimum

Max: maksimum

Ort: ortalama

CISH: kromojenik in situ hibridizasyon

ASAP: Atipik küçük asiner proliferasyon (malignite kuşkulu odak)

TMA: Doku mikrodizini ("Tissue microarray")

AR: Androjen reseptörü

PK: Prostat kanseri

PSA: Prostat spesifik antijen

TURP: Transüretral prostat rezeksiyonu

PIN: Prostatik intraepitelyal neoplazi

LGPIN: Düşük dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi

HGPIN: Yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi

ISUP: "The International Society of Urologic Pathology"

CAP: "The College of American Pathologists"

RP: Radikal prostatektomi

BPH: Benign prostat hiperplazisi

PAP: Prostatik asit fosfataz

PNI: Perinöral invazyon

LVI: Lenfovasküler invazyon

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu ("Polymerase Chain Reaction")

GFAP: Glial fibriler asidik protein

GIST: Gastrointestinal stromal tümör

IHK: İmmunohistokimya

TABLO LİSTESİ

1. Prostat kanserinin risk faktörleri	10
2. Pozitif CS uzunluğu x GS	39
3. Pozitif CS uzunluğu x TH	39
4. Pozitif CS uzunluğu x hasta takip bulguları	40
5. Pozitif CS uzunluğu x patolojik evre	40
6. Pozitif CS uzunluğu x EPY	41
7. Pozitif CS alanlarındaki Glason derecesi x patolojik evre	41
8. Pozitif CS alanlarındaki Glason derecesi x EPY	42
9. Pozitif CS alanlarındaki Glason derecesi x TH	42
10. Pozitif CS alanlarındaki Glason derecesi x hasta takip bulguları	43
11. EPY alanlarındaki GS x hasta takip bulguları	43
12. EPY alanlarındaki GS x patolojik evre	44
13. EPY alanlarındaki GS x TH	44
14. Nestin ekspresyonu yoğunluğu x GS	45
15. Nestin ekspresyonu yoğunluğu x EPY	49
16. Nestin ekspresyonu yoğunluğu x TH	49
17. Nestin ekspresyonu yoğunluğu x CS durumu	50
18. Nestin ekspresyonu yoğunluğu x Patolojik evre	50
19. Nestin ekspresyonu yoğunluğu x Hasta takip bulguları	51
20. GS x CS durumu, pozitif CS uzunluğu, EPY, nestin ekspresyonu yoğunluğu, EPY alanlarında GS	51

RESİM LİSTESİ

1. İmmunohistokimya ve CISH çalışılması için hazırlanan TMA bloklar	28
2. GS=3+3=6 (4x)	33
3. GS=3+3=6 (10x)	34
4. GS=3+4=7 (20x).....	34
5. GS=4+3=7 (20x).....	35
6. GS=4+4=8 (20x).....	35
7. GS=5+4=9 (10x).....	36
8. CS pozitif (10x).....	37
9. Ekstraprostatik yayılım (4x).....	38
10. Ekstraprostatik yayılım (4x).....	38
11 A, B. Zayıf pozitif nestin ekspresyonu (20x), GS=3+3=6 (4x)	46
12 A, B. Kuvvetli pozitif nestin ekspresyonu (20x), GS=3+4=7 (20x)	47
13 A, B. Kuvvetli pozitif nestin ekspresyonu (20x), GS=4+4=8 (20x)	48
14. CISH yöntemi ile değerlendirilen Her-2 gen amplifikasyonu negatif (100x)	52

TEŞEKKÜR

Bu zorlu süreci kendileriyle paylaşma şansına eriştiğim; Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda hizmet veren Dekan hocamız Prof. Dr. Tülay CANDAN, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Erdener ÖZER ve her biri birbirinden değerli hocalarım Prof. Dr. Kutsal YÖRÜKOĞLU, Prof. Dr. Meral KOYUNCUOĞLU, Prof. Dr. Sülen SARIOĞLU, Prof. Dr. Özgül SAĞOL, Prof. Dr. Banu LEBE, Prof. Dr. Burçin TUNA, Prof. Dr. Sermin ÖZKAL, Prof. Dr. Çağnur ULUKUŞ, Doç. Dr. Duygu GÜREL, Doç. Dr. Merih GÜRDAY DURAK, Doç. Dr. Ş. Mehtat ÜNLÜ ve Uzm. Dr. Ayça ERŞEN DANYELİ'ye,

Kendileri ile çalışma, tecrübelerinden yararlanma şansına eriştiğim, ancak emekli olan, patolojinin değerli isimleri, saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Şerafettin CANDAN, Prof. Dr. Uğur PABUÇCUOĞLU ve Prof. Dr. Aydanur KARGI'ya,

Bu çalışma süresince tüm bilgilerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, her türlü konuda desteğini benden esirgemeyen ve tezimde büyük emeği olan danışman hocam Prof. Dr. Burçin TUNA'ya,

Tezimin istatistiği için yardımını esirgemeyen Prof. Dr. Hülya ELLİDOKUZ'a,

Asistanlık sürecimde verdikleri kıymetli destek için, yaptıkları işin önemini bilerek titizlikle çalışan, bize saygı gösteren, varlıkları ile makroskopi salonuna kişilik kazandıran, zeki, çalışkan ve güler yüzlü, kıymetli teknisyenlerimiz Serkan AYDINOĞLU ve Mert KIRMIZI'ya,

Tez sürecimde bana destek olan ve uzmanlık eğitimim süresince benden güler yüzlerini hiçbir zaman esirgemeyen teknisyenlerimiz Ayşen ÇAYAN, Nalan OKAY'a,

4 yıl boyunca kendileriyle birlikte çalıştığım, benden hiçbir zaman hiçbir konuda yardımlarını esirgemeyen, güler yüzlü, eğlenceli, her biri birbirinden renkli, çok sevdiğim asistan arkadaşlarıma,

İyi günümde kötü günümde her zaman yanıbaşımda olan canım annem Pakize DEMİR'e, canım babam Mikdat DEMİR'e, ablacığım Esra VANLI'ya ve öz kardeşim gibi sevdiğim Semih BECEREN'e,

Bu zorlu süreçte bana katlanan, hiçbir zaman desteğini ve sevgisini esirgemeyen, sabırlı ve çok sevgili eşim Serkan BECEREN'e sonsuz teşekkür ediyorum.

Zehra BECEREN

İzmir, 2013

ÖZET

RADİKAL PROSTATEKTOMİ MATERYALLERİNDE EKSTRAPROSTATİK YAYILIM GÖSTEREN OLGULARDA GLEASON SKORLAMASININ PROGNOSTİK ÖNEMİ VE NESTİN EKSPRESYONUNUN EKSTRAPROSTATİK YAYILIMI ÖNGÖRMEDEKİ YERİ

Dr. Zehra BECEREN

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

zhrdmr@hotmail.com

Amaç: Prostat kansinomu erkeklerde en sık görülen malignitedir. Erkeklerde kansere bağlı ölümlerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada gelmektedir. Çalışmamızın amacı radikal prostatektomi materyallerinde cerrahi sınır pozitif alanlarda ve ekstraprostatik yayılım alanlarındaki Gleason skorunun, pozitif cerrahi sınır uzunluğunun, tümörde nestin ekspresyonu yoğunluğunun ve Her-2 gen amplifikasyonunun prognostik önemini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 1993-2006 yılları arasında radikal prostatektomi uygulanmış, 122 hasta seçildi. Bu hastalara ait preparatlardan cerrahi sınır uzunluğu (mm) ile pozitif cerrahi sınır ve ekstraprostatik yayılım alanlarındaki Gleason skoru değerlendirildi. Olgulara ait blokların farklı Gleason paterni içeren alanlarından 3 mm'lik 30 kor içeren 6 adet "tissue microarray" bloğu hazırlandı. Bu bloklardan hazırlanan kesitlere immünohistokimyasal olarak nestin ve CISH yöntemi ile Her-2 uygulandı. Nestin ekspresyonu yoğunluğu derecelendirildi. Her-2 gen amplifikasyonu değerlendirildi. Bulgular prognostik önemi bilinen diğer parametrelerle istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Bulgular: Çalışma kapsamına alınan 122 hastanın yaş ortalaması 62.87 olarak hesaplanmıştır. Pozitif cerrahi sınırdaki Gleason skoru ile patolojik evre ve ekstraprostatik yayılım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Pozitif cerrahi

sınır uzunluğu (mm) ve ekstraprostatik yayılım alanlarında değerlendirilen Gleason skoru ile prognostik olduğu bilinen diğer parametreler arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Farklı Gleason skoru içeren alanlarda değerlendirilen nestin ekspresyonu tđm alanlarda pozitif saptanmıştır. Nestin boyanma yoğunluğu zayıf ve kuvvetli pozitif olarak derecelendirilmiştir. Nestin ekspresyonu yoğunluğu ile önemli prognostik faktörlerden olan Gleason skoru ve tđmr hacmi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. CISH yöntemi ile değerlendirilen Her-2 amplifikasyonu tđm alanlarda negatif olarak saptanmıştır.

Sonuç: Pozitif cerrahi sınır alanlarında değerlendirilen Gleason skoru patolojik evre ve ekstraprostatik yayılım ile ilişkili bulunmuştur. Ekstraprostatik yayılım alanlarındaki Gleason skorunun ise prognostik önemi bulunmamıştır. Nestin ekspresyonu yoğunluğu ile Gleason skoru ve tđmr hacmi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. Pozitif cerrahi sınır alanlarında izlenen Gleason skoru ile tđmrde izlenen nestin ekspresyonu yoğunluğunun prognozu öngörmede önemli adaylar olduğu grlmřtđr.

Anahtar Szckler: Prostat, nestin, Her-2, cerrahi sınır uzunluğu, ekstraprostatik yayılım, Gleason skoru

ABSTRACT

THE PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF GLEASON SCORE IN THE CASES THAT SHOW EXTRAPROSTATIC EXTENSION AND THE IMPORTANCE OF NESTIN EXPRESSION FOR PREDICTING EXTRAPROSTATIC EXTENSION IN RADICAL PROSTATECTOMY SPECIMENS

Zehra BECEREN MD

Dokuz Eylul University School of Medicine Department of Pathology

zhrdmr@hotmail.com

Objective: Prostate carcinoma is the most common malignancy in men. It ranks second after lung cancer in cancer-related deaths in men. The aim of this study is to investigate the prognostic significance of Gleason score of the tumor in the positive surgical margins and in the areas of extra-prostatic extension, the length of positive surgical margins, density of nestin expression and Her-2 gene amplification in tumor in radical prostatectomy specimens.

Materials and Methods: 122 patients who were treated with radical prostatectomy in Dokuz Eylul University Medical Faculty Hospital between 1993-2006 were selected. The length of positive surgical margin (mm), Gleason score in the positive surgical margins and in the areas of extra-prostatic extension were evaluated. 6 tissue microarray blocks were prepared from different areas of Gleason pattern, including 30 cores with 3 mm. Nestin by immunohistochemical and Her-2 by CISH method was applied to the sections that prepared from these blocks. The intensity of nestin expression was rated. Her-2 gene amplification was evaluated. Results were statistically compared with other parameters which were known to have prognostic significance.

Results: The average age of the 122 patients included in the study was calculated as 62.87. A significant relationship was determined statistically between Gleason score that was in positive surgical margin with pathological stage and extraprostatic extension. A significant relationship was not found between other parameters known to be prognostic with Gleason score that was evaluated in the areas of extraprostatic extension and the length of positive surgical margin (mm). Nestin expression was determined positive in all areas that was assessed in the areas including different Gleason scores. The staining intensity of nestin was rated as weak and strong positive. A significant relationship was ascertained statistically between the intensity of nestin expression with Gleason score and the tumor volume that composed of important prognostic factors. Her-2 amplification was determined to be negative in all the areas which was assessed by CISH method.

Conclusion: Gleason score which was evaluated in positive surgical margins was related to pathological stage and extraprostatic extension. However, the prognostic significance of Gleason score in areas of extraprostatic extension was not found. Statistically, there was a significant relation between the intensity of nestin expression with Gleason score and the tumor volume. It was seen that Gleason score that was found in the areas of positive surgical margin and the intensity of nestin expression that was seen in tumors were found to be important candidates for predicting the prognosis.

Key Words: Prostate, nestin, Her-2, the length of surgical margins, extraprostatic extension, Gleason score

GİRİŞ VE AMAÇ

Prostat karsinomu erkeklerde en sık görülen malignitedir. Erkeklerde kansere bağlı ölümlerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada gelmektedir (1).

Histolojik olarak en sık adenokarsinom formunda izlenir. Farklı derecelerde diferansiyasyon gösteren küçük asiner, büyük asiner, kribriform, solid/trabeküler tipler görülebilir.

Gleason skoru prostat karsinomlarında en sık kullanılan derecelendirme sistemidir ve en önemli prognostik faktörlerden biridir. En sık görülen glandüler paterne dayanan bir derecelendirme sistemidir. Yapılan çalışmalarda $GS \leq 6$ olan olguların %90'a varan mükemmel prognoza sahip oldukları; $GS \geq 7$ olan olguların ise prostat karsinomuna bağlı ölüm oranlarının %29-43 arasında olduğu bulunmuştur (2).

Cerrahi sınır pozitifliği ve ekstraprostatik yayılım biyokimyasal ve klinik nükle ilişkili parametrelerdir. Cerrahi sınır pozitifliğinin genişliğini mm olarak değerlendiren çok az çalışma vardır. Sadece birkaç çalışmada cerrahi sınır pozitif alandaki GS ile prognoz karşılaştırılmıştır (3). Ekstraprostatik yayılım alanındaki GS ile prognozu karşılaştıran bir çalışma henüz yapılmamıştır.

Nestin sınıf IV intermediate flaman proteindir. İlk olarak santral sinir sistemi gelişiminde etkili nöronal kök hücre belirleyicisi olarak tanımlanmıştır (4). Anjiosarkom, pankreatik adenokarsinom, gliom, melanom ve gastrointestinal stromal tümörlerde artmış nestin ekspresyonu saptanmıştır (5). Bazı tümörlerde agresif büyüme, metastaz ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda nestin ekspresyonunun prostat karsinomlarında migrasyon, invazyon, akciğer metastazı, kötü prognoz ve nüks ile ilişkili olduğu bulunmuştur (6).

Her-2 proteini, hücre proliferasyon ve diferansiyasyonunda görevli, normal ve malign epitelyal hücrelerde bulunan bir transmembran tirozin kinaz büyüme faktör reseptörüdür. Bu proteinin meme kanserinde güçlü bir prognostik faktör olduğu bilinmektedir ve hedefe yönelik tedavide başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (7). Her-2 normal prostat epitel hücrelerinde eksprese edilmektedir. Yapılan çalışmalarda prostat karsinomunda Her-2 ekspresyonunun değişkenlik gösterdiği saptanmıştır. İmmu-

nohistokimya ile %0-87, gen amplifikasyonu ile %0-53 arasında ekspresyon rapor edilmiştir (8). Bazı çalışmalarda Her-2 ekspresyonunun artışının yüksek GS, ileri evre ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte bazı çalışmalarda ise GS, evre ve prognozla ilişki saptanmamıştır (9).

Bu çalışmanın amacı ekstraprostatik yayılım ve cerrahi sınır pozitifliği izlenen alanlarda GS'nin, pozitif cerrahi sınır uzunluğunun, nestin ekspresyonunun ve Her-2 gen amplifikasyonunun prognostik önemini saptamaktır.

Etik Kurul Kararı

Çalışmamız, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından, 09.02.2012 tarih ve 472-GOA protokol numaralı, 2012/04-04 karar numaralı yazı ile onaylanmıştır.

GENEL BİLGİLER

Epidemiyoloji

Prostat kansinomu ABD’de, erkeklerde en sık görülen malignitedir ve kansere bağılı ölümlerin %10’undan sorumludur. Erkeklerde kansere bağılı ölümlerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada gelmektedir (1, 10). PK sıklığı son 20 yılda, serum PSA testinin erken tanıda başarılı bir şekilde kullanımı ile birlikte ikiye katlanmıştır (11-13). Bununla birlikte klinik insidansla otopsi serilerindeki tanı sıklığı arasındaki büyük fark azalmaktadır. Çok sayıda erkek PK’den değil, PK ile birlikte ölmektedir. Fakat klinisyenler hangi hastaların progrese olacağını, hangi hastaların olmayacağını hala öngörememektedirler. Diğer bir önemli problem ise hangi erkeklerin klinik agresif PK açısından risk altında olduğunu belirleyememektir (11). Bu nedenlerden dolayı gereksiz olsa bile lokalize hastalığa standart yaklaşım küratif cerrahi şeklindedir. Bu yaklaşım idealden uzaktır. Bazı merkezler modern risk kategorizasyonları kullanarak progresyon riski düşük olan hastaları daha iyi tanımlamakta ve bu hastalarda aktif izlem protokolleri kullanmaktadırlar. İlginç olarak bu hastaların sadece küçük bir kısmı ek tedaviye ihtiyaç duymaktadır (14).

Latent kanser

Otopsi serilerinde izlenen latent kanser sıklığı ülkeler ve etnik gruplara göre değişkenlik göstermektedir. Türkiye’de otopsi serilerinde yapılan bir çalışmada PK oranı 50’li yaşlarda %8.3, 80 yaş ve üzerinde ise %33.3 bulunmuştur (15). İnsidental PK; evre, CS durumu ve GS’ye göre değerlendirildiğinde klinik ve radyolojik bulgu veren hastalığa göre çok daha iyi prognozludur. Ayrıca mesane kanseri nedeniyle yapılan ve tümü incelenen sistoprostatektomi materyallerinin %42’sinde insidental PK tespit edilmiştir. PK içeren sistoprostatektomi materyalleri RP yapılan olgulara göre daha düşük GS içermektedir ve daha erken evrededir.

İnsidental, latent ve klinik PK arasındaki ilişki iki hipotezle açıklanabilir. Biri insidental ve latent kanserin letal kanserle histolojik olarak aynı olduğunu ancak asla biyolojik agresif özellikler kazanmadığını iddia etmektedir. Diğer ise klinik olarak zararsız tümörlerin sadece küçük olduklarını ancak bütün kanserlerde bulunan mutasyonel instabilite fonksiyonu sayesinde metastaz kapasitesi kazanabileceğini savunmakta-

dır. Sonuç olarak latent karsinom yanlış bir terminolojidir ve kullanılmamalıdır (11, 16).

Etyoloji ve patogenezi

PK sıklığında etnik kökene bağlı belirgin farklılık olması bu farklılıkların en azından bir kısmından genetik faktörlerin sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca oranların zamana ve göçe bağlı olarak değişmesi çevresel faktörlerin de önemli olduğuna işaret etmektedir. Yapılan kapsamlı çalışmalara rağmen PK'nin çevresel risk faktörleri iyi anlaşılabilmiştir (10).

Aile öyküsü

Birinci derece bir akrabada PK öyküsü riski iki kat, birinci derece iki veya üç akrabada PK öyküsü ise 11 kat artırır. Ailesel kanserin klinik ve patolojik bulguları ailesel olmayan ile aynıdır (10, 11).

Hormonlar

PK gelişiminde hormonal faktörler önemli yer tutmaktadır (1). "Kanında androjenler bulunan ve yeteri kadar yaşayan her erkekte mikroskopik prostat karsinomu gelişecektir (13)" cümlesi PK'nin yaş ve hormonal faktörlerle olan ilişkisine dikkat çekmektedir. PK puberte öncesi kastrasyon yapılanlarda görülmez. Bununla birlikte karaciğer sirozuna bağlı hiperöstrojenizimli hastalarda sıklığı azdır (1). Androjenler PK büyüme hızını ve progresyonunu etkilemektedir. Testosteron ve metabolitlerinin artışı riski artırabilir fakat sonuçlar tutarsızdır (11).

İrk

PK siyah ırkta beyazlara göre 1.5 kat daha sık görülmektedir (1). 40 yaş altında çok nadirdir. 12 yaş altı çocuk, ergenler ve 20-25 yaş arası genç erişkin yaş gruplarının her birinde 50'den az olgu bildirilmiştir. Bu olguların tümü az diferansiyel, klinik olarak agresif, aynı zamanda hormonal tedavi ve radyoterapiye yanıtız kanserlerdir. PK'de ırksal farklılıklar üç faktöre bağlı olabilir: çevresel farklılıklar, hastalığın tespitindeki farklılıklar ve biyolojik farklılıklar. Dünyada en yüksek insidans siyah ırkta görülmektedir. İrksal farklılıklar; hastalığı önemseme, tedavi ve takibi kabul etmekteki

farklılıklar ve androjen reseptör lokusu veya polimorfik varyasyondaki mikrosatellitlerin allelik frekanslarındaki farklılıklara bağlı olabilir (11).

Yaşlanma ve oksidatif stres

PK sıklığı yaşla birlikte belirgin bir şekilde artmaktadır (1, 10, 11). Teorik olarak PK oksidatif strese bağlı gelişebilir. Fakat bu konudaki bilgiler çok sınırlıdır. Klinik çalışmalar; selenyum ve likopen gibi antioksidan alımının PK'ye karşı koruduğunu göstermektedir. Yaşlanma ve PK'nin prooksidasyon – antioksidasyon hemostazı arasındaki ilişki hakkındaki bugünkü bilgimiz çok sınırlıdır.

Diyet

Epidemiyolojik çalışmalar PK gelişiminde diyet faktöründeki büyük çeşitliliğe dikkat çekmektedir. Yağ tüketimi, özellikle çoklu doymamış yağlar PK insidansı ve mortalitesi ile güçlü ilişki göstermektedir. Bu etki hormonal profilde yağa bağlı değişiklikler, yağ metabolitlerinin protein veya DNA-reaktif intermediyateler gibi etki etmesi veya oksidatif strese yağa bağlı artışla ilişkili olabilir. A vitamini gibi retinoidler epitelial hücre diferansiyasyon ve proliferasyonuna etki ederek PK riskini artırır. C vitamini, reaktif oksijen boşlukları ve serbest radikaller için bir çöpçü olsa da C vitamini ve PK riski arasında belirgin bir ilişki saptanmamıştır. D vitamininin hormonal formu olan 1-25-dihidroksivitamin D'nin invazyonu, proliferasyonu ve differansiyasyonu engelleyici etkisi vardır. Bu nedenle D vitamini eksikliği PK için risk faktörü olabilir. E vitamini, apoptoz yoluyla prostat kansinomu hücre büyümesini engelleyen bir antioksidandır. Yapılan bir çalışmada günlük E vitamini alımının PK riskini %32 azalttığı saptanmıştır. Çinko konsantrasyonu prostatta vücuttaki diğer organlara göre daha yüksektir. Kanserli prostatta %90'dan fazla üretilmesine rağmen çinko alımı ve PK riski arasındaki ilişki belirsizdir. Selenyum, hayvanlarda virus ve kimyasal madde ilişkili tümörleri engelleyen bir esansiyel elementtir. Fakat insanlardaki bulgular kısıtlıdır. Yapılan bazı epidemiyolojik çalışmalarda kadmiyumun, PK gelişiminde karsinojenik etkisi bulunduğu dikkat çekilmektedir. Alkol alımı ve PK arasında belirgin bir ilişki bulunmamıştır. Domateste buluna likopen en etkili karotenoid antioksidandır ve belirgin koruyucu etkisi vardır.

Yiyecekler, su ve havada hormonal aktiviteyi bozan ve gelişimi etkileyen kimyasallar bulunabilmektedir. Bu kimyasalların düşük dozlarının kronik maruziyeti PK'ye yol açabilir.

Diğer faktörler

Birçok endüstriyel ve mesleki faktör araştırılmıştır. Ancak elde edilen bulgular ikna edici değildir. PK riski ile en belirgin ilişki kauçuk sanayisinde saptanmıştır (11).

Aile öyküsü	Hormonal dengeyi etkileyen ziraat ilaçları, pestisidler
Diyet	Kauçuk
Yağ	Radyasyon
Kadmiyum	Cinsel yolla bulaşan hastalıklar
Çinko	Herpes virus tip 2
Obezite	Sitomegalovirus
Alkol	Vazektomi
Hormonlar	Benign prostat hiperplazisi
Sigara	Prostatik intraepitelyal neoplazi
Cinsel aktivite	Atipik asiner proliferasyon
Multipl cinsel partner	Erken cinsel aktivite

Tablo 1. Prostat kanserinde risk faktörleri (11)

Genetik

Herediter prostat kanseri:

1950'lerde Morganti ve ark. PK için güçlü famiyal yatkınlık olduğunu öne sürmüşlerdir (17). İsveç, Danimarka ve Finlandiya'da ikizler üzerinde yapılan bir çalışmada ise monozigotik ikizlerde, dizigotik ikizlere göre PK sıklığında anlamlı bir fark saptanmıştır (18). Son 10 yılda PK aileleri üzerinde yapılan genetik çalışmalarda otozomal dominant veya X'e bağlı kalıtım gösteren yüksek riskli alleller saptanmıştır. 17p üzerinde HPC/ELAC2, 1q25 üzerinde RNASEL ve 8p22-23 üzerinde ise MSR1 genleri saptanmıştır. Fakat bu 3 gen herediter PK olgularının çoğunu açıklayamamaktadır. Bunlara ek olarak yapılan bazı çalışmalarda 10'dan fazla gen tariflenmektedir. Yüksek riskli genleri tanımlamak iki nedenden dolayı zordur: Birincisi hastalığın ileri yaşta görülmesidir. Bu nedenle ikiden fazla nesilde moleküler çalışmalar yapmak mümkün olmamaktadır. İkinci neden ise PK sıklığının yüksek olmasıdır. Hastalığın sık görülmesi nedeniyle, PK ailelerinde yapılan çalışmalarda sporadik ve herediter olgular birbirinden ayıramamaktadır. Bunlara ek olarak herediter PK, bilinen kanser sendromlarında görülmemektedir ve sporadik olguları ayırmak için kullanılacak bir klinik veya patolojik bulgu yoktur. Belki de PK genetiğinde önemli olan genetik modifiye edici alleller olarak adlandırılan düşük penetrans gösteren allellerde sık görülen polimorfizmdir. Bu değişiklikler androjen aktivasyonu, DNA tamiri, karsinojen metabolizması ve inflamasyon yolağı gibi major yolları etkilemektedir. Bu değişikliklerin spesifik kombinasyonlarının çevresel faktörlerle birlikte PK riskini arttırdığı düşünülmektedir.

Sporadik prostat kanseri:

PK'de klasik onkogen ve tümör süpresör genlerde mutasyon saptanmamışken yapılan çok sayıda çalışmada random olmayan somatik genom değişiklikleri tanımlanmıştır. PK DNA'sını aydınlatmak için yapılan çalışmalar, en sık kromozomal değişikliklerin 1q, 2p, 7, 8q, 18q, ve Xq'e karşılık 1p, 6q, 8p, 10q, 13q, 16q ve 18q'da izlenen kayıplar olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte PK ile ilişkili çok sayıda gen tanımlanmıştır. Stres ilişkili hasarda yönetici rol oynayan glutatyon S-transferaz hipermetilasyonu, PK olgularının çoğunda izlenmektedir. Ayrıca PK olgularının bir kıs-

mında 8p21'de lokalize olan NKX3 geni yanısıra PTEN geninin azalmış ekspresyonu saptanmıştır. Bununla birlikte p27, E-kaderin genlerini de içeren çok sayıda PK ile ilişkili gen tanımlanmıştır. P53 mutasyonları ileri evre ve metastatik kanserlerde saptanmıştır. Diğer çok sık görülen, PK ve diğer kanserlerle ilişkili bir somatik genetik değişiklik ise telomer kısalmasıdır. Telomerde kritik kısalmanın genetik instabiliteye ve epitelyal kanserlerde artışa neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca safra asidi biyosentezi ve yağ asidi oksidasyonunda görevli olan AMACR proteini ekspresyonunun PK'de arttığı tespit edilmiştir.

Androjen reseptörü prostat gelişimine kritik rol oynamaktadır. Yıllardır androjen çekilmesinin PK gelişiminde hızlı bir azalmaya neden olduğu bilinmektedir. AR geninde çok sayıda mutasyon tariflenmiştir. Mutasyonla birlikte androjen düzeyinin belirgin olarak düşük olması durumunda da PK gelişebildiği öne sürülmektedir.

Lokalizasyon

Klinik olarak palpe edilebilen ve iğne biyopsi ile tanı alan prostat kanserlerinin çoğu posterior ve posterolateral lokalizasyonludur. Nadiren büyük transisyonel zon tümörleri periferal zona ilerleyebilir ve palpe edilebilir. TURP materyallerinde saptanan tümörlerin çoğu transisyonel zon lokalizasyonludur. İğne biyopsilerle tanı alan olguların çoğu periferal, %15-25'i ise transisyonel zonda yerleşmektedir. Büyük tümörler santral zona ilerleyebilir fakat nadiren bu zondan gelişirler. %85 prostat karsinomu olgusunda adenokarsinom multifokaldir (10).

Prostat karsinomunun öncül lezyonları

Prostatik intraepitelyal neoplazi

Prostatik intraepitelyal neoplazi; prostatik duktus, duktul ve asinusları döşeyen epitelin devam eden hücresel proliferasyonunun preinvaziv safhadaki son aşamasıdır (11, 19). HGPIN karsinogenezin ilk aşamasıdır ve fibromusküler stromaya invazyon haricinde karsinomda görülen fenotipik, biyokimyasal ve genetik değişikliklerin çoğunu içermektedir (11).

İlk olarak 1969'da McNeal tarafından tanımlanmıştır (12). 1987'de Bostwick ve Brawer prostatik duktusların örtücü epitelinin, yapısal ve özellikle sitolojik değişikliklerinin spektrumunu karakterize etmek için PIN terimini kullanmışlardır. Bu araştırmacılar, döşeyici epitelin yapısal ve sitolojik anormalliklerini, derecesine bağlı olarak PIN 1, 2, 3 olarak, 3 derece içinde sınıflamayı önermişlerdir. 1989'da düzenlenen International Consensus Conference ile düşük dereceli ve yüksek dereceli (LGPIN, HGPIN) olmak üzere 2 derecede sınıflandırma kararı alınmış ve kabul edilmiştir (20-23).

Bugün HGPIN'in klinik önemi aşikardır. Ancak LGPIN'in önemsiz bir tanı olduğu düşünülmektedir.

HGPIN için gözlemciler arası tutarlılık çok iyidir. Ancak LGPIN için bu geçerli değildir ve LGPIN'in prediktif değeri çok daha düşüktür. Çalışmalar haricinde rutin pratikte birçok patolog bu tanıyı rapor etmemektedir. Bu nedenle birçok araştırmacı PIN terimini HGPIN yerine kullanmaktadır (11, 19).

İğne biyopsilerde HGPIN sıklığı ortalama %9'dur (12, 19). HGPIN ortalama üçüncü dekatta, yaklaşık 10 yıl sonra gelişmesi muhtemel olan karsinomun öncülü olarak görülmektedir. Sıklığı yaşla birlikte artmaktadır. Prostatektomi materyallerinde sıklığı %71 ile %83 arasında değişmektedir. Otopsi serilerinde siyah ırkta daha sık görüldüğü saptanmıştır. Japon erkeklerde ise sıklık çok daha düşüktür (11, 12). İğne biyopsilerde örneklenen kor sayısının PIN ve PK sıklığının arttırdığını savunanların sayısının çok olmasına rağmen bu konu tartışmalıdır. Yapılan bir çalışmada 24 kor içeren satürasyon biyopsilerinde PIN sıklığı %22 saptanmışken diğer bir çalışmada ise %45 olarak belirtilmiştir. TURP materyallerindeki sıklık ise %2.8 ile %33 arasında değişkenlik göstermektedir (11).

HGPIN varlığı ve yaygınlığı ile PK'nin patolojik evresi arasındaki ilişkiye dair bilgiler sınırlıdır. Patolojik evrenin artışıyla birlikte HGPIN'in toplam hacminin arttığı ve HGPIN hacminin lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (10).

Atipik küçük asiner proliferasyon

Prostat iğne biyopsilerinin yaklaşık %4'ü kanser şüphesi uyandıran fakat tanısal eşğin altında kalan küçük asinus alanları içermektedir. Bunlar malignite açısından kuşkuolu ancak tanısal olmayan atipik küçük asiner proliferasyon olarak raporlanır. ASAP tanısı, eşlik eden veya sonrasında gelişen karsinom açısından tekrar biyopsiyi

gerektirir. ASAP bir tanısal kategoridir fakat gerçek bir histopatolojik antite değildir (7). Tekrar biyopside tanı alan karsinom sıklığı yaklaşık %60'tır (12). Ming Zhou ve ark ASAP tanısı alan olguların %51'inde, tekrar biyopside karsinom saptandığını bildirmişlerdir.

Prostat karsinomunun sınıflaması (24):

- Asiner adenokarsinom (konvansiyonel)
- Prostatik duktal adenokarsinom
- Müsinöz (kolloid) adenokarsinom
- Taşlı yüzük hücreli karsinom
- Adenoskuamoz karsinom
- Skuamoz hücreli karsinom
- Bazal hücreli karsinom
- Adenoid kistik karsinom
- Ürotelyal karsinom
- Küçük hücreli karsinom
- Sarkomatoid karsinom
- Lenfoepitelyoma benzeri karsinom
- Andiferansiye karsinom

Prostat adenokarsinomlarında prognostik faktörler:

Prostat karsinomlu hastaların klinik gidişlerini öngörmek için çok sayıda prognostik parametre tanımlanmıştır.

CAP, prognostik faktörleri üç ketagoride sınıflamıştır (1, 10, 11):

- Kategori I: Prognostik önemi kanıtlanmış ve klinik pratikte faydalı olan faktörler:
 - Preoperatif serum PSA düzeyi
 - TNM evresi
 - Gleason skoru
 - Cerrahi sınır pozitifliği

- Kategori II: Biyolojik ve klinik olarak kapsamlı çalışmalar yapılmış fakat önemi onaylanmamış:
 - Tümör hacmi
 - Histolojik tip
 - DNA ploidi
- Kategori III: Prognostik önemini saptamak için yeterli çalışma yapılmamış faktörler:
 - Perinöral invazyon
 - Nöroendokrin diferansiyasyon
 - Mikrodamar dansitesi
 - Nükleer yuvarlaklaşma
 - Kromatin yapısı
 - Diğer karyometrik faktörler
 - Proliferasyon belirleyicileri
 - PSA türevleri
 - Diğer faktörler (onkogenler, tümör supresör genler, apoptoz genleri, vb.)

1- Klinik evre:

Klinik evre çok önemli bir prognostik parametredir ve teknolojinin gelişmesiyle birlikte önemi artmaktadır (1). Prostat karsinomlarında yaygın şekilde kullanılan ve ilk olarak 1956 yılında Whitmore'un uyguladığı ve daha sonra 1975'te Jewet tarafından modifiye edilen sınıflama sistemidir. Prostat karsinomlarının evreleme sistemi 1975'te, American Joint Committee for Cancer Staging ile tümör, lenf düğümü ve metastaz (TNM) olarak kabul edilmiştir (25).

Evreleme hataları %24 ile %38 arasında değişir. Bu hatalar; dijital rektal incelemenin yanlış yorumlanması, evrelemede TRUS ve MR'ın uygunsuz kullanımı, evrelemenin ilk tanı anında yapılmaması, patolojinin yanlış yorumlanması, TNM evreleme karışıklıkları, biyopsi bilgilerinin uygunsuz kullanımı, konsültan hekimler arasında uyumsuzluk ve transüretal rezeksiyon sonuçlarının yanlış yorumlanması gibi sebep-

lerden kaynaklanmaktadır. Campbell ve ark. klinik evrenin uzmanlar arasındaki uyumunun düşük olduğunu öne sürmüşlerdir (11).

2- Patolojik evre:

Patolojik evre tümör yayılımını gösteren en önemli ve prognozu en doğru gösteren parametredir. Prostat kapsülü, vezikula seminalis ve lenf nodu invazyonu gibi patolojik evreyi belirleyen faktörlerle prognoz arasında ilişki vardır. Prostat kapsülüne tümör invazyonu derecesi ile evre ve hacim ile nüks oranı arasında da güçlü bir ilişki bulunmaktadır (1). Ayrıca yapılan bir çalışmada oküler mikrometre ile ölçülen EPY genişliği ile PSA nüksü arasında ilişki saptanmıştır (26). Bunlara ek olarak mikroskopik mesane boynu invazyonu, önemli bir prognostik faktör değildir. Lenf nodu metastazı; multipl ise, makroskopik olarak görülebiliyorsa, hacim olarak büyükse ve ekstrakapsüler yayılıma eşlik ediyorsa prognoz daha kötüdür. Pelvik lokalizasyonda ya da prostat ve seminal veziküller çevresinde metastatik lenf nodu bulunmasının prognoz açısından farkı yoktur (1).

Patolojik evre son olarak şöyledir (24):

m: multipl,

r: nüks,

y: tedavi sonrası değerlendirme için kullanılır.

pT2: Organa sınırlı tümör

pT2a: Tek taraflı ve bir tarafın yarısını ya da daha azını tutan tümör

pT2b: Tek taraflı ve bir tarafın yarısından fazlasını tutan tümör

pT2c: Çift taraflı tümör

pT3: Ekstraprostatik yayılım

pT3a: Ekstraprostatik yayılım ya da mesane boynunun mikroskopik invazyonu

pT3b: Vezikula seminalis invazyonu

pT4: Rektum, levator kası ve/veya pelvik duvar invazyonu

- Radikal prostatektomi materyalleri için patolojik olarak T1 sınıflaması yoktur.

Apeks dikkatli bir şekilde değerlendirilmelidir çünkü cerrahi sınır burada sık olarak pozitifdir. Apekte tümörün iskelet kası elemanlarının arasında bulunması EPY anlamına gelmez. Apikal ve mesane boynu cerrahi sınırı bir bütün olarak değerlendirilmelidir (24).

3- Mikroskopik dereceleme:

Mikroskopik dereceleme klinik veya patolojik evre ile direk ilişkilidir. 80 yıl önce Broders'in yapıtğı çalışmanın öncülüğünde çok sayıda dereceleme sistemi geliştirilmiştir. Bu sistemlerin tümü iyi ve az diferansiye tümörleri tanımlamakta başarılı olmuşlardır. Fakat orta derecede diferansiye tümörlerin büyük bir kısmında daha az başarılı olmuşlardır. 1999 yılında Gleason, PK derecesine uluslararası bir standart getirmiştir ve bugün dünyada patoloğların çoğu rutinde bu skorlamayı kullanmaktadır (11). Gleason skou kullanılarak yapılan mikroskopik dereceleme, bağımsız bir prognostik faktördür ve diğer sistemlere göre belirgin olarak üstündür (1).

Gleason dereceleme sistemi:

Gleason dereceleme sistemi; Veterans' Administration Cooperative Urological Research Group tarafından, 1960 ile 1975 arasında, 4000'den fazla hasta üzerinde yaptıkları çalışma soucunda ortaya çıkmıştır (11). Bu sistem yapısal diferansiyasyon derecesine göre yapılmaktadır. Nükleer atipi kullanılmamaktadır. Nükleer atipiyi de içeren dereceleme sistemleri vardır. Fakat yapılan çalışmalarda, nükleer atipinin, sadece glandüler diferansiyasyona göre yapılan derecelemeye bağımsız prognostik bir bulgu kattığına dair ikna edici bir sonuç yoktur (10, 11).

Gleason derceleme sisteminin başarısı 4 faktörle açıklanabilir (11):

- Histolojik paternler morfogenetik veya histogenetik modelleri içermeksizin asiner diferansiyasyon derecesine göre tanımlanır.
- Basitleştirilmiş ve standardize çizimler yapılabilir.
- Veterans' Administration çalışması objektif bilgisayar tabanlı gelişim için yeterli prospektif bilgi geliştirmiştir.

- Gleason derecelemesi tümör heterojenitesi için primer ve sekonder paternleri içermektedir.

Bibbo ve ark. optimal derecelemenin; asiner dizilim, luminal alan, asiner birleşme, asiner paketler, asiner boyut, asiner uniformluk, asiner epitel tabakasının kalınlığı, nükleer boyut, nükleer değişkenlik, nükleer şekil ve boyut, kromatin paterni ve nükleoller boyut gibi tanısal ipuçlarının devamlılık gösteren bulgularını içerdiğine dikkat çekmişlerdir (27). Gleason dereceleme sisteminde; azalan diferansiyasyona göre 5 histolojik patern tanımlanmıştır. Normal prostat epitel hücreleri bir lümen çevresinde dizilim gösterirler. Patern 1, 2 ve 3'te tüm glandlarda luminal diferansiyasyon ve epitel polarite devam etmektedir. Patern 4'te normal polaritede kayıp vardır. Patern 5'te ise nadir luminal diferansiyasyon görülür ve polarite hemen tümüyle kaybolmuştur (10). Baskın olan derece primer patern, baskın olmayan derece ise sekonder patern olarak değerlendirilir ve bu ikisinin toplamından 2 ile 10 arasında değişen toplam histolojik skor elde edilir (10, 11, 28). Eğer tümör tek bir patern içeriyorsa GS bu paternin iki katıdır.

GS 2 ve 3 çok istisnai bir durumdur. Çünkü Gleason patern 1 çok nadirdir. GS 4 ise göreceli olarak nadirdir. Çünkü patern 2 sıklıkla patern 3 ile karışık olarak bulunur. GS 2 ile 4 arasında olan tümörler transisyonel zonu örnekleyen TURP materyallerinde görülebilir. İğne biyopsi materyallerinde GS 2-4'ün kullanılmaması gerektiği söylenmektedir. GS 6 ve 7 en sık görülen skorlardır ve çalışmaların çoğunda tümörlerin büyük bir kısmını oluşturmaktadır (10).

Gleason, prostat karsinomu derecelemesinin küçük büyütmede (4x veya 10x) değerlendirilmesi gerektiğini belirtmiştir. 20 veya 40'luk objektifte değerlendirme olduğundan daha yüksek Gleason skorlamasına sebep olabilmektedir (29).

Gleason patern 1:

Uniform, tek, ayrı ve sıkı paketlenmiş glandlardan oluşan, iyi sınırlı tümör nodülleri Gleason patern 1 olarak derecelendirilir. Gland boşluğu bir gland boyutunu geçmez. Gleason patern 1 çok nadirdir ve varlığı tartışmalı bir konudur. Gleason 1+1=2 olarak değerlendirilen adenokarsinomlar, bazal hücre belirleyicileri ile immünohisto-

kimyasal olarak tekrar değerlendirildiğinde, adenozis tanısı alacaktır (atipik adenomatöz hiperplazi).

Gleason patern 2:

Gleason patern 2'de tümör hala oldukça iyi sınırlıdır. Fakat çevre nonneoplastik prostata neoplastik glandların minimal yayılımı görülebilir. Gleason patern 1'e göre glandlar daha gevşek paketler halinde ve daha az uniformdur. Gleason patern 1 ve 2 glandlar orta dereceli tümörlere göre daha büyük olma eğilimindedir ve abondan soluk eozinofilik stoplamaları vardır. Orijinal Gleason sistemine göre, patern 2'de kribriform glandlar bulunmaz (10, 29).

Gleason patern 3:

Gleason patern 3 en sık görülen paterndir (10). Bu tümörlerin büyük çoğunluğu, belirgin şekil ve boyut farklılıkları gösteren, sıklıkla anguler şekilli, tek tek glandlardan oluşur. Neoplastik gland boyutu sıklıkla patern 1 ve 2'ye göre daha küçüktür. Gleason patern 3 tümör nonneoplastik prostat asinusları arasına infiltrasyon gösterir (10, 29). Küçük glandlar, patern 3 için tipiktir fakat daha büyük ve düzensiz şekilli glandlar da görülebilir. Bütün glandlar lümenine sahiptir ve stroma tarafından çevrelenirler. Kribriform glandlar patern 3'te nadir olarak görülebilir ve kribriform patern gösteren HGPIN'dan ayrımı zordur (10). Orijinal Gleason dereceleme sistemine göre patern 3'te tek tek dağılan hücreler bulunmaz. Patern 4'ün aksine patern 3'te glandlar iyi sınırlıdır ve birbirinden ayrı olarak seçilebilirler.

Gleason patern 4:

Patern 4, Gleason'ın "böbrek hücreli karsinomu andıran berrak sitoplazmalı tümör" tanımından bu yana çok değişmiştir (29). Gleason patern 4 bugün büyük, düzensiz, kribriform ya da lümeni belirsiz, birleşmiş, düzensiz sınırlı glandları içerir (10, 29). Birleşmiş glandlar stroma tarafından birbirinden ayrılmayan glandlar grubundan oluşur. Glandlar kümesi içerisinde nadiren çok ince bağ dokusu alanları görülebilir. Kribriform patern 4 glandları büyük ve düzensiz şekillidir. Birleşmiş glandları aksine kribriform glandların arasında stroma görülmez. Kribriform invaziv karsinomların çoğu patern 3 yerine patern 4 olarak derecelendirilmelidir (10).

Gleason patern 3 tümörlerin tanjansiyel kesitleri lümeni belirsiz, düzensiz şekilli glandlar kümesi şeklinde görülebilir ve yanlışlıkla patern 4 olarak derecelendirilebilir. Çok küçük fakat iyi sınırlı glandlar patern 3 olarak değerlendirilmelidir (29).

Hipernefroid patern Gleason patern 4'ün çok nadir görülen bir varyantıdır. Bu varyantta tümör mikroskopik olarak böbrek hücreli karsinomu andıran berrak hücrelerden oluşur.

Gleason patern 5:

Gleason patern 5'te tümör glandüler diferansiyasyon göstermez ve solid tabakalar, kordonlar, trabeküller veya tek tek hücrelerden oluşur (10, 29). Kribriform ya da ortasında komedonekroz içeren solid adalar da patern 5 olarak derecelendirilir. Luminal eozinofilik sekresyonlar yanlışlıkla komedonekroz olarak değerlendirilebilir. İntraluminal nekrotik hücreler ve/veya karyoreksis kribriform glandlarda sıklıkla görülen bir bulgudur. Komedonekroz içeren tümörler yüksek nükleer dereceye ve mitotik aktiviteye sahiptir. Gleason, "disorganize hücrelerden oluşan küçük fokuslar paterni 3 veya 4'ten 5'e yükseltmemelidir" şeklinde belirtmiştir (29).

GS 7 veya üzeri tanı alan olgularda; EPY, tedavi sonrası nüks ve PK'den dolayı ölüm riski daha yüksektir. İyi diferansiye, derece 6 tümörlerde ise kansere bağlı ölüm riski düşüktür (28). RP uygulanan olgular üzerinde yapılan bir çalışmada, kansere bağlı ölüm oranı GS 6 ve daha düşük olan olgularda %0,2-1, GS 3+4 olanlarda %4-6, 4+3 olanlarda %6-11, GS 8 ve üzeri olgularda ise %26-37 bulunmuştur (30).

Tersiyer patern:

İğne biyopsi ve RP materyallerinde tersiyer patern tanımlaması farklıdır. İğne biyopsilerde tersiyer patern üçüncü sıklıkta görülen paterndir. RP materyallerinde ise primer ve sekonder paternlerden daha yüksek dereceli ve toplam tümör hacminin %5'inden azını oluşturan patern olarak tanımlanmaktadır. Tersiyer, yüksek dereceli karsinom oranı yüksek olan tümörlerle, sınırlı alanda tersiyer patern izlenen tümörlerin prognozları farklıdır. %5'ten fazla yüksek dereceli alan içeren tümörlerde, bu yüksek dereceli patern sekonder patern olarak Gleason skorlaması içerisinde yer almalıdır. Fakat bu tanımlama henüz kabul görmemiştir (29).

Prostat karsinomu heterojen bir tümördür. Yaklaşık %5 olguda üç (çok nadiren dört) farklı Gleason paterni bulunmaktadır. Gleason kendi serisinde %50 olgunun iki ve üzeri farklı patern içerdiğini belirtmiştir (11). Tümünü işleme alınan 101 RP olgusu içeren bir seride üç ve üzeri farklı patern içeren adenokarsinomların oranının %50'den fazla olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada; patern sayısının yüksek tümör hacmi ile arttığı ve tersiyer 5 paterninin GS 7 olgularda kötü prognozun en önemli göstergesi olduğu saptanmıştır (31).

The International Society of Urologic Pathology, üç ve üzeri farklı patern içeren olgularda, Gleason skorlamasını en sık olan patern ile en kötü paternin toplamı şeklinde modifiye etmişlerdir. Örnek olarak; %60 oranında derece 3, %35 derece 4 ve %5 oranında derece 5 içeren bir RP materyali ISUP'a göre 3 (en sık patern) + 5 (en kötü patern) = 8 olarak derecelendirilmelidir. Fakat bu materyalin klasik GS 3 (en sık patern) + 4 (en sık ikinci patern) = 7 'dir. Bu modifiye Gleason skorlamasının kabul edilebilmesi için kapsamlı prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır (11).

4- Cerrahi sınırlar:

Cerrahi sınır pozitifliği RP sonrası klinik ve biyokimyasal nüks ile ilişkilidir. Vezikula seminalis invazyonu veya lenf nodu metastazı olmayan olgularda önemli bir prediktif faktördür (11). Ayrıca CS pozitifliğinin fokal veya yaygın oluşu ve multipl veya tek oluşu ile biyokimyasal nüks arasında ilişki bulunmuştur (3). Bununla birlikte Marks ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, pozitif cerrahi sınır uzunluğu ile PSA nüksü arasında ilişki saptanmamıştır (32). Benzer şekilde cerrahi sınırı negatif tümörlerde; adenokarsinomun cerrahi sınıra uzaklığının prognostik önemi yoktur (33). Pozitif cerrahi sınır EPY ile ilişkilidir ve kapsüller insizyondan ayrılmalıdır. Kapsüller insizyon, benign veya malign prostat dokusunun cerrah tarafından kesilmesi ve prostat dokusunun bir kısmının hastada kalması durumunda kullanılan bir terimdir ve tanısı zordur (1, 3). Ayrıca apeks lokalizasyonlu cerrahi sınır pozitifliğini, bu bölgede sık görülen anatomik varyasyonlar nedeniyle EPY'den ayırt etmek patologlar açısından sorunlu bir durumdur (3).

CAP, her CS pozitifliğinin, genişliğinin ve lokalizasyonunun rapor edilmesi gerektiğine dikkat çekmektedir. Fakat bu faktörleri değerlendirmek için spesifik bir yöntem konusunda henüz bir fikir birliği yoktur (11, 24).

5- Tümör hacmi:

Morfometrik tekniklerle RP materyalinin tüm kesitlerinde ölçülen tümör hacmi, GS, cerrahi sınır pozitifliği, seminal vezikül invazyonu ve lenf nodu metastazı ile ilişkili bir prognostik faktördür (1). Dünya çapında kabul görmüş bir yaklaşım olmasa da, prostatektomi materyallerinde TH ölçülmelidir. TH ölçümü; bilgisayarlı morfometrik ölçüm, genişlik ve kesit kalınlığının basit ölçümü (bazı patologlar en büyük fokusu ölçerken, bazıları agregat hacmini rapor etmektedir), en büyük tümör genişliği, nokta sayma yöntemi ve tümör yüzdesinin görsel ölçümü gibi yöntemlerle yapılmaktadır. Formalinde fikse edilmiş doku kesitlerinde %1,15-1,5, dokuda ise %18-33 oranında hacim kaybı görülmektedir. Schned ve ark. bu kaybın düzeltilmesinin gereksiz olduğunu belirtmişlerdir.

RP uygulanan hastaların yaklaşık %70'inde multifokal karsinom saptanmıştır. Ayrıca insidental tümörlerin %80'i 0,5 ml'den küçüktür ve bunlar multifokal tümörlerin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Bununla birlikte preoperatif tanı almış büyük tümörler klinik bulgu vermeyebilir. Bugüne kadar, klinik öneminin düşük olması nedeniyle, unifokal ya da multifokal hastalığı ayırmak için yeteri kadar çaba harcanmamıştır. Küçük hacimli prostat karsinomları sıklıkla multifokal, bilateral ve periferik zon yerleşimlidir. Bu küçük tümörlerin %16'sında Gleason patern 4 saptanmıştır. Noguchi ve ark. multifokal PK'de izlenen sekonder tümörlerin prognozu etkilemediğini, en büyük tümörün önemli olduğunu belirtmişlerdir.

TH sıklıkla RP sonrasında nüks ile ilişkilidir. Yapılan bir çalışmada, TH; RP sonrası biyokimyasal nüks gösteren olgularda $2,55\text{cm}^3$, operasyon sonrası 5 yıl hastaliksız yaşayanlarda ise $0,94\text{cm}^3$ bulunmuştur (11).

İğne biyopsi materyallerinde TH'yi ölçmek için; pozitif kor sayısı, tüm kordadaki tümör odaklarının toplam uzunluğu, her kordaki tümör yüzdesi, bütün materyaldeki toplam tümör yüzdesi ve pozitif kor oranı gibi çok sayıda yöntem tariflenmiştir. Bununla birlikte herhangi bir tekniğin diğerine üstünlüğünü gösteren bir bulgu yoktur. Çok sayıda çalışmada pozitif kor sayısı ile çeşitli prognostik göstergeler arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Diğer en sık kullanılan yöntemler ise her kordaki kanser yüzdesi ile toplam kanser yüzdesinin ölçümüdür. İğne biyopsilerde izlenen yaygın tümör kötü prognoz göstergesidir. Bununla birlikte iğne biyopsilerde tümör oranının düşük olması,

örnekleme sınırlılıkları nedeniyle, iyi prognoz göstergesi değildir. Patolog için uygulanabilir olan ve mantıklı yaklaşım tümör içeren kor sayısını ve tümör uzunluğu veya yüzdesini rapor etmektir (10).

6- Yaş:

Diğer faktörlerle kıyaslandığında hasta yaşı önemli bir prognostik faktör değildir. Az sayıda, 35 yaş altı, az diferansiye ve çok agresif davranış gösteren prostat karsinomu olgusu yayınlanmıştır. Bununla birlikte 40 yaş üstü prostat karsinomu olgularında, yaş ve prognoz arasında belirgin bir ilişki saptanmamıştır.

7- Irk:

Siyah erkeklerde PK'ye bağlı ölüm oranı beyaz erkeklere göre iki kat fazladır. Bu farkın sebebi siyah erkeklerde PK'nin tanı anında daha yüksek evrede olmasıdır. Hastalık evre ve dereceye göre sınıflandığında iki ırk arasında prognoz birbirine yakındır.

8- İlk tanı metodu:

TUR materyallerinde tanı alan olgularda iğne biyopsilerde tanı alanlara göre tümör yayılımı oranı daha yüksektir. Bunun farklılığın, TUR prosedürünün kendisinden mi yoksa TUR materyali ile tanı alabilen tümörlerin daha ilerlemiş olmasından mı kaynaklandığı henüz net değildir. Diğer taraftan PK'nin büyük bir kısmı mesane karsinomu nedeniyle yapılan radikal sistoprotatektomi materyallerinde insidental olarak saptanmaktadır (1).

9- Serum PSA düzeyi:

Serum PSA düzeyi, tümör hacmi, tümör yayılımı ve tedaviye yanıtın indirek göstergesi olarak önemli bir prognostik faktördür ve PK'yi saptamada anahtar rol oynamaktadır (1, 10). Tanı anındaki PSA düzeyi prognostik bir göstergedir. Yapılan son çalışmalar yüksek PSA düzeyinin yüksek tümör hacmi ve kötü prognozla ilişkili olduğunu göstermiştir. Serum PSA düzeyi hafif artmış hastalarda (2-9 ng/ml) bu artışın BPH veya diğer benign lezyonlara bağlı olabileceği düşünülmektedir. Bu hasta grubunda PSA düzeyi ile tümör hacmi ve derecesi arasında anlamlı ilişki olmadığı sap-

tanmıştır. Ayrıca tedavi sonrası serum PSA düzeyi artışı nüks açısından önemli bir göstergedir (10).

10- PSA ve PAP'ın immünohistokimyasal olarak gösterilmesi:

PSA ve PAP ile boyanmayan ya da zayıf boyanan prostat karsinomu alanları diğerlerine göre daha agresif davranış göstermektedir.

11- Perinöral invazyon:

PNI, karsinom tanısı için önemli bir tanısal ipucudur ancak PNI'nin prognostik değeri hala tartışmalı bir konudur (1). RP materyallerinin %75-84'ünde saptanmaktadır. Çok sık görülen PNI'nin bağımsız bir prognostik faktör olduğu gösterilememiştir ve bu bulgu patoloji raporlarında rutin olarak rapor edilmemektedir (10). Yapılan bazı çalışmalar EPY ve tedavi sonrası nüksün PNI ile ilişkili olduğunu saptamışken diğer bazı çalışmalarda böyle bir ilişki saptanamamıştır (1). Bir çalışmada PNI'nin en büyük uzunluğunu ile biyokimyasal nüks arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Ancak rutin klinik pratiğe girmeden önce bu bulgunun doğrulanması gerekmektedir. Ayrıca iğne biyopsi materyallerinde PNI'nin önemini aydınlatmaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır ve ince iğnede saptanan PNI'nin aynı hastaların RP materyallerinde saptanan EPY ile anlamlı olarak ilişkili olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte iğne biyopsilerde izlenen PNI ile tedavi sonrası nüks arasında anlamlı ilişkili saptanmıştır. PNI'nin prognostik önemi ve histolojik değerlendirmenin kolay olması nedeniyle iğne biyopsilerde rapor edilmesi önerilmektedir.

12- Lenfovasküler invazyon:

RP materyallerinde LVI oranı %14 ile %53 arasında değişmektedir. İnsidans oranındaki bu farklılık LVI tanısı için farklı kriterler kullanımından kaynaklanmaktadır. Otörlerin büyük çoğunluğu endotelle çevrili boşlukların gösterilmesi için immünohistokimya kullanımını önermemektedir fakat tümör çevresindeki retraksiyon artefaktı, LVI tanısında önemli zorluğa sebep olmaktadır (10). LVI malignitenin güçlü bir göstergesidir ve varlığı histolojik derece ile koreledir. Yapılan çalışmalarda GS, EPY, seminal vezikül invazyonu ve tümör progresyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Peritümöral lenf damarı invazyonu ise bölgesel lenf nodu invazyonu ile ilişkilidir (1). Evre ve dere-

ceyi de içeren çok değişkenli çalışmalarda, LVI'nin bağımsız bir prognostik faktör olduğu gösterilememiştir. Diğer taraftan Cheng ve ark. çok değişkenli bir çalışmada, LVI'nin, PSA nüksü ya da kansere bağlı ölüm açısından bağımsız bir prognostik faktör olduğunu göstermişlerdir. Diğer bir çalışmada ise LVI izlenmeyen olgularda 5 yıllık hastaliksız yaşam oranı %87,3 iken LVI izlenen olgularda ise %38,3 bulunmuştur. Çok değişkenli çalışmalarda, LVI ve GS'nin biyokimyasal nüks açısından bağımsız göstergeler olduğu saptanmıştır (11).

13- Neovaskülarizasyon:

Oksijen ve esansiyel elementlerin sınırlı difüzyon kapasitesi nedeniyle, tümör boyutu arttıkça yeni damarlara ihtiyaç duymaktadır. Kan damarları normalde tipik olarak düzenli bir dağılım gösterir fakat tümör içerisinde damarlar disorganize olabilir. PK'de, damar yoğunluğunda artma ve damar morfolojisinin prognostik belirleyiciler ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca cerrahi ve radyoterapi alan olgularda, tümör VEGF'nin kötü prognozla ilişkili olduğu bulunmuştur (28).

14- Nöroendokrin değişiklikler:

Nöroendokrin diferansiyasyon, PK'nin bütün türlerinde az diferansiyasyon ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur. Bununla birlikte nöroendokrin diferansiyasyon derecesi ile tümör progresyonu arasında ilişki olduğu iddia edilmektedir. Ayrıca ilginç olarak, Paneth hücresi benzeri nöroendokrin hücrelerden oluşan çok az sayıda PK'nin iyi prognozlu olduğu düşünülmektedir (1).

15- Belirgin reaktif stroma:

Prostat stroması fibroblastlardan değil düz kas hücrelerinden oluşmaktadır. Bu nedenle PK'de desmoplastik yanıt diğer epitelyal karsinomlardaki kadar belirgin değildir. Nobuyuki ve ark. iğne biyopsilerinde yaptıkları bir çalışmada stromal yanıt skorlamışlar ve belirgin reaktif stroma içeren tümörlerin tekrarlama eğiliminde olduğunu saptamışlardır (34).

16- Androjen reseptörü:

Hedef hücrede androjen etkisi AR aracılığı ile sağlanmaktadır. AR'de mutasyon, tedavi almamış olgularda nadirdir ve antiandrojen tedavi alan olgularda ise ortalama %25 sıklıkla görülebilmektedir. AR gen amplifikasyonu genin ekspresyonunda artışa sebep olur ve androjen bağımsız prostat karsinomlarının neredeyse tümünde yüksek düzeyde AR eksprese edilir (11). İmmunohistokimyasal tekniklerle gösterilen AR artışı, agresif klinikopatolojik bulgular ve düşük hastalıksız yaşam ile ilişkilidir. Metastatik PK'de saptanan AR geninde mutasyon nedeniyle bu tümörler androjen bağımsız tümörlerdir (1).

Özellikle androjen seviyesinin düşük olduğu durumlarda c-erb B2'nin AR'yi aktive ettiği ve PK hücrelerinin yaşamasına yardımcı olduğu düşünülmektedir. Bu bulgular, androjen bağımsız PK'de Her-2'yi hedef alan tedavi üzerinde yapılan çalışmaların başlangıç noktasıdır.

17- DNA ploidi:

PK'de DNA ploidi analizi, histopatolojik incelemeye ek olarak önemli prediktif bulgular sağlamaktadır. Diploid tümörler, anöploid tümörlere göre çok daha iyi prognostiktir. Ancak PK ploidi paterni sıklıkla heterojendir. Doğru preoperatif plöidi paterni değerlendirmesi için multipl biyopsi analizi önemlidir. DNA plöidi ve histolojik derece arasında önemli bir ilişki vardır ve DNA plöidi bazı hastalar için klinik olarak değerli prediktif bilgi sağlamaktadır (11). Flow sitometri yöntemi ile değerlendirilen DNA plöidi paterni; derece, hacim, evre, nüks ve uzak metastaz ile ilişkilidir (1, 11). Düşük dereceli tümörlerin çoğu diploid, yüksek dereceliler ise non-diploiddir. Fakat istisnai durumlar görülebilmektedir. Beş yıllık yaşam süresi; diploid tümörlerde %95, tetraploid tümörlerde %70, anöploidlerde ise %25 bulunmuştur (11).

18- Proliferasyon indeksi:

PK'de Ki-67 indeksi; lenf nodu metastazı gösteren veya organa sınırlı olgularda, tümöre bağlı mortalite ile ilişkili bulunmuştur. Proliferasyon indeksi, GS ile birlikte önemli bir prognostik faktördür.

19- Kromozomal anormallikler:

Klonal karyotipik anormallikler taşıyan hastaların normal karyotipi olanlara göre yaşam sürelerinin daha kısa olduğu saptanmıştır.

20- P53 ekspresyonu:

Bazı ileri evre PK'lerde p53 tümör supresör gen mutasyonu saptanmıştır. Bu bulgunun evre ve dereceden bağımsız bir faktör olduğu düşünülmektedir.

21- RAS onkogeni:

RAS onkogeni; p21 ekspresyonu, nükleer anaplazi derecesi ile ilişkili bulunmuştur ve mikroskopik derece ile birlikte önemli bir prognostik faktördür. Bununla birlikte bu onkogenin ekspresyonunun bağımsız bir prognostik faktör olduğu yönünde veri yoktur.

22- Bcl-2:

Bcl-2 onkoproteini pozitifliği, PK nüksü ile istatistiksel olarak ilişkili saptanmıştır.

23- Dolaşan tümör hücreleri:

PCR tekniği ile değerlendirilen PSA ölçüm dökümü sayesinde, dolaşan tümör hücrelerinin saptanması tümör nüksünü öngörebilmektedir.

24- Diğer moleküler genetik belirleyiciler:

Yukarıdakilere ek olarak; 8q, p21-waf1, p27-kip1, p34-cdc-2, p120, siklinler ve katepsin-D gibi bazı moleküler genetik faktörlerin prostat karsinomunda prognostik önemi olduğu iddia edilmektedir (1).

Nestin

Nestin sınıf IV intermediate flaman proteindir. İlk olarak santral sinir sistemi gelişiminde etkili nöronal kök hücre belirleyicisi olarak tanımlanmıştır (4). Nöronal ve glial öncül hücreler, gelişen kas hücreleri, kıl folikülü öncül hücreleri, mezonefrik mezenterim, karaciğer kök hücreleri ve damar endotelinde saptanmıştır (4, 5). Diferansiyasyon sırasında GFAP, nöroflaman ve desmin gibi hücreye özgü intermediate flamanla-

rın artışı ile ilişkili olarak nestin proteini azalmaktadır (35, 36). Diferansiye olmuş hücrelerde salınımı sınırlıdır ancak hücre hasara yanıt olarak tekrar salınabilir (5, 37). Merkezi sinir sistemi, kas, karaciğer dokusunda tamir sürecinde ve infarkte myokard dokusunda eksprese edildiği tespit edilmiştir (6). Bununla birlikte nestin proteini fare ve insan böbreğinde podositlerde saptanmıştır (38, 39). Nestin proteinin gelişmiş hücrede ve hücre gelişimindeki rolü bilinmemektedir (4).

Yapılan çalışmalar karsinom gelişiminde kanser kök hücrelerinin önemli yer tuttuğunu ve tümör hücrelerinin bu kök hücrelerin bazı özelliklerini taşıdığını öne sürmüşlerdir (5). Nöral kök/progenitor hücrelerin önemli bir belirteci olması yanısıra nestin proteini, anjiosarkom, pankreatik adenokarsinom, gliom, melanom, rabdomyosarkom, testiküler stromal tümör, adrenokortikal tümör, gastrointestinal stromal tümörler, tiroid tümörleri, meme ve prostat karsinomları gibi çok çeşitli tümörlerde tespit edilmiştir (5, 6). Bazı tümörlerde agresif büyüme, metastaz ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (6).

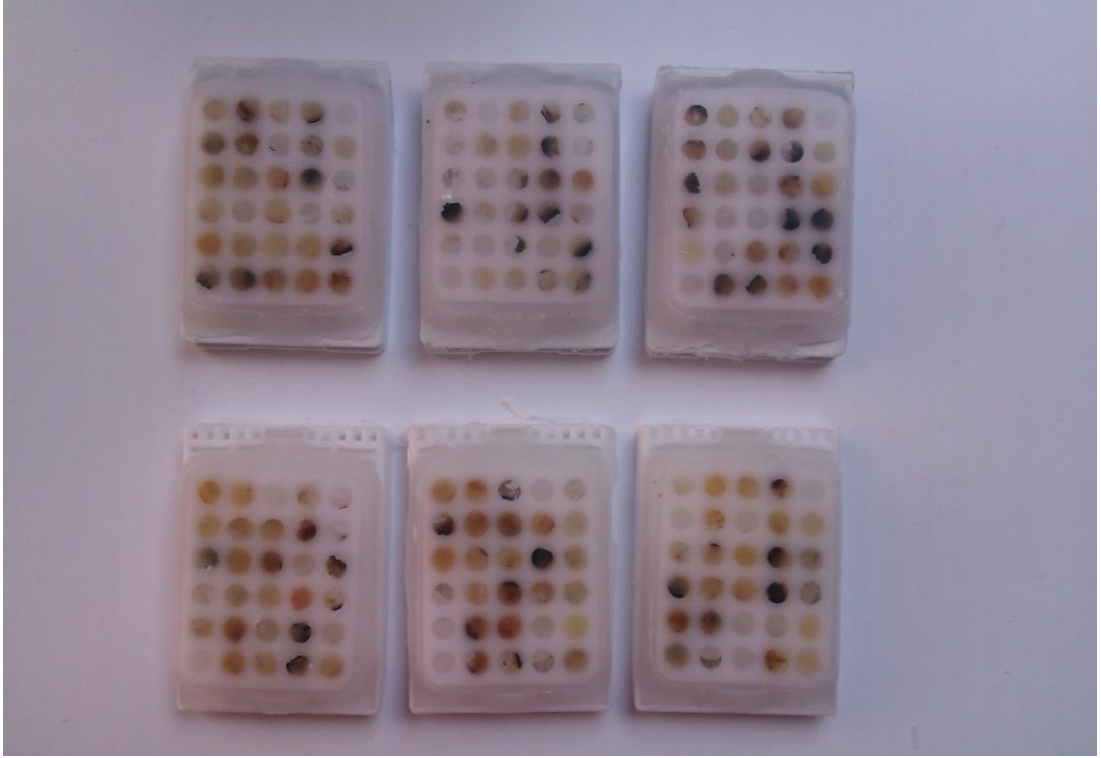
Her-2

Her-2 proteini, hücre proliferasyon ve diferansiasyonunda görevli, normal ve malign epitelyal hücrelerde bulunan bir transmembran tirozin kinaz büyüme faktör reseptörüdür. Her-2 proteinini kodlayan gen, meme kanseri hastalarının %20-25'inde tespit edilmiştir (7, 40). Bu proteinin meme kanserinde güçlü bir prognostik faktör olduğu bilinmektedir ve hedefe yönelik tedavide başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (7). Her-2 ekspresyonu; ileri evre, metastaz, kısalmış yaşam süresi, kemoterapi ve endokrin tedaviye kısıtlı yanıtla ilişkili bulunmuştur (41). Her-2 ekspresyonu artışı, trastuzumab için bir tedavi hedefi oluşturmaktadır. Bu monoklonal antikor, Her-2 pozitif meme kanserinde metastatik hastalıkta ve adjuvan tedavide kullanılmaktadır (42).

GEREÇ VE YÖNTEM

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 1993-2006 yılları arasında RP uygulanmış, 122 hasta seçildi. DEÜTF Patoloji Ana Bilim Dalı arşivinden bu hastalara ait RP materyallerinin preparatlarına ve patoloji raporlarına ulaşıldı. Bu preparatlar patolojik evre, GS, EPY, cerrahi sınır ve PNI açısından tekrar değerlendirildi ve bu bulgular not edildi. Patoloji raporlarından 113 olgunun tümör hacim bilgilerine ulaşıldı ve tümör hacimleri kaydedildi. Tümör hacmi raporlanmayan olguların arşivden tüm preparatlarına ulaşamadığı için bu olguların tümör hacimleri ölçülemedi. Cerrahi sınır pozitifliği olan olgularda pozitif cerrahi sınır uzunluğu milimetre cinsinden ölçüldü ve kaydedildi. Pozitif cerrahi sınır seri kesitlerde devam ediyorsa doku kalınlığı 3 mm kabul edilerek pozitif cerrahi sınır toplam uzunluğu hesaplandı. Pozitif cerrahi sınır bir prostat diliminin birbirini tamamlayan kesitlerinde devam ediyorsa pozitif cerrahi sınır uzunlukları toplandı. Ayrıca pozitif cerrahi sınır alanlarında izlenen GS değerlendirildi ve kaydedildi. EPY gösteren olgularda EPY alanlarında GS, bu alanların fokal mi yaygın mı olduğu değerlendirildi ve bu bulgular kaydedildi.

Prostat adenokarsinomu heterojen bir tümör olduğu için, farklı Gleason paternlerindeki nestin ekspresyonu ve Her-2 gen amplifikasyonunu değerlendirmek amacıyla; değerlendirilen preparatlarda farklı Gleason paternleri içeren alanlardan birer örnek alan işaretlendi ve blok arşivinden seçilen preparatlara ait bloklara ulaşıldı. Bu bloklardan, preparatlardaki işaretli alanlar belirlenerek, 3 mm çapında 30 kor içeren 6 adet TMA bloğu elde edildi (Resim 1).



Resim 1: İmmünohistokimya ve CISH çalışılması için hazırlanan TMA bloklar

DEÜTF Üroloji Ana Bilim Dalı arşivinden çalışma kapsamına alınan olguların hasta takip dosyalarına ulaşıldı. Bu dosyalardan düzenli takibi yapılan 99 olgunun biyokimyasal nüks, lokal nüks, uzak metastaz ve tümöre bağlı ölüm bilgilerine ulaşıldı ve bu bilgiler kaydedildi.

İmmünohistokimya

TMA kesitlerine, Ventana Bench Mark Ultra otomatik immünohistokimya boyama cihazı ile nestin antikoru kullanılarak immünboyama uygulandı. İHK boyama protokolü özetle şu aşamaları içermektedir:

1. TMA bloklarından ince lizinli lamlara, 3 mikron kalınlıkta kesitler alındı.
2. Kesitler etüvde yaklaşık 55°C 'de bir gece bekletilerek parafin eritildi.
3. Ertesi gün kesitler ksilen ile deparafinize edildi.
4. Cell Conditioning 1 solüsyonu ile 64 dk antijen açığa çıkarma uygulandı.
5. Primer Ab (Bios bs-0006R) 1/50 dilüsyonda damlatılarak 52 dk inkübe edildi.
6. Ultra view Universal DAB Detection kit sekonder antikoru uygulandı.
7. Hematoksilen ile 8 dk kontrast boyama uygulandı.

8. Kesitler yükselen alkol serilerinden geçirildi ve entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

İmmunreaktivitenin değerlendirilmesi:

Nestin pozitifliği literatürde birçok çalışmada uygulandığı gibi boyanma yoğunluğuna göre derecelendirildi. Sitoplazmik boyanma yoğunluğu 0 ile 2 arasında değerler verilerek değerlendirildi: 0: boyanma yok, 1: zayıf pozitif, 2: kuvvetli pozitif (4, 5).

CISH

Çalışmamızda CISH uygulaması için “İnvitrogen, SPOT-Light HER-2 CISH Kit”i kullanıldı. Uygulama iki günde tamamlandı. Kısaca şu aşamalar takip edildi :

- Uygulama aşamasına geçmeden önce, kullanılacak solüsyonlar (Ksilen, %100 EtOH, EtOH serileri (%70, %85, %95, %100), PBS/Tween 20 buffer, %3 H₂O₂) prospektüse uygun şekilde hazırlandı.
- PK olgularının farklı Gleason paterni içeren dokularına ait TMA blokları ve bir adet pozitif kontrol bloğu (kendi arşivimize ve 2011 yılına ait, İHK’sal olarak cerbB2 ++, FISH pozitif olduğu bilinen meme tümör dokusu) her birinden (toplam 7 ayrı blok), “Superfrost Plus microscope slide”larına, 4-5 mikron kalınlıkta kesitler alındı. Prospektüste, 2-3 mikron kalınlıkta kesitlerin, yanlış şekilde düşük gen kopyası sonucu verebileceği, bu nedenle 4-5 mikron kalınlıktaki kesitlerin daha uygun olacağı belirtilmektedir.
- Kesitler, etüvde, 60⁰C’de, 4 saat inkübe edildi.
- Uygulamanın ilk günü önceden hazırlanan ksilol ve absolü alkol ile kesitler deparafinize edildi. Deparafinizasyon sonrasında, Tris EDTA tampon içeren solüsyon içerisinde lamalar 15 dakika 98-100 ⁰C’de kaynatılarak ısı ile açığa çıkarma ön işlemi uygulandı. Bu işlemin ardından, pepsin içerikli bir solüsyon ile enzim sindirimi uygulandı. Örnekler daha sonra alkol serilerinde dehidrate edilip, havada kurutuldu ve Her-2 probu eklendi. Prob uygulaması ve uygun ebatta lamel ile örneğin kapatılmasından sonra, 10 saatten uzun sürecek (bir gece) denatürasyon ve hibridizasyon aşamasına

geçildi. Bu aşama için “hibridizer” cihazı (Dako, Code S2451) kullanıldı. Denatürasyon aşaması 95⁰C’de 5 dk, hibridizasyon aşaması ise 37⁰C’de ve 18 saat uygulandı.

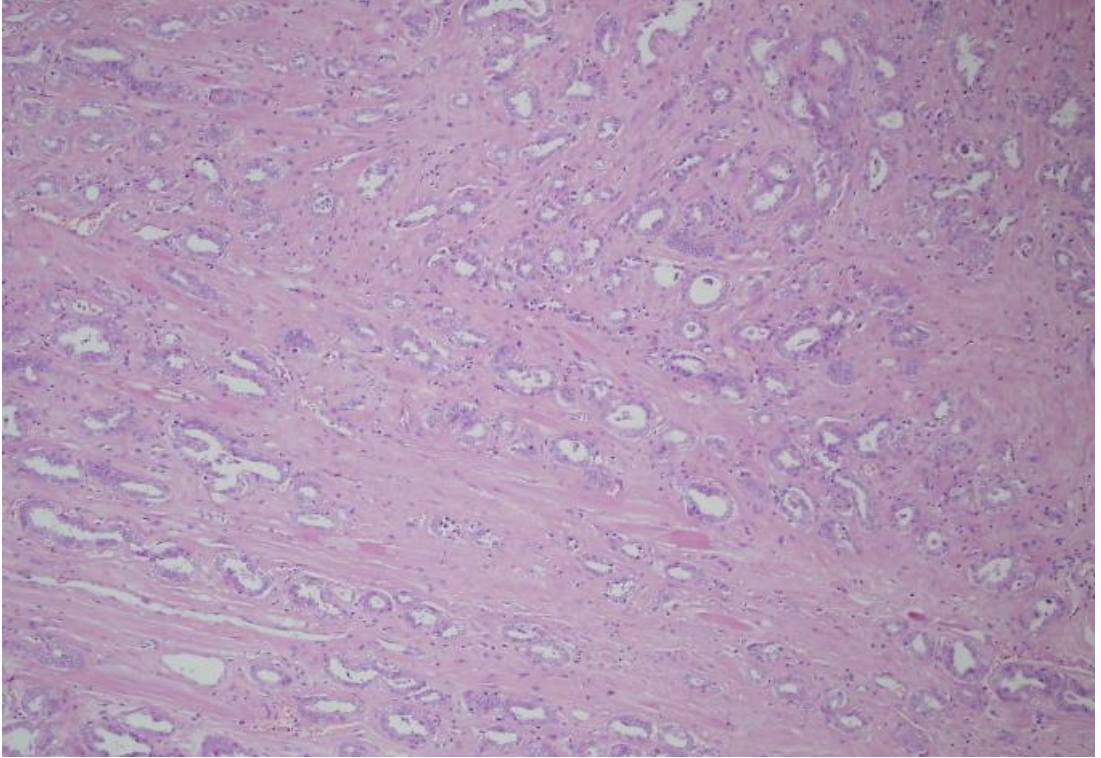
- İkinci gün hibridize olmayan problemlerin uzaklaştırılması amacı ile örnekler yıkandı ve sinyali kromojenik olarak belirlemek amaçlı ardışık antikor uygulaması (“immunodetection”) yapıldı. Son olarak doku morfolojisini de belirlemek amaçlı örnekler Mayer’s hematoksilen ile boyanıp, lamel ile örtüldü. Işık mikroskopu ile değerlendirme yapıldı.

İstatistiksel analiz

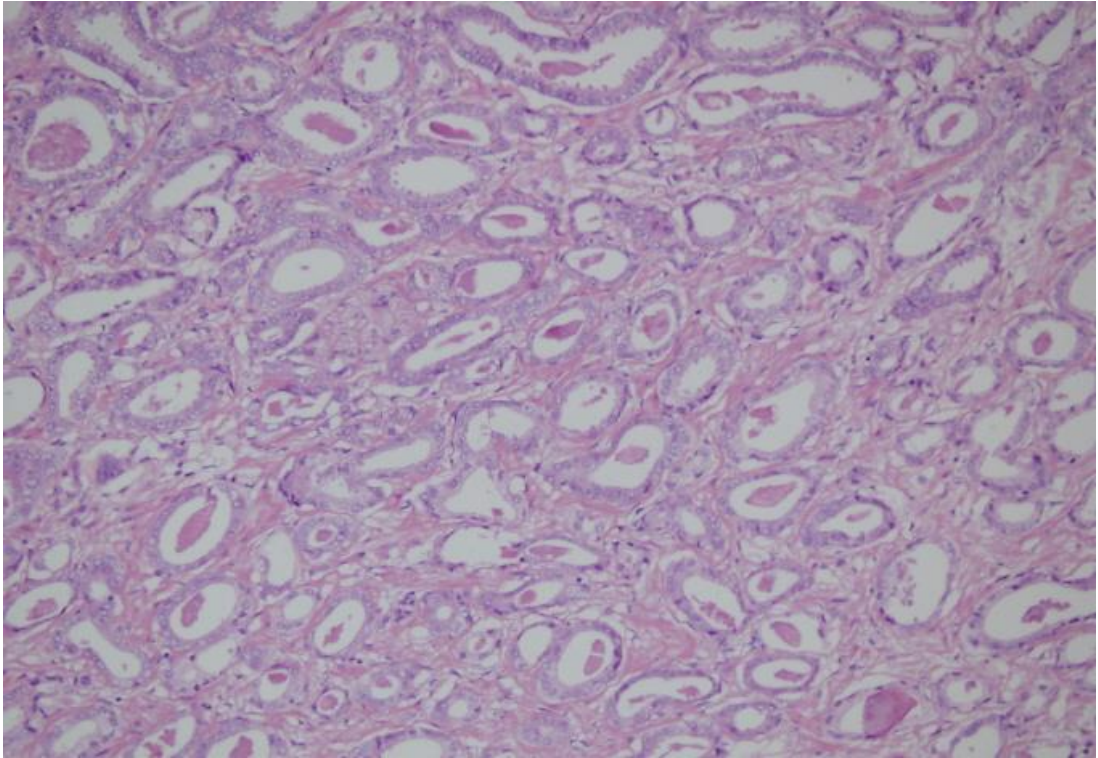
İstatistiksel analiz SPSS 15.0 programında bilgisayarda yapılmıştır. Morfolojik olarak değerlendirilen; pozitif CS uzunluğu, ile pozitif CS ve EPY alanlarındaki GS yanısıra immünohistokimyasal olarak değerlendirilen nestin ekspresyonu; prognostik olduğu bilinen diğer parametrelerle karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalarda Chi-Square, Mann-Whitney, independent samples ve nonparametrik korelasyon testleri kullanılmıştır. Karşılaştırma sonucuna göre 0.05’e eşit ya da 0.05’ten küçük olasılık katsayıları istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p \leq 0.05$).

BULGULAR

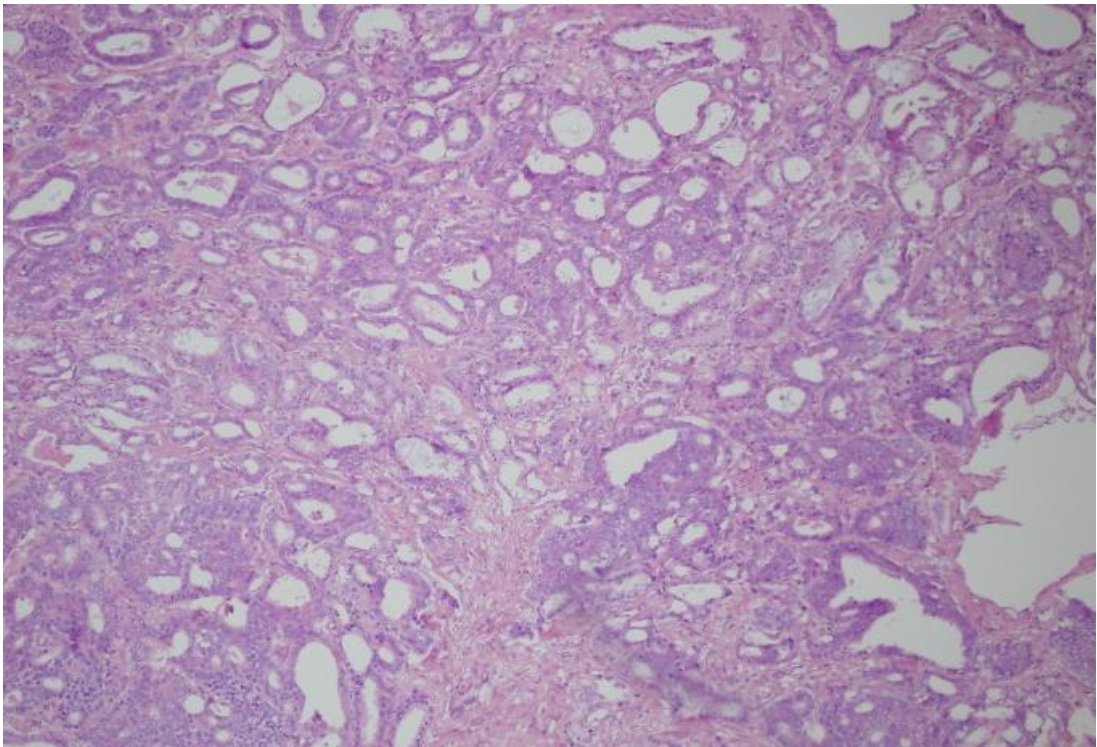
Çalışma kapsamına alınan 122 hastanın yaşları 49 ile 76 arasında değişmektedir ve yaş ortalaması 62.87 olarak hesaplanmıştır. GS olguların 46'sında (%37.7) 6 (Resim 2, 3), 72'sinde (%59) 7 (Resim 4, 5), 2'sinde (%1.6) 8 (Resim 6) ve 2'sinde (%1.6) 9 (Resim 7) olarak değerlendirilmiştir. 97 olgu (%79.5) pT2, 14 olgu (%11.5) pT3a, 11 olgu (%9) ise pT3b evresinde saptanmıştır. Patoloji raporlarından tümör hacmi bilgilerine ulaşılan 113 olgunun TH 0.01 ile 12.6 cc arasında değişmektedir ve ortalaması 2.447 olarak hesaplanmıştır. Olguların 83'ünde (%68) PNI izlenmiştir.



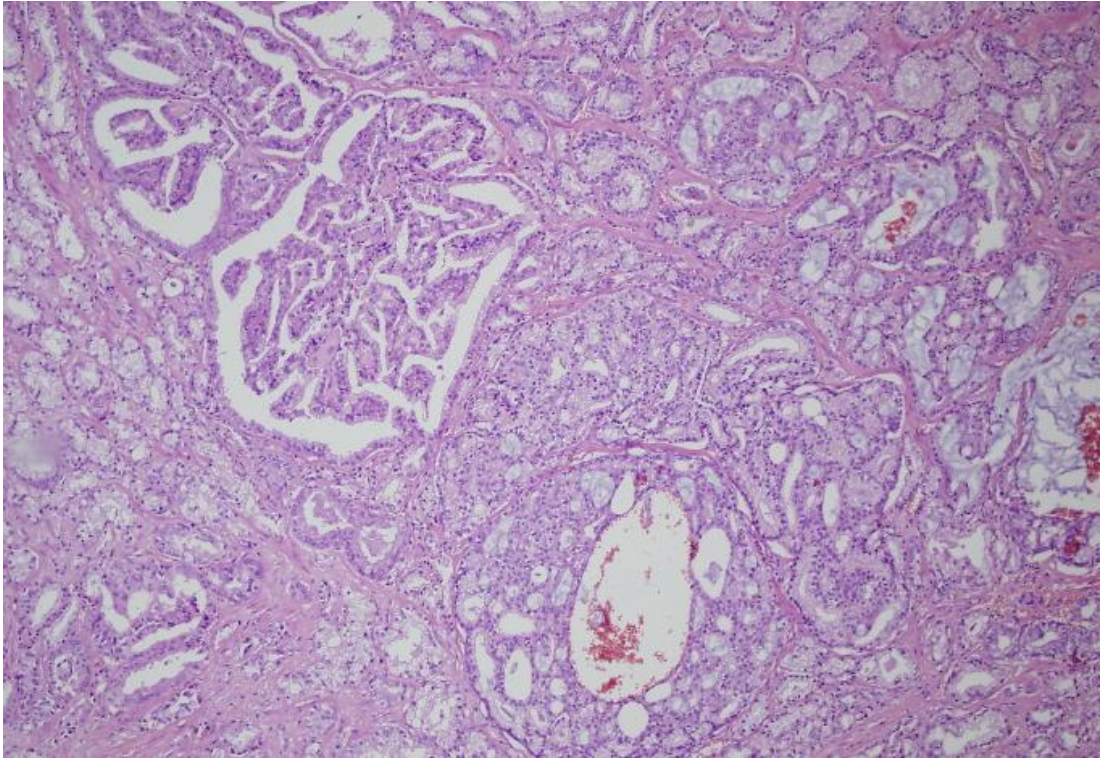
Resim 2: GS 3+3=6 (4x)



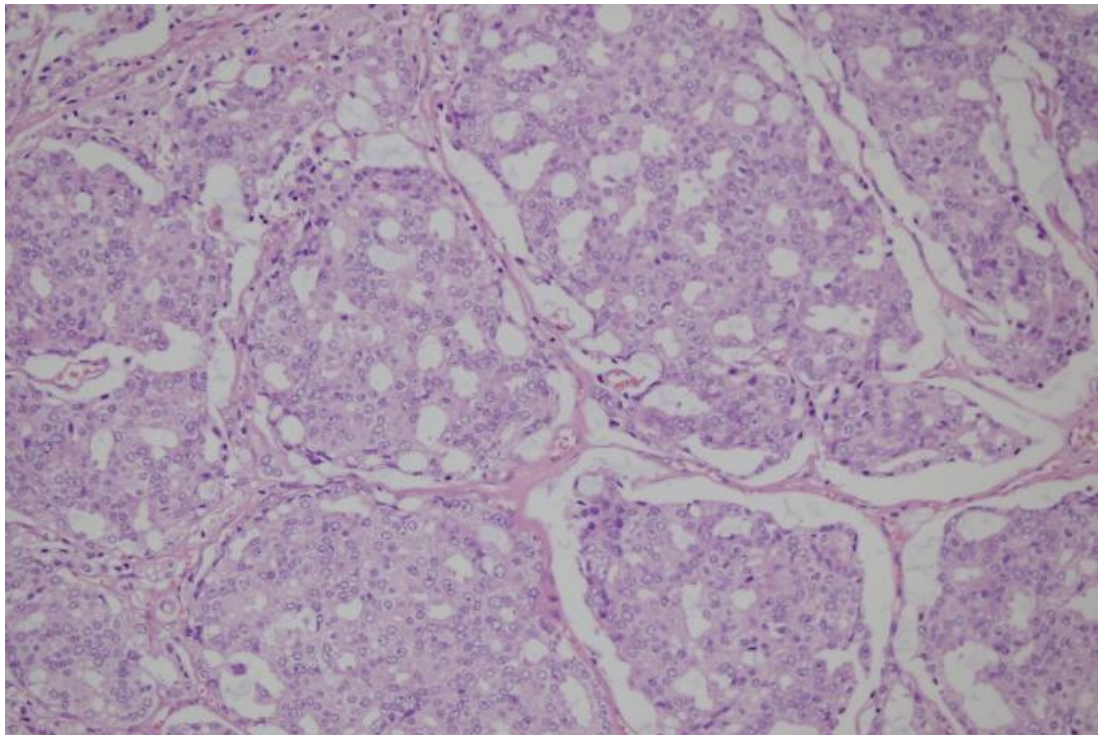
Resim 3: GS 3+3=6 (10x)



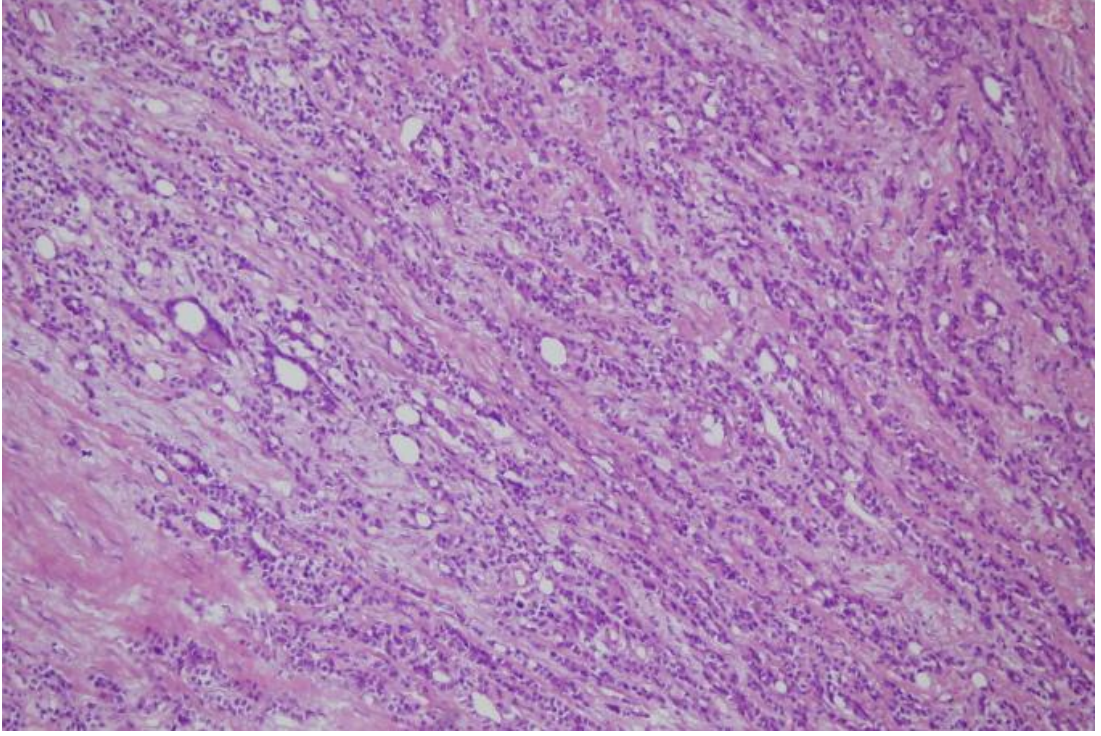
Resim 4: GS 3+4=7 (20x)



Resim 5: GS 4+3=7 (20x)

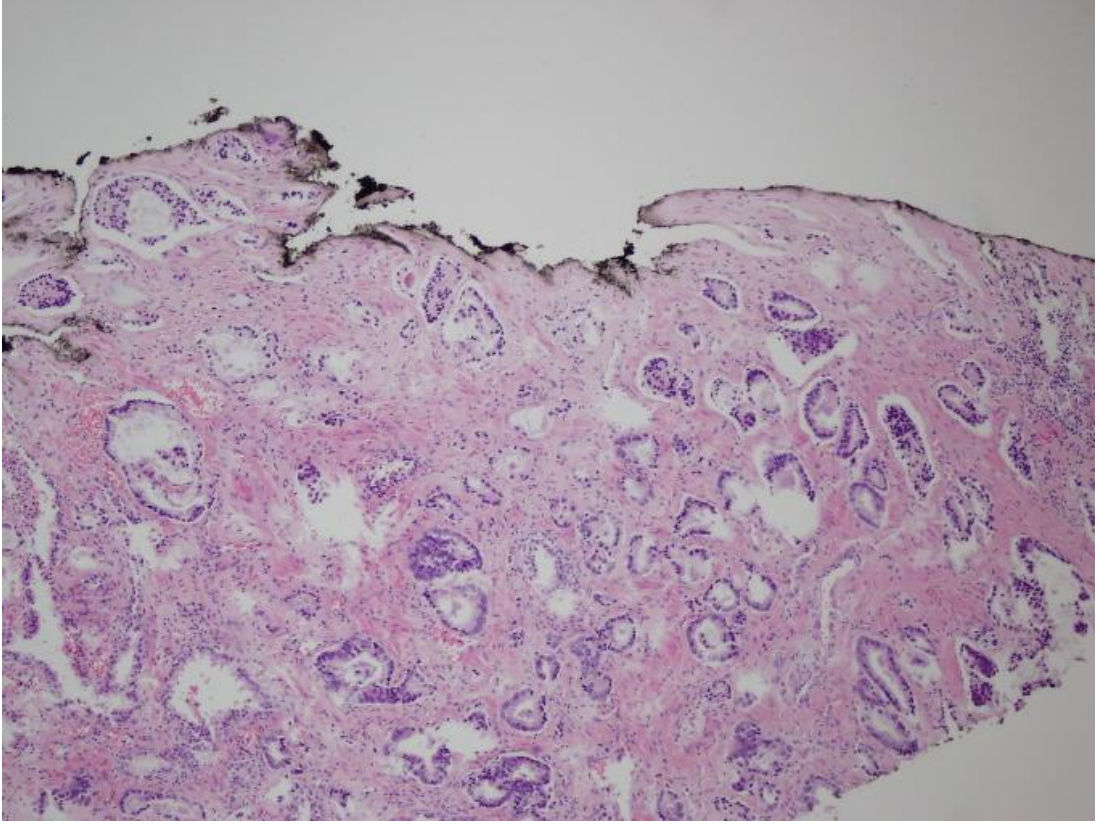


Resim 6: GS 4+4=8 (20x)



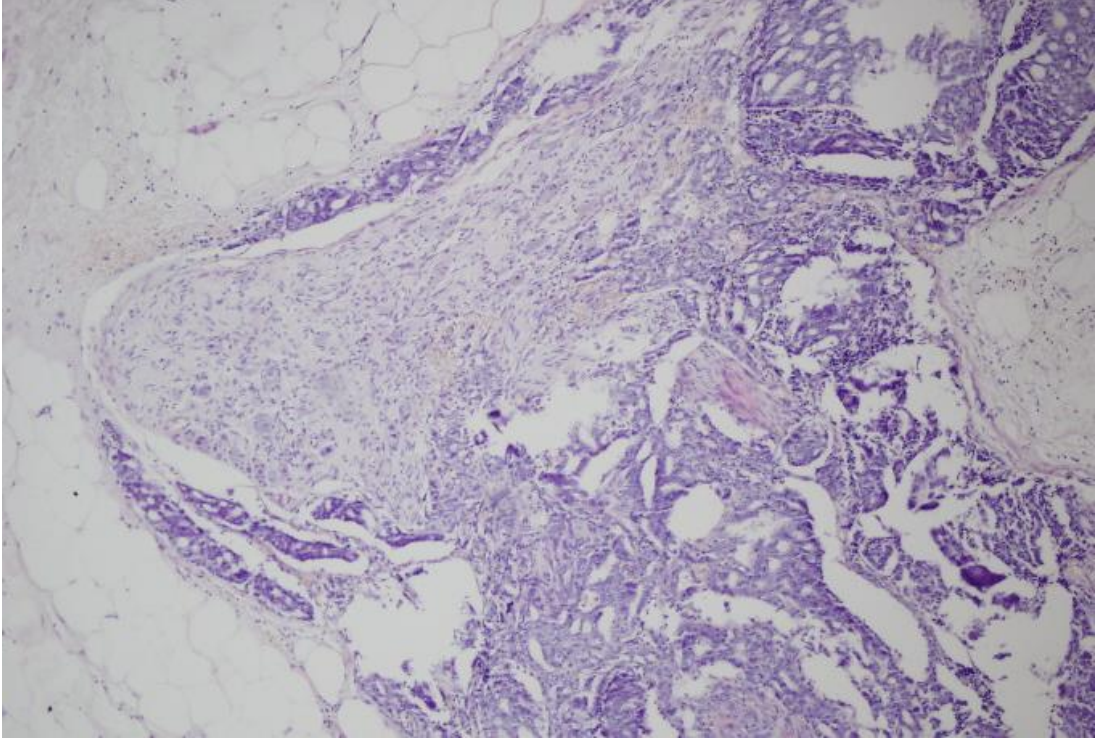
Resim 7: GS 5+4=9 (10x)

27 (%22.1) olguda CS pozitif olarak izlenmiştir (Resim 8). Bu olguların 23'ünde (%85.2) pozitif CS uzunluğu 3 mm'nin üzerinde, 4'ünde (%14.8) 3 mm ve altında ölçülmüştür. CS pozitif olarak değerlendirilen olgularda bu alanlarda GS; 6 olguda (%22.2) 6, 15 olguda (%55.6) 7, 3 olguda (%11.1) 8 ve yine 3 olguda (%11.1) 9 olarak değerlendirilmiştir.

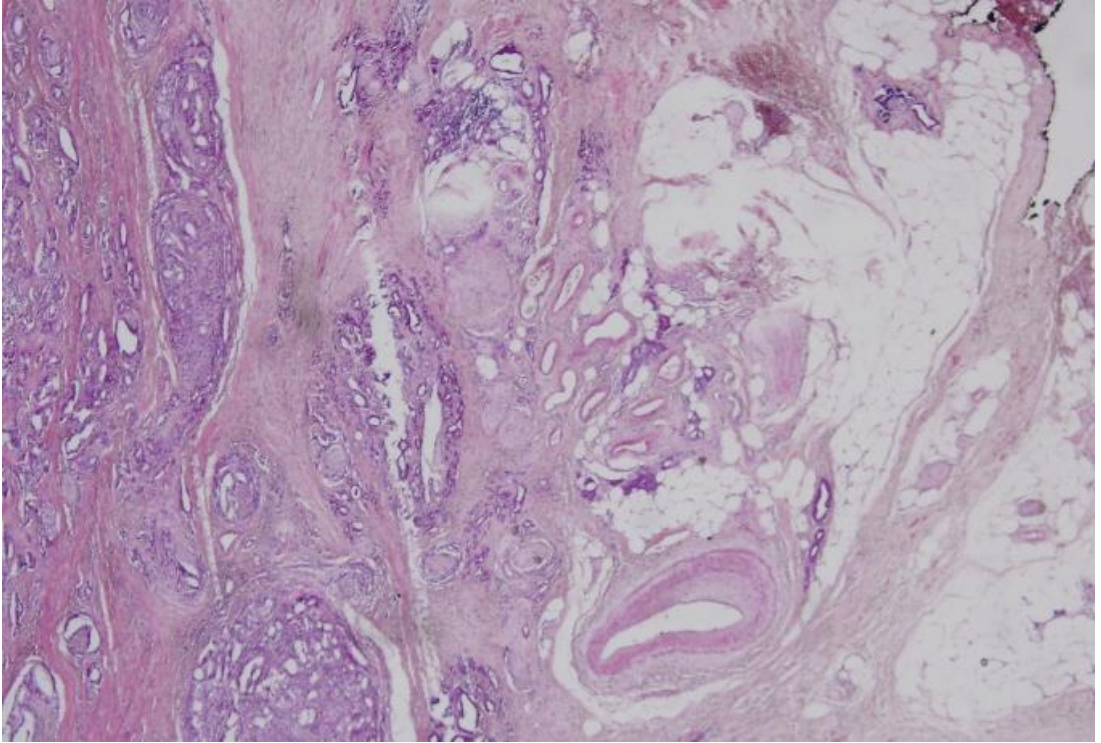


Resim 8: CS pozitif (10x)

122 olgunun 22'sinde (%18) EPY görülmüş olup (Resim 9, 10), 100 olguda (%82) EPY izlenmemiştir. EPY; 13 olguda (%10.7) yaygın, 9 olguda (%7.4) fokal olarak saptanmıştır. EPY izlenen olgularda, bu alanlarda GS; 11 olguda (%50) 7, 3 olguda (%13.6) 8 ve 8 olguda (%36.4) 9 olarak değerlendirilmiştir.



Resim 9: Ekstraprostatik yayılım (4x)



Resim 10: Ekstraprostatik yayılım (4x)

RP sonrası düzenli takibi yapılan 99 olguda 6 yıllık hastaliksız yaşam oranı %68.9 (n=84) olarak saptanmıştır. 7 olgu (%5.7) RP sonrası RT almıştır. 7 olguda (%5.7) biyokimyasal nüks saptanmıştır. 1 olguda ise RP ve RT sonrası akciğer metastazi görülmüştür.

Morfolojik olarak değerlendirilen CS pozitif olduğu alanlarda izlenen GS ile pozitif CS uzunluğu (mm); prognostik olduğu bilinen evre, GS, hacim, EPY gibi parametrelerle ve hasta takip bilgileri ile karşılaştırılmıştır.

Pozitif CS uzunluğu 3 mm'nin üstünde olan 23 olgunun 4'ünde (%17.3) GS 6, 19'unda (%82.7) ise 7'dir (ort: 6.82). 3 mm ve altında olan 4 olgunun 1'inde (%25) GS 6, 2'sinde (%50) 7 ve 1'inde (%25) 8 olarak değerlendirilmiştir (ort: 7) (Tablo 2).

	GS 6	GS 7	GS 8	Toplam
CS >3 mm	4, %17.3	19, %82.7		23, %100
CS ≤3 mm	1, %25	2, %50	1, %25	4, %100
Toplam	5, %18.6	21, %77.7	1, %3.7	27, %100

Tablo 2: Pozitif CS uzunluğu x GS (p>0.05)

CS pozitif olan olguların 24'ünde tümör hacim ölçülebilmştir. Pozitif CS uzunluğu 3 mm'nin üstünde olan 20 olguda TH 0.02 ile 8.7 arasında (ortalama:3.43); 3 mm ve altında olan 4 olguda ise 1.04 ile 5.2 arasında (ortalama: 3.38) değişmektedir (Tablo 3).

	TH, min (cc)	TH, max (cc)	TH, ort (cc)	
CS >3 mm	0.02	8.7	3.43	n=20
CS ≤3 mm	1.04	5.2	3.38	n=4

Tablo 3: Pozitif CS uzunluğu x TH (p>0.05)

CS pozitif olan olguların 18'inin takip bilgilerine ulaşılmıştır. Pozitif CS uzunluğu 3 mm'nin üstünde olan 16 olgunun 12'sinde (%75) takip sırasında hastalık bulgusuna rastlanmamış, 4'ünde (%25) biyokimyasal nüks saptanmıştır. Pozitif CS uzunluğu 3

mm ve altında olan 2 olgunun hiçbirinin takibinde hastalık bulgusu görülmemiştir (Tablo 4).

	Hastalık bulgusu yok	Biyokimyasal nüks	Toplam
CS ≤3 mm	2, %100		2, %100
CS >3 mm	12, %75	4, %25	16, %100
Toplam	14, %77.8	4, %22.2	18, %100

Tablo 4: Pozitif CS uzunluğu x hasta takip bulguları (p>0.05)

CS pozitif olan 27 olgunun 20'si T2, 7'si T3 evresindedir. Pozitif CS uzunluğu T2 olgularda 1 mm ile 18 mm arasında (ortalama: 6.9 mm), T3 olgularda ise 3 mm ile 12 mm arasında (ortalama: 7.86 mm) ölçülmüştür. Pozitif CS uzunluğu 3 mm ve altında olan 4 olgunun 3'ü (%75) pT2, 1'i (%25) pT3 evresindedir. Pozitif CS uzunluğu 3 mm'nin üzerinde olan 23 olgunun 17'si (%73.9) pT2, 6'sı (%17.4) pT3 evresindedir (Tablo 5).

	pT2	pT3	Toplam
CS ≤3 mm	3, %75	1, %25	4, %100
CS >3 mm	17, %73.9	6, %26.1	23, %100
Toplam	20, %74	7, %26	27, %100

Tablo 5: Pozitif CS uzunluğu x patolojik evre (p>0.05)

3 mm'nin üzerinde CS pozitifliği gösteren 23 olguda EPY pozitif olgu sayısı 6 (%26), EPY negatif olgu sayısı 17'dir (%74). Pozitif CS uzunluğu 3 mm ve altında olan 4 olgunun 3'ünde (%75) EPY negatif, 1'inde (%25) pozitiftir. (Tablo 6).

	EPY pozitif	EPY negatif	Toplam
CS ≤3 mm	1, %25	3,%75	4, %100
CS >3 mm	6,%26	17, %74	23, %100
Toplam	7, %74	20, %26	27, %100

Tablo 6: Pozitif CS uzunluğu x EPY (p>0.05)

Pozitif CS uzunluğu ile GS, hacim, takip bilgileri, EPY ve evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (p>0.05).

Pozitif CS alanlarında GS pT2 olgularda 6 ile 9 arasında (ortalama: 6.85), pT3 olgularda ise 7 ile 9 (ortalama: 7.86) arasında değişmektedir. Pozitif CS alanındaki GS 6 olan 6 olgunun tümü pT2 evresinde; 7 olan 15 olgunun 3'ü pT3, 12'si pT2 evresindedir. Bu alanlardaki GS 8 ya da 9 olan 6 olgunun 4'ü pT3, 2'si pT2 evresindedir. Pozitif CSdaki GS ile evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0.01) (Tablo 7).

	pT2	pT3	Toplam
CS, GS=6	6, %100		6, %100
CS, GS=7	12, %80	3, %20	15, %100
CS, GS=8, 9	2, %33.3	4, %66.7	6, %100
Toplam	20, %74	7, %26	27, %100

Tablo 7: Pozitif CS alanlarındaki GS x patolojik evre (p=0.01)

Pozitif CS alanlarında izlenen GS 7 olan 15 olgunun 3'ünde (%20), bu alanlardaki GS 8 ya da 9 olan 6 olgunun ise 4'ünde (%66.6) EPY gözlenmekte olup GS 6 olan 6 olgunun hiçbirinde EPY görülmemektedir. Pozitif CS'deki GS ile EPY arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır (p=0.007) (Tablo 8).

	EPY pozitif	EPY negatif	Toplam
CS, GS=6	0	6, %100	6, %100
CS, GS=7	3, %20	12, %80	15, %100
CS, GS=8, 9	4, %66.6	2, %33,4	6, %100
Toplam	7, %26	20, %74	27, %100

Tablo 8: Pozitif CS alanlarındaki GS x EPY (p=0.007)

TH; pozitif CS alanlarında değerlendirilen GS 6 olan 6 olguda 0.02 cc ve 5.2 cc arasında (ort: 1.99 cc), GS 7 olan 14 olguda 0.14 cc ile 8.7 cc arasında (ort: 3.51 cc) ve GS 8 ya da 9 olan 6 olguda 0.02 cc ile 5.2 cc arasında (ort: 1.99 cc) değişmektedir (Tablo 9).

	TH, min (cc)	TH, max (cc)	TH, ort. (cc)	
CS, GS=6	0.02	5.2	1.99	n=6
CS, GS=7	0.14	8.7	3.51	n=14
CS, GS=8, 9	0.02	5.2	1.99	n=6

Tablo 9: Pozitif CS alanlarındaki GS x TH (p>0.05)

Pozitif CS alanlarında değerlendirilen GS 6 olan 4 olgudan 1'inde (%25) biyokimyasal nüks saptanmış, 3'ünde (%75) hastalık bulgusu izlenmemiştir. Bu alanlarda GS 7 olan 11 olgudan 2'sinde (%19.2) biyokimyasal nüks saptanmış, 9'unda (%81.8) hastalık bulgusu görülmemiştir. Yine bu alanlarda GS 8 yada 9 olan 3 olgudan 1'inde (%33.3) biyokimyasal nüks saptanmış, 2'sinde (%66.7) hastalık bulgusu izlenmemiştir (Tablo 10).

	Hastalık bulgusu yok	Biyokimyasal nüks	Toplam
CS, GS=6	3, %75	1, %25	4, %100
CS, GS=7	9, %81.8	2, %19.2	11, %100
CS, GS=8, 9	2, %66.7	1, %33.3	3, %100
Toplam	14	4	18

Tablo 10: Pozitif CS alanlarındaki GS x hasta takip bulguları ($p>0.05$)

Pozitif CS alanlarında izlenen GS ile TH ve hasta takip bulguları arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$).

EPY alanlarında izlenen tümörün GS değerlendirilmiş ve bulunan sonuçlar prognostik olduğu bilinen patolojik evre, TH gibi parametrelerle ve hasta takip bilgileri ile karşılaştırılmıştır.

EPY izlenen olguların 16'sının hasta takip bulgularına ulaşılmıştır. EPY alanlarında izlenen tümörlerin tümünün GS 7, 8 ya da 9 olarak değerlendirilmiştir. EPY alanlarında değerlendirilen GS 7 olan 8 olgunun hiçbirinin takibinde hastalık bulgusu saptanmamışken, bu alanlardaki GS 8 ya da 9 olan 8 olgunun 2'sinin (%25) takibinde biyokimyasal nüks saptanmıştır (Tablo 11).

	Hastalık bulgusu yok	Biyokimyasal nüks	Toplam
EPY, GS=7	8, %100	0	8, %100
EPY, GS=8, 9	6, %75	2, %25	8, %100
Toplam	14, %87.5	2, %12.5	16, %100

Tablo 11: EPY alanlarındaki GS x hasta takip bulguları ($p>0.05$)

Patolojik evresi pT3a ve pT3b olan olgularda EPY alanlarında değerlendirilen GS birbirine benzer özelliktedir. EPY alanlarındaki GS 7 olan 11 olgunun 8'i pT3a, 3'ü pT3b evresindedir. Bu alanlardaki GS 8 ya da 9 olan 11 olgunun ise 6'sı pT3a, 5'i pT3b evresindedir (Tablo 12).

	pT3a	pT3b	Toplam
EPY, GS=7	8, %72.7	3, %27.3	11, %100
EPY, GS=8, 9	6, %54.5	5, %45,5	11, %100
Toplam	14, %63.6	8, %36.4	22, %100

Tablo 12: EPY alanlarındaki GS x patolojik evre ($p>0.05$)

EPY alanlarında izlenen GS 7 olan ve TH ölçülebilen 10 olguda tümör hacmi 1.1 cc ile 12.5 cc arasında (ort: 5.3 cc), bu alanlardaki GS 8 ya da 9 olan 8 olguda ise TH 2.3 cc ile 11.7 cc arasında (ort: 6.49 cc) değişmektedir (Tablo 13).

	TH, min (cc)	TH, max (cc)	TH, ort (cc)	
EPY, GS=7	1.1	12.5	5.3	n=10
EPY, GS=8, 9	2.3	11.7	6.49	n=8

Tablo 13: EPY alanlarındaki GS x TH ($p>0.05$)

EPY alanlarında değerlendirilen GS ile TH, patolojik evre ve hasta takip bilgileri arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0.05$).

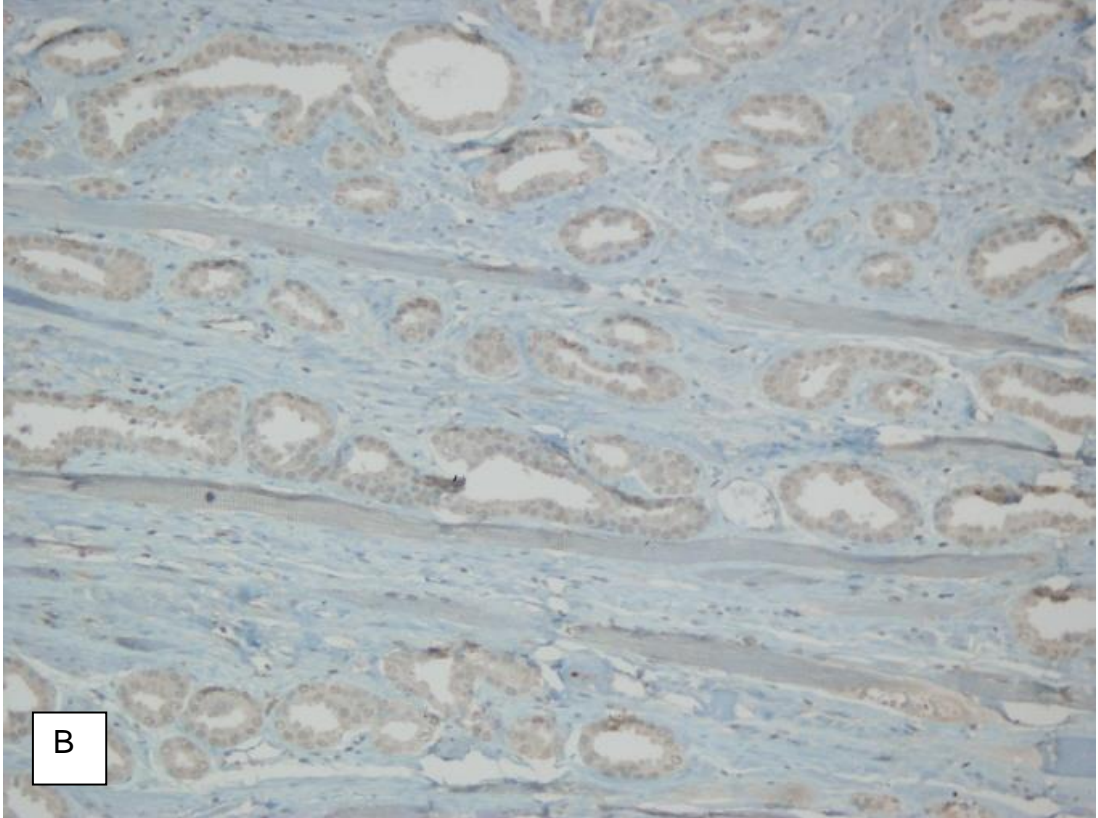
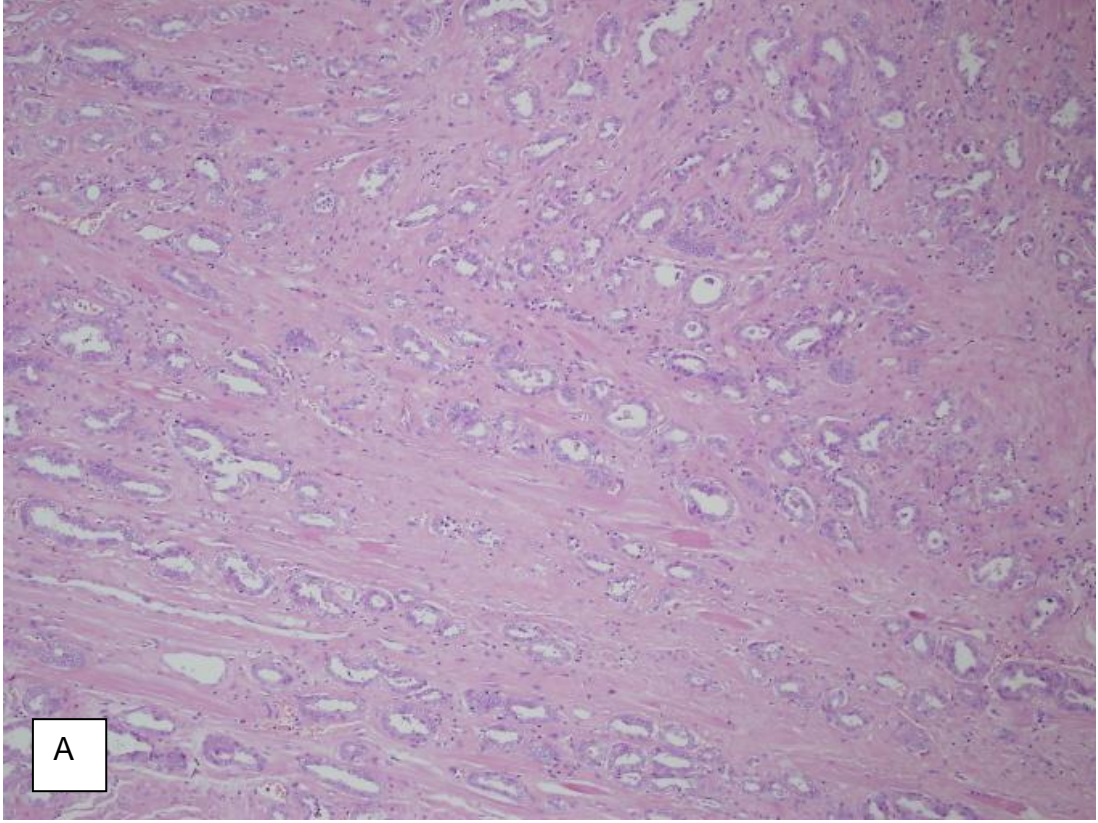
RP uygulanan 122 olguluk serimizden TMA bloklarından hazırlanan kesitlerde bazı kordlarda dokunun bitmesi ve bazı kordlarda ise seri kesitlerde tümör alanının görülememesi nedeniyle 112 olguda, tümörün genelini yansıtan Gleason paterni içeren alanlarda nestin ekspresyonu değerlendirilmiştir. Bu alanların tümünde nestin ekspresyonu görülmüştür. Değerlendirilen 112 olgunun 42'sinde (%37.5) nestin kuvvetli pozitif, 70'inde (%62.5) ise zayıf pozitif olarak saptanmıştır.

PK'nin heterojen bir tümör olması nedeniyle 122 olguluk serimizden farklı Gleason paternleri içeren 163 alan nestin ekspresyonu açısından değerlendirilmiştir. Bu alanların tümünde nestin pozitif olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirilen 163 alanın 102'sinde nestin kuvvetli pozitif, 61'inde ise zayıf pozitifdir (Resim 11-16). Bu alanların 67'sinde (%41.1) GS 6, 66'sında (%40.5) GS 7 ve 30'unda (%18.4) ise GS 8 ya da 9 olarak değerlendirilmiştir. GS 6 olan alanların 43'ünde (%64.1) zayıf pozitiflik,

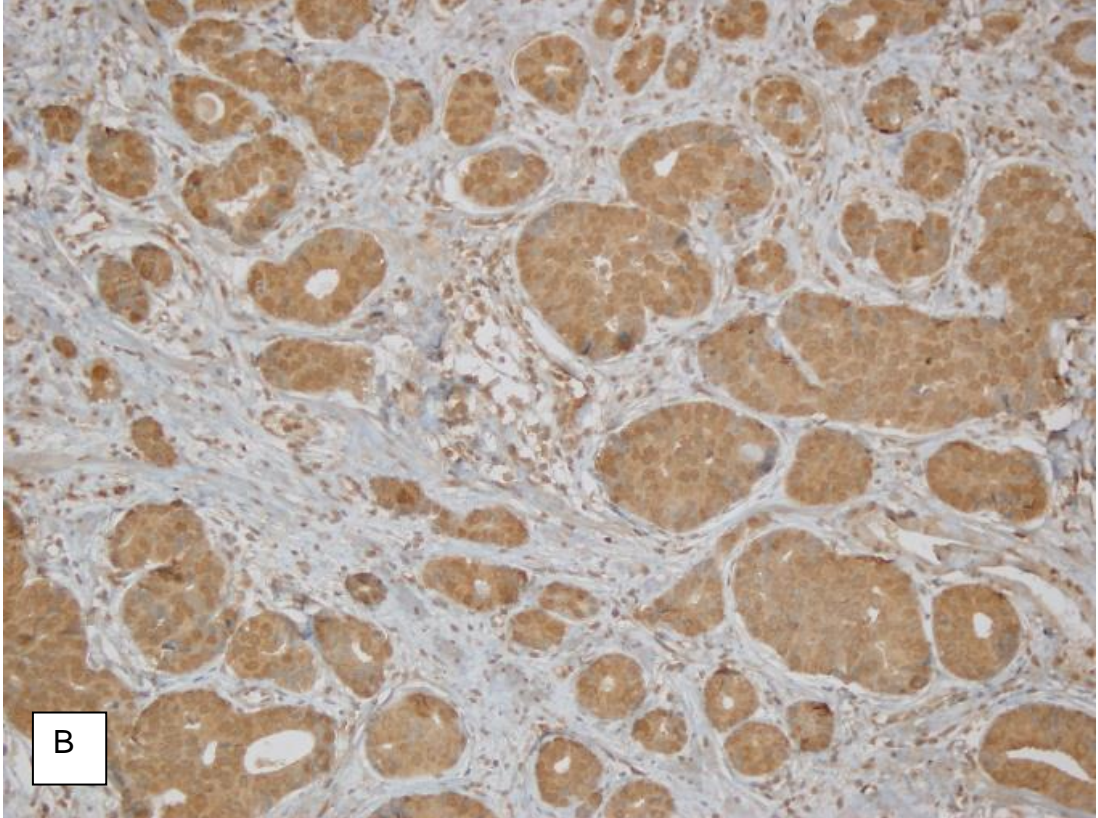
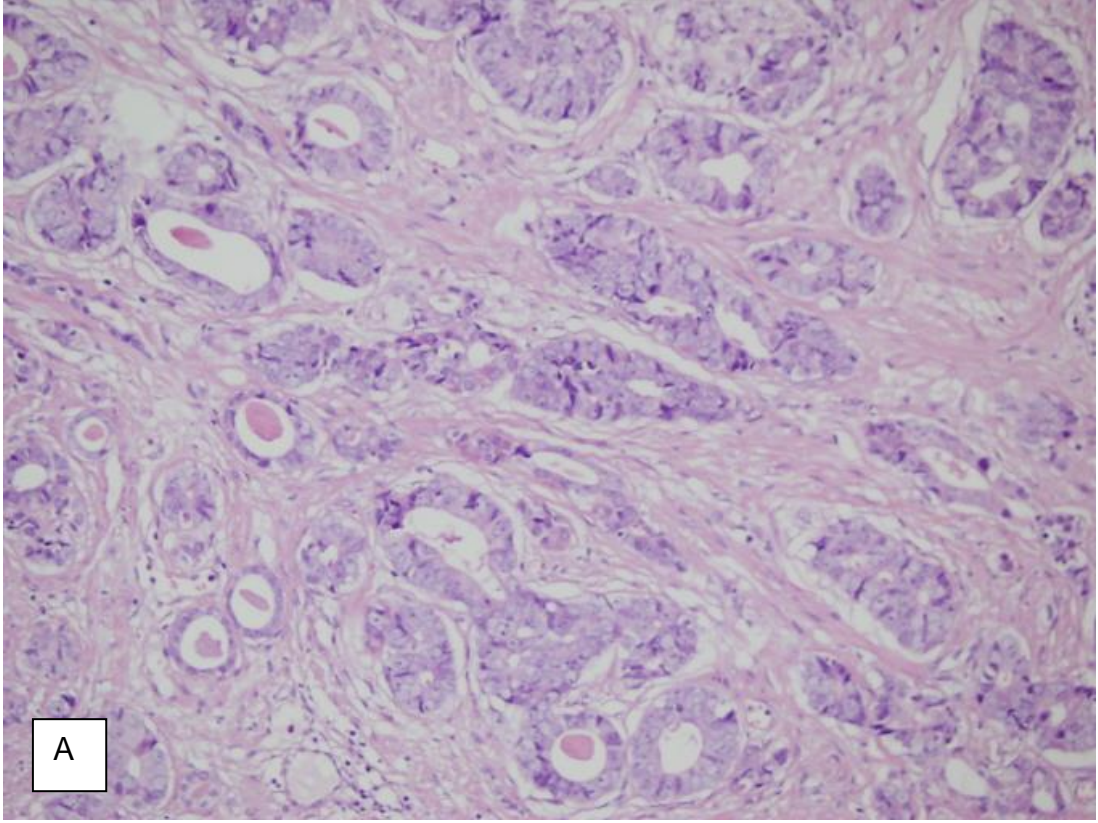
24'ünde (%35.9) ise kuvvetli pozitiflik saptanmıştır. GS 7 olan alanların 18'inde (%27.2) zayıf pozitiflik, 48'inde (%72.8) ise kuvvetli pozitiflik görülmüştür. GS 8 ya da 9 olan alanların ise tümü kuvvetli pozitifdir. Nestin ekspresyonu yoğunluğu ile GS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p < 0.001$) (Tablo 14).

	GS=6	GS=7	GS=8, 9	Toplam
Zayıf pozitif	43, %70.5	18, %29.5		61, %100
Kuvvetli pozitif	24, %23.5	48, %47.1	30, %29.4	102, %100
Toplam	67, %41.1	66, %40.5	30, %18.4	163, %100

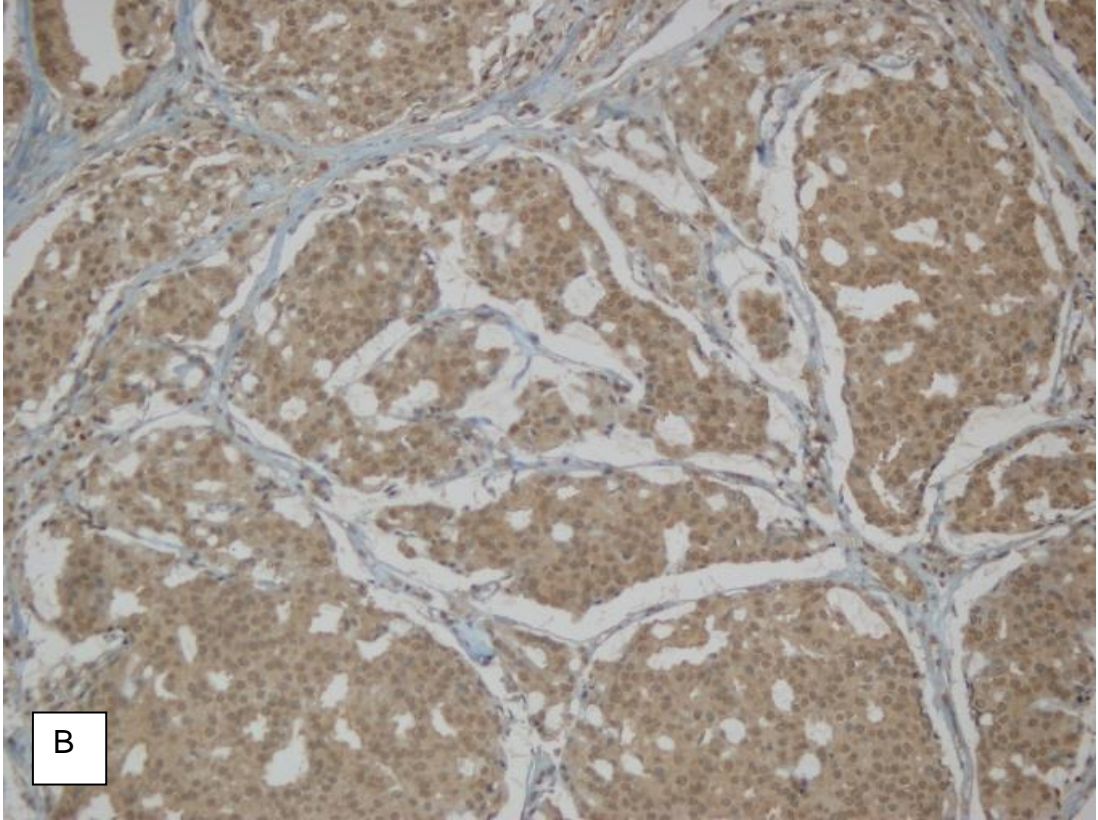
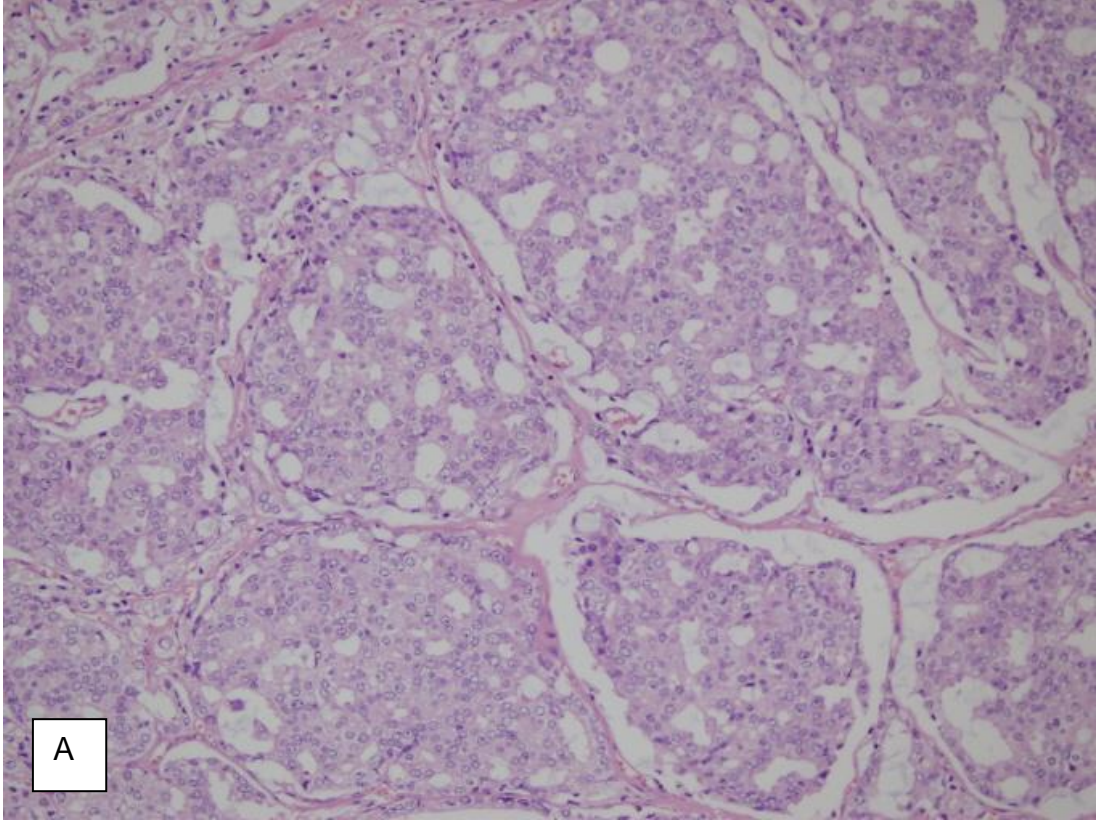
Tablo 14: Nestin ekspresyonu yoğunluğu x GS ($p < 0.001$)



Resim 11 A, B: GS=3+3=6 (4x), Zayıf pozitif nestin ekspresyonu (20x)



Resim 12 A, B: GS=3+4=7 (20x), Kuvvetli pozitif nestin ekspresyonu (20x)



Resim 13 A, B: GS=4+4=8 (20x), Kuvvetli pozitif nestin ekspresyonu (20x)

Tümörün genelini yansıtan alanlarda nestin ekspresyonu değerlendirilen 112 olgunun 91'inde (%81.25) EPY görülmemekte, 21'inde (%18.75) ise görülmektedir. Nestin immünohistokimyası; EPY saptanan olguların 19'unda (%90.47) kuvvetli pozitif, 2'sinde (%9.53) ise zayıf pozitifdir. EPY görülmeyen olgularda ise nestin 51 (%56.04) olguda kuvvetli pozitif, 40 (%43.96) olguda zayıf pozitifdir. Nestin immünohistokimyası boyanma yoğunluğu ile EPY arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p<0.001$) (Tablo 15).

	EPY, pozitif	EPY, negatif	Toplam
Zayıf pozitif	2, %9.5	40, %43.9	42, %100
Kuvvetli pozitif	19, %90.4	51, %56.0	70, %100
Toplam	21, %18.7	91, %81.3	112, %100

Tablo 15: Nestin ekspresyonu yoğunluğu x EPY ($p<0.001$)

TH; zayıf nestin ekspresyonu gösteren 40 olguda 0.01 cc ile 12.6 cc arasında (ort: 1.59 cc), kuvvetli pozitif olan 64 olguda ise 0.02 cc ile 12.5 cc arasında (ort: 3.17 cc) ölçülmüştür. Nestin ekspresyonu yoğunluğu ile TH arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0.004$) (Tablo 16).

	TH, min (cc)	TH, max (cc)	TH, ort (cc)	
Zayıf pozitif	0.01	12.6	1.59	n=40
Kuvvetli pozitif	0.02	12.5	3.17	n=64

Tablo 16: Nestin ekspresyonu yoğunluğu x TH ($p=0.004$)

Nestin ekspresyonu zayıf pozitif olarak değerlendirilen 42 olgunun 6'sında (%14.3) CS pozitif, 36'sında (%85.7) ise CS negatifdir. Kuvvetli pozitif nestin ekspresyonu izlenen 70 olgunun 18'inde (%25.7) CS pozitif, 52'sinde (%74.3) negatifdir (Tablo 17).

	CS, pozitif	CS, negatif	Toplam
Zayıf pozitif	6, %14.3	36, %85.7	42, %100
Kuvvetli pozitif	18, %25.7	52, %74.3	70, %100
Toplam	24, %21.4	88, %78.6	112, %100

Tablo 17: Nestin ekspresyonu yoğunluğu x CS durumu (p>0.05)

Zayıf pozitiflik saptanan 42 olgunun 3'ü (%7.2) pT3, 39'u (%92.8) pT2 evresindedir. Kuvvetli pozitiflik saptanan 70 olgunun ise 21'i (%30) pT2, 49'u (%70) pT3 evresindedir (Tablo 18).

	pT2	pT3	Toplam
Zayıf pozitif	39, %92.8	3, %7.2	42, %100
Kuvvetli pozitif	21, %30	49, %70	70, %100
Toplam	60, %53.5	52, %46.5	112, %100

Tablo 18: Nestin ekspresyonu yoğunluğu x Patolojik evre (p>0.05)

Nestin ekspresyonu değerlendirilen ve takip bulgularına ulaşılan olgu sayısı 90'dır. Bunların 36'sında nestin zayıf pozitif, 54'ünde ise kuvvetli pozitif olarak değerlendirilmiştir. Zayıf pozitiflik saptanan 36 olgunun 3'ünde (%8.3) biyokimyasal nüks saptanmış, 33'ünün (%91.7) takibinde hastalık bulgusuna rastlanmamıştır. Nestin ekspresyonu kuvvetli pozitif olarak değerlendirilen 54 olgunun 4'ünde (%7.4) biyokimyasal nüks, 1'inde (%1.9) akciğer metastazı saptanmış, 49'unda (%90.7) hastalık bulgusu saptanmamıştır (Tablo 19).

	Hastalık bulgusu yok	Biyokimyasal nüks	Akciğer met	Toplam
Zayıf pozitif	33, %91.7	3, %8.3		36, %100
Kuvvetli pozitif	49, %90.7	4, %7.4	1, %1.9	54, %100
Toplam	82, %91.1	7, %7.8	1, %1.1	90, %100

Tablo 19: Nestin ekspresyonu yoğunluğu x Hasta takip bulguları (p>0.05)

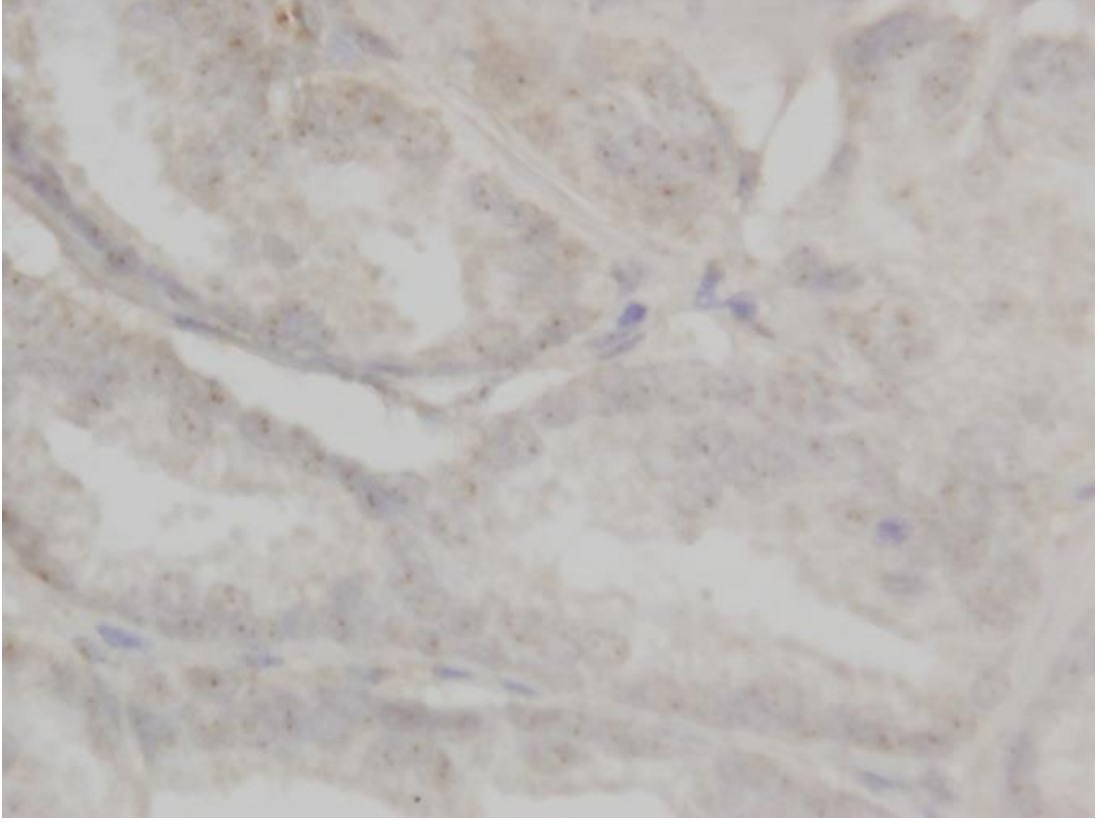
Nestin ekspresyonu yoğunluğu ile; patolojik evre, CS pozitifliği ve hasta takip bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir (p>0.005).

GS ile CS durumu, pozitif CS uzunluğu, EPY, nestin ekspresyonu yoğunluğu, ve EPY alanlarında izlenen GS ilişkisi tablo 20'de özetlenmiştir.

	CS		CS +		EPY		Nestin		EPY, GS n=22
	+	-	>3mm	≤3mm	+	-	Zayıf+	Kuvvetli+	
	n=27	n=95	n=23	n=4	n=22	n=100	n=61	n=102	
GS=6	5	41	4	1	0	46	43	24	0
GS=7	21	51	19	2	19	53	18	48	11
GS=8,9	1	3	0	1	3	1	0	30	11

Tablo 20: GS x CS durumu, pozitif CS uzunluğu, EPY, nestin ekspresyonu yoğunluğu, EPY alanlarında GS

Çalışma kapsamına alınan olguların farklı Gleason patenlerini içeren alanlarından hazırlanan TMA bloklarından elde edilen kesitlerden CISH yöntemi ile değerlendirilen Her-2 amplifikasyonu tüm alanlarda negatif olarak saptanmıştır (Resim 17).



Resim 14: CISH yöntemi ile değerlendirilen Her-2 gen amplifikasyonu negatif (100x)

TARTIŞMA

Prostat karsinomu ABD'de, erkeklerde en sık görülen malignitedir ve kansere bağlı ölümlerin %10'undan sorumludur. Erkeklerde kansere bağlı ölümlerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada gelmektedir ve erkeklerde kansere bağlı ölümlerin %5.6, tüm kansere bağlı ölümlerin ise %3.2'sinden sorumludur (1, 10). Prostat karsinomu sıklığı son 20 yılda, serum PSA testinin erken tanıda başarılı bir şekilde kullanımı ile birlikte ikiye katlanmıştır (11-13).

Patolojik evre, mikroskopik dereceleme, TH, CS durumu, EPY, lenfovasküler invazyon ve klinik evre önemli prognostik faktörlerdendir (1, 10).

Patolojik evre tümör yayılımını gösteren en önemli ve prognozu en doğru gösteren parametredir. Prostat kapsülü, vezikula seminalis ve lenf nodu invazyonu gibi patolojik evreyi belirleyen faktörlerle prognoz arasında ilişki vardır.

Mikroskopik dereceleme klinik veya patolojik evre ile direk ilişkilidir (11). GS kullanılarak yapılan mikroskopik dereceleme, bağımsız bir prognostik faktördür ve diğer sistemlerden göre belirgin olarak üstündür (1).

CS pozitifliği RP sonrası klinik ve biyokimyasal nüks ile ilişkilidir. Vezikula seminalis invazyonu veya lenf nodu metastazı olmayan olgularda önemli bir prediktif faktördür (B). Ayrıca CS pozitifliğinin fokal veya yaygın oluşu ve multipl veya tek oluşu ile biyokimyasal nüks arasında ilişki bulunmuştur (3).

CAP, her CS pozitifliğinin, genişliğinin ve lokalizasyonunun rapor edilmesi gerektiğine dikkat çekmektedir. Fakat bu faktörleri değerlendirmek için spesifik bir yöntem konusunda henüz bir fikir birliği yoktur (11).

Morfometrik tekniklerle RP materyalinin tüm kesitlerinde ölçülen TH; GS, kapsüller invazyon, CS pozitifliği, seminal vezikül invazyonu ve lenf nodu metastazı ile ilişkili bir prognostik faktördür (1). Dünya çapında kabul görmüş bir yaklaşım olmasada, prostatektomi materyallerinde TH ölçülmelidir. TH ölçümü; bilgisayarlı morfometrik ölçüm, genişlik ve kesit kalınlığının basit ölçümü (bazı patologlar en büyük fokusu ölçerken, bazıları agregat hacmini rapor etmektedir), en büyük tümör genişliği, nokta sayma yöntemi ve tümör yüzdesinin görsel ölçümü gibi yöntemlerle yapılmaktadır.

TH sıklıkla RP sonrasında nüks ile ilişkilidir. Yapılan bir çalışmada, ortalama TH; radikal prostatektomi sonrası biyokimyasal nüks gösteren olgularda $2,55\text{cm}^3$, operasyon sonrası 5 yıl hastalıksız yaşayanlarda ise $0,94\text{ cm}^3$ bulunmuştur (11).

Bizim çalışmamızda morfolojik olarak pozitif CS uzunluğu mm olarak ölçülmüş ve CS pozitifliği yanısıra EPY izlenen alanlarda görülen GS değerlendirilmiştir.

Bugüne kadar pozitif CS uzunluğu ile prognoz ilişkisini saptamaya yönelik çok az sayıda çalışma yapılmıştır. Shikanov ve ark. 161 adet RP materyalinde yaptıkları çalışmada pozitif CS uzunluğu ile biyokimyasal nüks arasında anlamlı ilişki saptamışlardır. Bu çalışmada 1-3 mm ve 3 mm'den uzun pozitif CS bulunan olgulara karşılaştırıldığında; pozitif CS uzunluğu 1 mm'den kısa ve CS negatif olgularda benzer nüks oranları görülmüştür. Bu çalışma kapsamına alınan olguların takip süreleri kısadır (ort: 12 ay) (43). CS pozitif olan 117 RP materyalinde yapılan bir çalışmada Ochiai ve ark. 8'den büyük GS ve 3 mm'den uzun pozitif CS uzunluğunun biyokimyasal nüks için bağımsız bir gösterge olduğunu ortaya koymuşlardır (44). Chuang ve ark. kapsüler insizyona bağlı CS pozitif 135 RP materyalini içeren bir seride; pozitif CS uzunluğu 3 mm'den küçük olan olgularda %20, 3 mm ve üzerinde olan olgularda ise %55 oranında biyokimyasal nüks için 5 yıllık risk saptamışlardır (45). Fadi ve ark. 108 RP materyalinde yapılan bir çalışmada pozitif CS uzunluğu ve bu alanlardaki GS'nin biyokimyasal nüksü öngörmede önemli faktörler olduğunu ortaya koymuşlardır (3). Benzer şekilde Udo ve ark. 207 olgulu bir seride pozitif CS uzunluğu ve bu alanlardaki GS ile tümör progresyonu arasında anlamlı ilişki saptamışlardır (46). Yine Shikanov ve ark. 2866 olgulu geniş bir seride 1 mm ve daha kısa pozitif CS uzunluğunun biyokimyasal nüksü göstermede önemli bir prediktif faktör olduğunu göstermişlerdir (47).

Bizim çalışmamızda 27 (%22.1) olguda CS pozitif olarak izlenmiştir. Bu olguların 23'ünde (%85.2) pozitif CS uzunluğu 3 mm'nin üzerinde, 4'ünde (%14.8) 3 mm ve altında ölçülmüştür. CS pozitif olarak değerlendirilen olgularda bu alanlarda GS; 6 olguda (%22.2) 6, 15 olguda (%55.6) 7, 3 olguda (%11.1) 8 ve yine 3 olguda (%11.1) 9 olarak değerlendirilmiştir.

CS pozitif olan 27 olgunun 20'si pT2, 7'si ise pT3 evresindedir. Pozitif CS alanındaki GS 6 olan 6 olgunun tümü pT2 evresinde; 7 olan 15 olgunun 3'ü pT3, 12'si pT2 evresindedir. Bu alanlardaki GS 8 ya da 9 olan 6 olgunun 4'ü pT3, 2'si pT2 evre-

sindedir. Ayrıca pozitif CS alanlarında izlenen GS 7 olan 15 olgunun 3'ünde (%20), bu alanlardaki GS 8 ya da 9 olan 6 olgunun ise 4'ünde (%66.6) EPY gözlenmekte olup GS 6 olan 6 olgunun hiçbirinde EPY görülmemektedir. Pozitif CS'deki GS ile patolojik evre ve EPY arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır (sırasıyla $p=0.007$, $p=0.01$) (Tablo 7, 8).

Bununla birlikte pozitif CS uzunluğu ile GS, TH, hasta takip bilgileri, EPY, patolojik evre arasında ve pozitif CS'deki GS ile TH, hasta takip bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$).

Bugüne kadar literatürde EPY alanlarındaki GS ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamız bu konuda bir ilktir. Ancak EPY alanlarında değerlendirilen GS ile TH, patolojik evre ve hasta takip bilgileri arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0.05$).

Bizim çalışmamızda prostat adenokarsinomunda immünohistokimyasal olarak değerlendirilen nestin ekspresyonu yoğunluğu prognostik olduğu bilinen GS, TH, EPY, patolojik evre, CS durumu ve hasta takip bulgularıyla karşılaştırılmıştır.

Kleeberger ve ark. nestin proteininin uzak metastaz alanlarında kolonizasyon için gerekli olduğunu ve kanser kök hücreleri için bir belirleyici olabileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada nestin ekspresyonunun prostat kansinomlarında migrasyon, invazyon, akciğer metastazı, kötü prognoz ve nüks ile ilişkili olduğu sonucuna ulaşmışlardır (48). Gravdal ve ark. lokalize kanserlerde Nestin/Ki-67 koekspresyonu ile belirledikleri vasküler proliferasyonun bağımsız bir prognostik faktör olduğuna dikkat çekmişlerdir (49). Liu ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, prostat kansinomu vakalarında, CD117 ve ABCG2 eksprese eden bir subpopülasyonda; Nanog, Oct4, Sox2, Nestin ve CD133 gibi kök hücre belirleyicileri ekspresyonu saptanmıştır. Bununla birlikte bu hücrelerin yüksek proliferatif aktiviteye sahip olduklarını ve çeşitli kemoterapötik ajanlara dirençli oldukları sonucuna ulaşmışlardır (50). Yang ve ark. gliom, anjiyosarkom ve GIST'lerde nestin ekspresyonunun diferansiyasyon derecesi ile korele olduğunu belirtmişlerdir (5). Farklı tümör dokularında ve tümör anjiogenezinde nestin ekspresyon paterninin detaylı değerlendirilmesi; nestin proteininin tümör gelişimi ve invazyondaki rolünü anlamada ve tedavi hedefi bulmada yardımcı olacaktır (6). Ya-

mahatsu ve ark. nestin transkriptlerini hedef alan “small interfering RNA (siRNA)” nın nestin ekspresyonunu azalttığına, pankreatik kanser hücre gelişimini baskıladığına ve nestinin pankreas karsinomunda tümör anjiogenezini engellemek suretiyle potansiyel bir terapötik hedef olduğuna dikkat çekmişlerdir (51).

Bizim çalışmamızda RP uygulanan 122 olguluk serimizden TMA bloklarından hazırlanan kesitlerde bazı korlarda dokunun bitmesi ve bazı korlarda ise seri kesitlerde tümör alanının görülememesi nedeniyle 112 olguda, tümörün genelini yansıtan Gleason paterni içeren alanlarda nestin ekspresyonu değerlendirilmiştir. Bu alanların tümünde nestin ekspresyonu görülmüştür. Değerlendirilen 112 olgunun 42'sinde (%37.5) nestin kuvvetli pozitif, 70'inde (%62.5) ise zayıf pozitif olarak saptanmıştır.

Ayrıca prostat karsinomunun sıklıkla heterojen olarak izlenmesi nedeniyle 122 olguluk serimizde farklı Gleason paternleri içeren 163 alan nestin ekspresyonu açısından değerlendirilmiştir. Bu alanların tümünde nestin pozitif olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirilen 163 alanın 102'sinde nestin kuvvetli pozitif, 61'inde ise zayıf pozitifdir (Resim 11-16). 163 alanın 67'sinde (%41.1) GS 6, 66'sında (%40.5) GS 7 ve 30'unda (%18.4) ise GS 8 ya da 9 olarak değerlendirilmiştir. GS 6 olan alanların 43'ünde (%64.1) zayıf pozitiflik, 24'ünde (%35.9) ise kuvvetli pozitiflik saptanmıştır. GS 7 olan alanların 18'inde (%27.2) zayıf pozitiflik, 48'inde (%72.8) ise kuvvetli pozitiflik görülmüştür. GS 8 ya da 9 olan alanların ise tümü kuvvetli pozitifdir. Nestin ekspresyonu yoğunluğu ile en önemli prognostik faktörlerden biri olduğu bilinen GS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p < 0.001$) (Tablo 14).

Tümörün genelini yansıtan alanlarda nestin ekspresyonu değerlendirilen 112 olgunun 91'inde (%81.25) EPY görülmemekte, 21'inde (%18.75) ise görülmektedir. Nestin immünohistokimyası; EPY saptanan olguların 19'unda (%90.47) kuvvetli pozitif, 2'sinde (%9.53) ise zayıf pozitifdir. EPY görülmeyen olgularda ise nestin 51 (%56.04) olguda kuvvetli pozitif, 40 (%43.96) olguda zayıf pozitifdir. Nestin immünohistokimyası boyanma yoğunluğu ile EPY arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p < 0.001$) (Tablo 15).

TH; zayıf nestin ekspresyonu gösteren 40 olguda 0.01 cc ile 12.6 cc arasında (ort: 1.59 cc), kuvvetli pozitif olan 64 olguda ise 0.02 cc ile 12.5 cc arasında (ort: 3.17 cc) ölçülmüştür. Nestin ekspresyonu yoğunluğu ile TH arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p = 0.004$) (Tablo 16).

Nestin ekspresyonu yoğunluğu ile; Gleason skoru, TH ve EPY arasında anlamlı ilişki saptanmışken; patolojik evre, CS pozitifliği ve hasta takip bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir ($p>0.005$).

PK'yi de içeren diğer bazı tümör tipleri artmış düzeyde Her-2 eksprese etmektedir ve bu bulgu trastuzumabın meme kanseri yanısıra Her-2 pozitif diğer tümörlerde de etkili olabileceği görüşünü gündeme getirmektedir (7). Her-2 normal prostat epitel hücrelerinde eksprese edilmektedir. Yapılan çalışmalarda prostat karsinomunda Her-2 ekspresyonunun değişkenlik gösterdiği saptanmıştır. İmmunohistokimya ile %0-100, gen amplifikasyonu ile %0-53 arasında ekspresyon rapor edilmiştir (7, 8). Bazı çalışmalarda Her-2 ekspresyonunun artışının yüksek GS, ileri evre ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (51-54). Bununla birlikte bazı çalışmalarda ise GS, evre ve prognozla ilişki saptanmamıştır (55, 56). Minner ve ark. artmış Her-2 ekspresyonunun hızlı tümör proliferasyonu ve kötü prognozla ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Ancak diğer birçok Her-2 pozitif tümörlerin aksine prostat karsinomunda Her-2 ekspresyon artışı gen amplifikasyonu yokluğunda gerçekleşmektedir. Bu bulgular anti-Her-2 tedavisinde modifiye yaklaşımlar gereksinimini gündeme getirmektedir (7). Signoretti ve ark. az sayıda olan Her-2 pozitif prostat kanser hücrelerinin, androjen bağımsız PK'ye progresyonla birlikte arttığını ve bununla birlikte androjen bağımsız olgularda anti-Her-2 tedavinin umut verici olduğunu belirtmişlerdir (57). Leslie ve ak. Her/Her-2 ilişkili yolakları kullanan sPLA2-IIa düzeyi artışının yüksek GS ve ileri evre ile ilişkili olduğunu saptamışlardır ve plazma sPLA2-IIa düzeyinin kötü prognozu göstermek yanısıra hasta takibinde kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir (58).

Bizim çalışmamızda farklı Gleason patenlerini içeren alanlarından hazırlanan TMA bloklarından elde edilen kesitlerden CISH yöntemi ile değerlendirilen Her-2 amplifikasyonu tüm alanlarda negatif olarak saptanmıştır (Resim 17).

Sonuç olarak pozitif cerrahi sınırdaki değerlendirilen GS, patolojik evre ve EPY ile ilişkilidir. Bununla birlikte nestin ekspresyonu yoğunluğu ile GS, EPY ve TH arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Ancak nestin immünohistokimyasının EPY görülen olguların %90.47'sinde kuvvetli pozitif olması yanısıra; EPY görülmeyen olgularda da %56.04 gibi yüksek bir oranda kuvvetli pozitiflik saptanmıştır. Bu nedenle nestin

ekspresyon yoğunluğu EPY'yi öngörmede faydalı olabilir fakat nestinin EPY görülme-yen olgularda da yüksek oranda kuvvetli pozitif olabileceği akılda tutulmalıdır. Bu-nunla birlikte pozitif cerrahi sınırdaki GS ve nestin boyanma yoğunluğu RP sonrası nüks edebilecek ve adjuvan RT'den fayda görebilecek hastaları saptamada yardımcı olabilir. Fakat bu konuda daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

SONUÇLAR

1. Pozitif CS uzunluğu ile GS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 2).
2. Pozitif CS uzunluğu ile TH arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 3).
3. Pozitif CS uzunluğu ile hasta takip bilgileri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 4).
4. Pozitif CS uzunluğu ile EPY arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 5).
5. Pozitif CS uzunluğu ile patolojik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 6).
6. Pozitif CS'deki GS ile patolojik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0.01$) (Tablo 7).
7. Pozitif CS'deki GS ile EPY arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p=0.007$) (Tablo 8).
8. Pozitif CS'deki GS ile TH arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 9).
9. Pozitif CS'deki GS ile hasta takip bulguları arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 10).
10. EPY alanlarında değerlendirilen GS ile TH arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 11).
11. EPY alanlarında değerlendirilen GS ile patolojik evre arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 12).
12. EPY alanlarında değerlendirilen GS ile hasta takip bilgileri arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 13).
13. Nestin ekspresyonu yoğunluğu ile GS arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p<0.001$) (Tablo 14).
14. Nestin immünohistokimyası boyanma yoğunluğu ile EPY arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p<0.001$) (Tablo 15).
15. Nestin ekspresyonu yoğunluğu ile TH arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0.004$) (Tablo 16).

16. Nestin ekspresyonu yoğunluğu ile patolojik evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir ($p>0.005$) (Tablo 17).
17. Nestin ekspresyonu yoğunluğu ile CS pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir ($p>0.005$) (Tablo 18).
18. Nestin ekspresyonu yoğunluğu ile hasta takip bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki görülmemiştir ($p>0.005$) (Tablo 19).
19. Farklı Gleason patenlerini içeren alanlarından hazırlanan TMA bloklarından elde edilen kesitlerden CISH yöntemi ile değerlendirilen Her-2 amplifikasyonu tüm alanlarda negatif olarak saptanmıştır (Resim 17).

KAYNAKLAR

1. Rosai J. Male Reproductive System. In: Rosai and Ackerman's Surgical Pathology (Ed. Rosai J.) Tenth Edition. 2011; 1287-1314.
2. Obiorah CC, Nwosu SO. A histopathological study of carcinoma of the prostate in port Hartcourt, Nigeria. Nigerian Journal of clinical Practice. 2011;363-367.
3. Brimo F, Partin AW, Epstein JI. Tumor Grade at Margins of Resection in Radical Prostatectomy Specimens Is an Independent Predictor of Prognosis. Urology 76:1206–1211, 2010 Elsevier Inc.
4. Murphy AJ, Viero S, Ho M, Thorner PS. Diagnostic Utility of Nestin Expression in Pediatric Tumors in the Region of the Kidney. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2009;17:517–523.
5. Yang XH, Wu QL, Yu XB, Xu CX ve ark. Nestin expression in different tumours and its relevance to malignant grade. J Clin Pathol 2008;61:467–473.
6. Ishiwata T, Matsuda Y, Naito Z. Nestin in gastrointestinal and other cancers: Effects on cells and tumor angiogenesis. World J Gastroenterol 2011; 17(4): 409-418.
7. Minner S, Jessen B, Stiedenroth L. ve ark. Low Level Her-2 Overexpression Is Associated with Rapid Tumor Cell Proliferation and Poor Prognosis in Prostate Cancer. Clin Cancer Res 2010;16:1553-1560.
8. Gates JD, Carmichael MG, Benavides LC, Holmes JP ve ark. Longterm Followup Assessment of a HER-2/neu Peptide (E75) Vaccine for Prevention of Recurrence in High-Risk Prostate Cancer Patients. American College of Surgeons College of Surgeons. 2009;193-201.
9. Edwards J, Mukherjee R, Munro AF, Wells AC. ve ark. HER-2 and COX2 expression in human prostate cancer. European Journal of Cancer 40:2004; 50–55.

10. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA. Neoplasm of the prostate. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. World Health Organization Classification of Tumours. International Agency for Research on Cancer (IARC). 2004; 160-198
11. Bostwick DG, Cheng L. Neoplasm of the prostate. In: Urologic Surgical Pathology. Second Edition. 2008; 444-579.
12. Dickinson SI. Premalignant and Malignant Prostate Lesions: Pathologic Review. Cancer Control October 2010, Vol. 17 ; 214-222.
13. Bostwick DG, Burke HB, Djakiew D, Euling S ve ark. Human prostate cancer risk factors. Cancer 2004, 101:2371-2490.
14. Mazzucchelli R, Nesseris IS, Cheng L, Beltran AL ve ark. Active Surveillance for Low-risk Prostate Cancer. Anticancer Research 30: 2010; 3683-3692.
15. Kadir P, Emre T, Fatma A, Bülent A ve ark. Türkiye’de otopsi serisinde latent PK ve yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi sıklığının araştırılması Investigation of the incidence of latent prostate cancer and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia in an autopsy series of Turkish males. Türk Üroloji Dergisi - Turkish Journal of Urology 2009;35(2):96-100.
16. Selman SH. ‘Latent’ carcinoma of the prostate: a medical misnomer? Urology 2000; 56: 708–711.
17. Morganti G, Gianferrari L, Cresseri A, Arrigoni G ve ark. Recherches clinico-statistiques et génétiques sur les néoplasies de la prostate. Acta Genet Med Gemellol (Roma) 6: 1956;304-305.

18. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A ve ark. Environmental and heritable factors in the causation of cancer—analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med* 2000;343: 78-85.
19. Bostwick DG ve Cheng L. Precursors of prostate cancer. *Histopathology* 2012, 60; 4–27.
20. Bostwick DG. High Grade Prostatic Intraepithelial Neoplasia: The Most Likely Precursor of Prostate Cancer. *Cancer*; 1995:1823-1836.
21. Sakr WA, Grignon DJ, Haas GP, Heilbrun LK ve ark. Age and Racial Distribution of prostatic intraepithelial neoplasia. *Eur Urol* 1996;30:138-144.
22. Bostwick DG. Prospective Origins of Prostate Carcinoma: Prostatic intraepithelial neoplasia and atypical adenomatous hyperplasia. *Cancer* 1996;78:330-336.
23. Davidson D, Bostwick DG, Qian J, Wollan PC ve ark. Prostatic intraepithelial neoplasia is a risk factor for adenocarcinoma: predictive accuracy in needle biopsies. *J Urol* 1995;154:1295-1299.
24. College of American Pathologists. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma of the Prostate Gland. Based on AJCC/UICC TNM, 7th edition. 2012.
25. Carter HB, Partin AW. Diagnosis and staging of prostate cancer. *Campbell's Urology* (Ed. Walsh PC) 7th London: Saunders Company, 1998:2519-2537.
26. Sung MT, Lin H, Koch MO, Davidson DD ve ark. Radial distance of extraprostatic extension measured by ocular micrometer is an independent predictor of prostate specific antigen recurrence: a new proposal for the substaging of pT3aprostate cancer. *Am J Surg Pathol* 2007, 31: 311-318

27. Bibbo M, Kim DH, Galera-Davidson H, ve ark. Architectural, morphometric and photometric features and their relationship to the main subjective diagnostic clues in the grading of prostatic cancer. *Anal Quant Cytol Histol* 1990; 12: 85–90.
28. Martin NE, Mucci LA, Loda M, DePinho RA ve ark. Prognostic Determinants in Prostate Cancer. *Cancer J.* 2011 ; 17(6): 429–437.
29. Baydar DE, Epstein JI. Gleason Grading System, Modifications and Additions to the Original Scheme. *Turkish Journal of Pathology.* Vol. 25, No. 3, 2009; 59-70.
30. Eggener SE, Scardino PT, Walsh PC, ve ark. Predicting 15-year prostate cancer specific mortality after radical prostatectomy. *J Urol.* 2011; 185:869–75.
31. Hattab EM, Koch MO, Eble JN, ve ark. Tertiary Gleason pattern 5 is a powerful predictor of biochemical relapse in patients with Gleason score 7 prostatic adenocarcinoma. *J Urol* 2006; 175: 1695–1699.
32. Marks RA, Koch MO, Lopez-Beltran A, Montironi R ve ark. The relationship between the extent of surgical margin positivity and prostate specific antigen recurrence in radical prostatectomy specimens. *Hum Pathol* 2007, 38: 1207-1211.
33. Emerson RE, Koch MO, Daggy IK, Cheng L ve ark. Closest distance between tumor and resection margin in radical prostatectomy specimens: lack of prognostic significance. *Am J Surg Pathol* 2005, 29: 225-229.
34. Yanagisawa N, Li R, Rowley D, Liu H. ve ark. Reprint of: Stromogenic prostatic carcinoma pattern (carcinomas with reactive stromal grade 3) in needle biopsies predicts biochemical recurrence-free survival in patients after radical prostatectomy. *Human Pathology* Volume 39, Issue 2, 2008;282–291

35. Lendahl U, Zimmerman LB, McKay RD. CNS stem cells express a new class of intermediate filament protein. *Cell*. 1990;60:585–595.
36. Takano T, Becker LE. Developmental change of the nestinimmunoreactive midline raphe glial structure in human brainstem and spinal cord. *Dev Neurosci*. 1997;19:202–209.
37. Almqvist PM, Mah R, Lendahl U, ve ark. Immunohistochemical detection of nestin in pediatric brain tumors. *J Histochem Cytochem*. 2002;50:147–158.
38. Chen J, Boyle S, Zhao M, ve ark. Differential expression of the intermediate filament protein nestin during renal development and its localization in adult podocytes. *J Am Soc Nephrol*. 2006; 17:1283–1291.
39. Perry J, Ho M, Viero S, ve ark. The intermediate filament nestin is highly expressed in normal human podocytes and podocytes in glomerular disease. *Pediatr Dev Pathol*. 2007;10:369–382.
40. Solit DB ve Rosen N. Targeting HER-2 in Prostate Cancer: Where to Next? *Journal of Clinical Oncology*, Vol 25, No 3, 2007: 241-243.
41. Baek KH, Hong ME, Jung YY, Lee CH ve ark. Correlation of AR, EGFR, and HER-2 Expression Levels in Prostate Cancer: Immunohistochemical Analysis and Chromogenic In Situ Hybridization. *Cancer Res Treat*. 2012;44(1):50-56.
42. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, ve ark. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER-2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER-2. *N Engl J Med* 2001;344:783–92.
43. Shikanov S, Song J, Royce C, ve ark. Length of positive surgical margin after radical prostatectomy as a predictor of biochemical recurrence. *J Urol*. 2009;182:139-144.

44. Ochiai A, Sotelo T, Troncoso P, ve ark. Natural history of biochemical progression after radical prostatectomy based on length of a positive margin. *Urology*. 2008;71:308-312.
45. Chuang AY, Nielsen ME, Hernandez DJ, ve ark. The significance of positive surgical margin in areas of capsular incision in otherwise organ confined disease at radical prostatectomy. *J Urol*. 2007;178:1306-1310.
46. Udo K, Cronin AM, Carlino LJ, Savage CJ, ve ark. Prognostic impact of subclassification of radical prostatectomy positive margins by linear extent and Gleasongrade. *J Urol*. 2013 Apr;189(4):1302-7. doi: 10.1016/j.juro.2012.10.004. Epub 2012 Oct 9.
47. Shikanov S, Marchetti P, Desai V, Razmaria Ave ark. Short (≤ 1 mm) positive surgical margin and risk of biochemical recurrence after radical prostatectomy. *BJU Int*. 2013;111(4):559-63.
48. Kleeberger W, Bova GS, Nielsen ME, ve ark. Nestin in Prostate Cancer Migration and Metastasis Roles for the Stem Cell-Associated Intermediate Filament. *Cancer Res* 2007;67:9199-9206.
49. Gravdal K, Halvorsen OJ, Haukaas SA, ve ark. Proliferation of Immature Tumor Vessels Is a Novel Marker of Clinical Progression in Prostate Cancer. *Cancer Res*. 2009;69:4708-4715.
50. Liu T, Xu F, Du X, Lai D ve ark. Establishment and characterization of multi-drug resistant, prostate carcinoma-initiating stem-like cells from human prostate cancer cell lines 22RV1. Springer Science+Business Media, LLC. 2010.

51. Yamahatsu K, Matsuda Y, Ishiwata T, Uchida E, Naito Z. Matsuda Y ve ark. Nestin in angiogenesis WJG|www.wjgnet.com 47 January 7, 2013|Volume 19|Issue 1| Nestin as a novel therapeutic target for pancreatic cancer via tumor angiogenesis. *Int J Oncol* 2012; 40: 1345-1357.
52. Sadasivan R, Morgan R, Jennings S, ve ark. Overexpression of Her-2/neu may be an indicator of poor prognosis in prostate cancer. *J Urol* 1993, 150, 126–131.
53. Agus DB, Scher HI, Higgins B. Response of prostate cancer to anti-Her-2/neu antibody in androgen-dependent and-independent human xenograft models. *Cancer Res* 1999, 59, 4761–4764.
54. Zhau HE, Wan DS, Zhou J, Miller GJ ve ark. Expression of c-erb B-2/neu proto-oncogene in human prostatic cancer tissues and cell lines. *Mol Carcinog* 1992, 5, 320–327.
55. Ware JL, Maygarden SJ, Koontz WWJ, Strom SC. Immunohistochemical detection of c-erbB-2 protein in human benign and neoplastic prostate. *Hum Pathol* 1991, 22, 254–258.
56. Mellon K, Thompson S, Charlton RG, ve ark. p53, c-erbB-2 and the epidermal growth factor receptor in the benign and malignant prostate. *J Urol* 1992, 147, 496–499.
57. Signoretti S, Montironi R, Manola J, Altimari A, Tam C, Bubley G, ve ark. Her-2-neu expression and progression toward androgen independence in human prostate cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92:1918-25.
58. Oleksowicz L, Liu Y, Bracken RB, Gaitonde K. ve ark. Secretory PhospholipaseA2-IIa is a Target Gene of the HER/HER-2-Elicited Pathway and a Potential Plasma Biomarker for Poor Prognosis of Prostate Cancer. November 2011, DOI. Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com).